



2023 Том / Volume XI

№ 2

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology



Индуктор эндогенных интерферонов I и II типов (α, β, γ)



Быстрое контролируемое действие

Продукция интерферонов через 2-6 часов после введения и возврат к фоновым значениям в течение 2-х суток¹

Возможность комплексного лечения и профилактики

Применение в комплексной терапии с антибиотиками и противовирусными средствами позволяет повысить эффективность лечения¹

Гибкие схемы терапии

Грипп, ОРВИ – 1 инъекция, генитальный и опоясывающий герпес – 3 инъекции, инфекционные урогенитальные заболевания (в том числе хламидоз – 4 инъекции)¹

Механизм¹ действия Радамина Виро:

1

Оптимизация воспалительной реакции

2

Активация синтеза белков, тормозящих процесс производства вирусных копий в пораженных клетках

3

Стимуляция репаративных и регенеративных процессов

4

Активация неспецифической резистентности организма



¹ Инструкция по медицинскому применению

РУ: ЛС-000381 от 27.12.2021
ООО ПРОМОМЕД ДМ, 129090,
г. Москва, Проспект Мира, д.13, стр.1, офис 106,
тел. +7(495)640 25 28

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ РЕКОМЕНДУЕТСЯ ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ

 PROMOMED

На правах рекламы

Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 11, Выпуск 2, 2023

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Черников Максим Валентинович доктор медицинских наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино MD, PhD, профессор, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Егорова Светлана Николаевна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Казань, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Корректор: Мищенко Екатерина Сергеевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Адрес издательства: 357532, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз. Цена свободная.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), Scopus, Web of Science (ESCI), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, КиберЛенинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Бюро новостей», 355000, г. Ставрополь, ул. Серова, 278А.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2023
© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2023
© Авторы, 2023

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov

Academician RAS, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov

Doctor of Sciences (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Maxim V. Chernikov

Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor of RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer

PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan

Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet

MD, PhD, Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino

MD, PhD, Professor, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Svetlana N. Egorova

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Kasan, Russia

Somasundaram Subramanian

MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia N., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Proofreader: Mischenko Ekaterina S., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., Candidate of Sciences (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina A., Pyatigorsk, Russia

Founder: Volgograd State Medical University, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

Editors office address: 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press / Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Scopus, Web of Science (ESCI), Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Buro novostey" in accord with provided materials. 278A, Serova Str., Stavropol, 355000.

© Volgograd State Medical University, 2023

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2023

©Authors, 2023

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE

<i>Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев, А.В. Баскова, С.С. Полодянци, А.В. Каспарова</i> Церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина с аминогуанидином при нарушениях мозгового кровообращения.....104	<i>D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, Yu.V. Gorbunova, A.V. Strygin, T.M. Andriashvili, A.A. Sokolova, N.S. Bolokhov, V.E. Pustynnikov, E.A. Fomichev, A.V. Baskova, S.S. Polodyants, A.V. Kasparova</i> Cerebroprotective effect of sitagliptin and aminoguanidine combination in disorders of cerebral circulation104
<i>Е.В. Лакомкина, Г.А. Атажанова, С.Б. Ахметова, И.Н. Зилфикаров</i> Разработка состава и технологии получения антимикробной композиции на основе моно- и сесквитерпеноидов114	<i>E.V. Lakomkina, G.A. Atazhanova, S.B. Akhmetova, I.N. Zilfikarov</i> Development of composition and technology for obtaining antimicrobial composition based on mono- and sesquiterpenoids114
<i>О.А. Белова, В.А. Куркин, М.В. Егоров</i> Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой127	<i>O.A. Belova, V.A. Kurkin, M.V. Egorov</i> Quantitative determination of total flavonoids in <i>Glycyrrhiza Glabra</i> L. herbs.....127
<i>О.А. Радаева, Л.А. Балыкова, К.Я. Заславская, Ю.А. Костина, Н.А. Пятаев, Н.М. Селезнева, А.В. Климова, И.Ю. Чегодаева, К.Н. Корянова, А.В. Таганов, П.А. Белый</i> Анализ особенностей цитокинового ответа и иммунопатогенетических эффектов при применении препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли для постконтактной профилактики против новой коронавирусной инфекции: двойное слепое плацебо-контролируемое исследование137	<i>O.A. Radaeva, L.A. Balykova, K.Ya. Zaslavskaya, Yu.A. Kostina, N.A. Pyataev, N.M. Selezneva, A.V. Klimova, I.Yu. Chegodaeva, K.N. Koryanova, A.V. Taganov, P.A. Bely</i> Analysis of cytokine response characteristics and immunopathogenetic effects of double-stranded sodium salt RNA-based drug for postexposure prophylaxis against novel coronavirus infection: double-blind, placebo-controlled trial.....137

ОБЗОРЫ / REVIEWS

<i>С.В. Русских, Е.А. Тарасенко, Л.И. Москвичева, С.А. Орлов, А.А. Трякин, А.В. Воробьева, О.А. Бенеславская, В.И. Макарова, Е.А. Путилина, С.А. Уткин</i> Лекарственные препараты «off-label»: правовые проблемы и социально-экономические аспекты практики применения149	<i>S.V. Russkikh, E.A. Tarasenko, L.I. Moskvicheva, S.A. Orlov, A.A. Tryakin, A.V. Vorobeve, O.A. Beneslavskaya, V.I. Makarova, E.A. Putilina, S.A. Utkin</i> “Off-label” drugs: legal problems and socio-economic aspects of application practice149
<i>А.В. Алехин, Т.Н. Эриванцева, В.В. Рязанов, Н.Б. Лысков, Н.А. Алехина, М.М. Кузнецова</i> Новая роль экстенпорального изготовления в регулировании доступа лекарственных препаратов на рынок.....161	<i>A.V. Alekhin, T.N. Erivantseva, V.V. Ryazhenov, N.B. Lyskov, N.A. Alekhina, M.M. Kuznetsova</i> New role of extemporaneous manufacturing in regulating drug products access onto the market161

УДК 616.831-005.1-089:615.281



Церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина с аминоксантином при нарушениях мозгового кровообращения

Д.В. Куркин¹, Д.А. Бакулин¹, Е.И. Морковин¹, Ю.В. Горбунова¹, А.В. Стрыгин¹,
Т.М. Андриашвили¹, А.А. Соколова¹, Н.С. Болохов¹, В.Э. Пустынников¹, Е.А. Фомичев¹,
А.В. Баскова², С.С. Полодянец³, А.В. Каспарова⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева»,
302026, Россия, г. Орёл, ул. Комсомольская, д. 95

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
350063, Россия, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, д. 4

⁴ Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 11

E-mail: strannik986@mail.ru

Получена 10.01.2023

После рецензирования 16.04.2023

Принята к печати 20.04.2023

Цель. Оценить церебропротекторную активность комбинации ситаглиптина с аминоксантином у крыс с острым и хроническим нарушением мозгового кровообращения, а также черепно-мозговой травмой.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar в 3 этапа с использованием модели хронической патологии: хроническое нарушение мозгового кровообращения (ХНМК), а также 2-х моделей острого повреждения головного мозга (ГМ) – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) и черепно-мозговая травма (ЧМТ). ХНМК моделировали двусторонним стенозированием общих сонных артерий (на 50%); в качестве ОНМК использовали модель геморрагического инсульта, вызванного внутримозговой инъекцией аутокрови; ЧМТ моделировали механическим повреждением ткани ГМ. Для оценки тяжести течения патологии использовали следующие тесты: «Адгезивный тест», «Открытое поле», «Водный лабиринт Морриса», а также шкалы Garcia и «Combs&D'Alecy». У животных с острым повреждением ГМ в конце эксперимента определяли выраженность отека пораженной гемисферы. В качестве лечения вводили ситаглиптин (10 мг/кг), аминоксантин (25 мг/кг) или их комбинацию. Полученные данные подвергались статистической обработке.

Результаты. В ходе исследования было установлено, что введение комбинации ситаглиптина с аминоксантином, в отличие от действия каждого из компонентов по отдельности, оказывало церебропротекторное действие у животных с хроническим или острым вариантом повреждения ГМ, снижая выраженность психоневрологических (когнитивных и сенсорно-моторных) нарушений, а также отека ГМ.

Заключение. Аминоксантин как блокатор iNOS усиливает действие ситаглиптина, предотвращая развитие отека ГМ и уменьшая выраженность неврологического дефицита (выраженность когнитивных и сенсорно-моторных нарушений), у животных с острой или хронической недостаточностью мозгового кровообращения.

Ключевые слова: ингибиторы ДПП-4; ситаглиптин; доклинические исследования; острые и хронические нарушения мозгового кровообращения; черепно-мозговая травма

Список сокращений: iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота; mNSS – шкала оценки тяжести неврологической симптоматики; NO – оксид азота (II); GI – геморрагический инсульт; ГМ – головной мозг; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; иДПП-4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4; НГЛТ-2 – натрий-глюкозный котранспортер 2-го типа; НМК – нарушения мозгового кровообращения; АД – артериальное давление; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ОСА – общая сонная артерия; ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения; ЧМТ – черепно-мозговая травма; ЭД – эндотелиальная дисфункция.

Для цитирования: Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев, А.В. Баскова, С.С. Полодянец, А.В. Каспарова. Церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина с аминоксантином при нарушениях мозгового кровообращения. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):104-113. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-104-113

© Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили,
А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев, А.В. Баскова, С.С. Полодянец, А.В. Каспарова, 2023

For citation: D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, Yu.V. Gorbunova, A.V. Strygin, T.M. Andriashvili, A.A. Sokolova, N.S. Bolokhov, V.E. Pustynnikov, E.A. Fomichev, A.V. Baskova, S.S. Polodyants, A.V. Kasparova. Cerebroprotective effect of sitagliptin and aminoguanidine combination in disorders of cerebral circulation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):104-113. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-104-113

Cerebroprotective effect of sitagliptin and aminoguanidine combination in disorders of cerebral circulation

D.V. Kurkin¹, D.A. Bakulin¹, E.I. Morkovin¹, Yu.V. Gorbunova¹, A.V. Strygin¹,
T.M. Andriashvili¹, A.A. Sokolova¹, N.S. Bolokhov¹, V.E. Pustynnikov¹, E.A. Fomichev¹,
A.V. Baskova², S.S. Polodyants³, A.V. Kasparova⁴

¹ Volgograd State Medical University,

1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Orel State University n. a. I.S. Turgenev,

95, Komsomolskaya Str., Orel, Russia, 302026

³ Kuban State Medical University

4, Mitrofan Sedn Str., Krasnodar, Russia, 350063

⁴ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 10 Jan 2023

After peer review 16 April 2023

Accepted 20 April 2023

The aim of the study was to evaluate a cerebroprotective activity of the sitagliptin and aminoguanidine combination in rats with an acute and chronic cerebral circulation insufficiency, as well as with a traumatic brain injury.

Materials and methods. The study was carried out on male Wistar rats in 3 stages using, respectively, a model of a chronic pathology: a chronic cerebral circulation insufficiency (CCCI), as well as 2 models of the acute brain injury (BI): an acute cerebral circulation insufficiency (ACCI), and a traumatic brain injury (TBI). A CCCI was modeled by a bilateral stenosis of the common carotid arteries (by 50%), a model of a hemorrhagic stroke caused by an intracerebral injection of the autologous blood was used as a stroke, a TBI was modeled by a mechanical damage to the brain tissue. To assess the pathology course severity, the following tests were used: Adhesion test, Open field, Morris water maze test, as well as Garcia and Combs&D'Alecy scales. In the animals with an acute damage to the brain at the end of the experiment, the severity of edema of the affected hemisphere was also determined. The treatment was with sitagliptin (10 mg/kg), aminoguanidine (25 mg/kg), or a combination thereof. The obtained data were subjected to the statistical processing.

Results. In the course of the study, it was found out that the administration of a sitagliptin and aminoguanidine combination, unlike each of the components, had a cerebroprotective effect in the animals with a chronic or acute damage to the brain, reducing the severity of psychoneurological (cognitive and sensory-motor) disorders, as well as the brain edema.

Conclusion. Aminoguanidine, as an iNOS blocker, enhances the action of sitagliptin, preventing the brain edema development and reducing the neurological deficit severity (the severity of cognitive and sensory-motor impairments) in the animals with an acute and chronic cerebral circulation insufficiency.

Keywords: DPP-4 inhibitors; sitagliptin; preclinical studies; acute and chronic cerebral circulation insufficiency; traumatic brain injury

Abbreviations: iNOS – inducible nitric oxide synthase; mNSS – modified Neurological Severity Score; NO – nitric oxide (II); HS – hemorrhagic stroke; GLP-1 – glucagon-like peptide-1; iDPP-4 – inhibitors of dipeptidyl peptidase-4; SGLT-2 – sodium-glucose linked transporter-2; BP – blood pressure; CVDs – cerebrovascular disorders; ACCI – acute cerebral circulation insufficiency; CCAs – common carotid arteries; CCCI – chronic cerebral circulation insufficiency; TBI – traumatic brain injury; ED – endothelial dysfunction.

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации количество пациентов, страдающих от хронических нарушений мозгового кровообращения (ХНМК), составляет не менее 700 случаев на 100 000 человек. ХНМК проявляется как диффузное и постепенно усиливающееся ухудшение кровоснабжения мозговой ткани, способствующее формированию когнитивных и сенсорно-моторных нарушений. Фармакотерапия ХНМК направлена на улучшение гемоперфузии и метаболизма нервной ткани, а также снижение воспаления [1]. Значительное распространение имеют различные виды острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), характеризующиеся выраженным неврологическим дефицитом, высокой летальностью и требующие длительной реабилитации с возможностью применения нейропротективных препаратов с политаргетным механизмом действия

(противовоспалительным, антиоксидантным, вазодилатирующим и др.).

В 2010 и 2015 годах в мире было зарегистрировано соответственно 5,406 и 6,240 млн. смертей от инсультов. При этом значительной летальностью (около 60%) отличается геморрагический инсульт (ГИ), который составляет 10–15% от всех видов нарушений мозгового кровообращения (НМК) [2, 3]. Его самыми значимыми факторами риска являются наличие в анамнезе НМК, высокое артериальное давление (АД) и сахарный диабет (СД) [4].

Проблема черепно-мозговых травм (ЧМТ) также представляет собой серьезный вызов для современной медицины, особенно учитывая ограниченное число доступных и эффективных методов лечения, учитывающих патогенетические механизмы (воспаление, отёк и др.) [5].

Последствием ЧМТ, а также острых и хронических НМК является формирование неврологических нарушений, различных по спектру и выраженности, приводящих к потере трудоспособности и снижению качества жизни: когнитивные нарушения (проблемы с памятью, вниманием и обучением), сенсорные, двигательные и др. расстройства. Имеющий по распространённости характер пандемии СД существенно усложняет тяжесть течения и ухудшает прогноз острых и хронических патологий головного мозга (ГМ), связанных как с НМК, так и ЧМТ [4, 6]. В связи с этим существует потребность в лекарственных препаратах с церебропротекторным потенциалом, способных улучшить прогноз течения различного вида травм ГМ, которые также можно применять и в условиях СД.

В настоящее время доступен широкий спектр препаратов, способных в разной степени улучшать интеллектуально-мнестические способности человека, в том числе и при повреждениях тканей ГМ. Однако их эффективность не полностью соответствуют ожиданиям специалистов, поэтому продолжается поиск новых соединений и подходов, применение которых позволило бы снизить частоту развития деменции, повысить устойчивость тканей ГМ к действию различных неблагоприятных факторов, облегчить и/или ускорить их восстановление после различного вида травм.

Последние 10 лет не снижается интерес специалистов к препаратам из группы инкретиномиметиков. Клинические данные указывают на снижение риска возникновения и тяжести течения сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с СД 2 типа (инфаркт миокарда и инсульт) при применении прежде всего аналогов глюкагонподобного пептида-1 (ГПП-1). Открытые плейотропные свойства инкретиномиметиков лишь частично связаны с гипогликемическим действием, а их основой являются разнонаправленные эффекты ввиду широкой распространённости рецептора к ГПП-1 в организме и соответственно последствиями его активации [7, 8]. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ИДПП-4), обладая умеренной антигипергликемической активностью, являются одними из самых доступных и востребованных препаратов из группы инкретиномиметиков и активно изучаются в виде новых фиксированных комбинаций [9].

Аминогуанидин является ингибитором образования конечных продуктов гликирования и индуцибельной изоформы синтазы оксида азота (iNOS), активность которой сопровождается рядом позитивных эффектов, но лежит в основе патофизиологических процессов, составляющих суть большинства сердечно-сосудистых заболеваний [10]. Учитывая значительную негативную роль iNOS в патогенезе НМК, снижение активности этого фермента может стать эффективным способом терапии этой группы патологий. Во многих экспериментальных работах показано выраженное протекторное действие аминогуанидина [11–14] при

различных НМК, сопровождающихся активацией iNOS, тканевой гипоксией и отёком.

Изначально аминогуанидин разрабатывали в качестве антигликирующего агента с целевым позиционированием на применение при диабетической нефропатии [15]. Несмотря на прекращение клинических исследований из-за сомнений в безопасности и недостаточной эффективности, потенциал аминогуанидина в качестве перспективной молекулы для профилактики и лечения СД и его сосудистых осложнений остаётся нераскрытым, в том числе при комбинировании с другими антигипергликемическими средствами. Как было обозначено выше, аминогуанидин проявлял выраженное церебропротекторное действие на различных экспериментальных моделях НМК, а для ИДПП-4 также был доказан кардио- и церебропротекторный потенциал, не связанный с их гипогликемическим действием. Исходя из этого представляется целесообразным оценить возможность их сочетанного применения в доклинических исследованиях с целью коррекции последствий ХНМК и в условиях острого повреждения головного мозга (ОНМК и ЧМТ).

ЦЕЛЬ. Оценить церебропротекторную активность комбинации ситаглиптина с аминогуанидином у крыс с острым и хроническим НМК, а также ЧМТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модельные объекты

Все эксперименты были выполнены в соответствии с законодательством Российской Федерации (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011) и техническими стандартами Евразийского экономического союза по надлежащей лабораторной практике. Дизайн исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер ИРБ 00005839 IORG 0004900 (ONHR), о чем свидетельствует выписка из протокола № 132 от 20 мая 2019 года заседания Комиссии по экспертизе исследований при Волгоградском государственном медицинском университете.

Работу выполняли на 150 самцах крыс линии Wistar (возраст 5–6 мес, масса тела 250–300 г, питомник лабораторных животных «Рапполово»). После поступления из питомника животных помещали на карантин длительностью 14 сут в виварий Волгоградского государственного медицинского университета, в помещении которого они содержались на протяжении всего эксперимента при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в условиях 40–60% влажности и сменяющегося цикла день/ночь (12/12 ч) с неограниченным доступом к пище и воде.

Все операционные процедуры проводили с использованием комбинированного наркоза: золетил 20 мг/кг (Zoletil®100, Valdepharm, Франция) + ксилазил 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Нидерланды) внутривенно. Глаза животных на протяжении операции были закрыты, на них наносили блефарогель для предотвращения

высыхания роговицы. После операции раны орошали раствором хлоргексидина (0,05%), края сшивали непрерывным хирургическим швом.

Моделирование патологии

Моделирование ХНМК посредством стеноза общих сонных артерий [16]

После выделения общих сонных артерий (ОСА) сосуды подвязывали к нейлоновой нити заданного диаметра, которую затем извлекали чтобы сосуд заполнил освободившееся пространство, которое позволит кровотоку восстановиться лишь на 50%. Скорость кровотока оценивали с использованием доплерографии, прибор полиграф МР150 с модулем LDF100C (Biopac Systems, США).

Моделирование геморрагического инсульта посредством внутримозговой инъекции аутокрови [17]

Наркотизированное животное фиксировали в стереотаксическом аппарате (Shenzhen RWD Life Science Co, Китай) с использованием зубного держателя и ушных фиксаторов. Сбривали шерстяной покров над теменной костью. После обработки операционного поля скальпелем делали разрез кожи по срединной линии над брегмой (длиной 8–10 мм). С использованием бормашины РЭСТАР-03 (ООО «РЭСТАР», Россия) на уровне брегмы (на 3,5 мм латеральнее средней линии) просверливали черепное отверстие диаметром 1 мм в левом коронковом шве. Далее забирали 100 мкл крови из хвостовой вены в туберкулиновый шприц без антикоагулянта, фиксировали его в стереотаксическом аппарате и медленно вводили через черепное отверстие под оболочки ГМ, используя иглу толщиной 29G.

Моделирование черепно-мозговой травмы

Для моделирования острой травмы ГМ (ЧМТ) после аналогичной подготовки операционного поля, согласно стереотаксическим координатам с использованием бормашины просверливали отверстие в теменной кости (Ø 4 мм), после чего модифицированным мандрен-ножом наносили травму тканей ГМ.

Определение выраженности патологических изменений и эффективности лечения

Неврологический дефицит у животных с острой патологией (ОНМК и ЧМТ) оценивали с использованием следующих шкал: 9-балльная шкала «Combs&D'Alecy» и шкала Garcia [18, 19]. Шкала «Combs&D'Alecy» применялась для выявления экстрапирамидных нарушений. Она включает в себя проведение тестов для оценки мышечной силы, цепкости-тяги и равновесия животных. Меньший суммарный балл соответствует более выраженным неврологическим нарушениям. По шкале Garcia определяли выраженность следующих показателей: мышечный тонус, двигательная активность, основные

физиологические рефлексы, координация движений, тактильная чувствительность. По каждому тесту присваивали следующие баллы: 3 – норма, 2 – незначительное нарушение симметричности, 1–0 – выраженные нарушения или отсутствие движения.

Психоневрологический дефицит животных с ХНМК оценивали по модифицированной шкале неврологической симптоматики mNSS (modified Neurological Severity Score) [18]. Оценка по этой шкале осуществляется на основе различных параметров, включая силу мышц, двигательные навыки, сенсорные функции и координацию движений. Максимальное количество баллов – 14, минимальное – 0. Чем выше суммарный балл по шкале mNSS, тем более тяжёлым считается неврологический дефицит.

Сенсорно-моторные нарушения (чувствительность и мелкую моторику передних конечностей) оценивали с помощью адгезивного теста [18, 20]. В качестве инородного предмета на волярную поверхность передних лап животного быстро приклеивали квадратные отрезки лейкопластыря (5 мм², Верофарм, Россия). О выраженности сенсорно-моторных нарушений судили по времени обнаружения и удаления животными лейкопластыря с лап.

Двигательные нарушения оценивали в тесте «Открытое поле», в котором по количеству пересечённых в течение 3-х мин секторов судили о спонтанной двигательной активности, а по сумме стоек и заглядываний в отверстия – об ориентировочно-исследовательской активности.

Степень гидратации тканей ГМ определяли следующим образом: большие полушария рассекали на ипси- и контралатеральную (левую и правую) части, взвешивали и высушивали поражённую гемисферу в термостате при 100°C в течение 24 ч для определения % содержания воды (W, %) по формуле:

$$W = \frac{\text{влажный вес} - \text{сухой вес}}{\text{влажный вес}} \times 100\%$$

Когнитивные функции животных с ХНМК оценивали в тесте «Водный лабиринт Морриса» [18, 21], который предназначен для исследования формирования пространственной памяти. Установка представляет собой бассейн для воды, разделённый на 8 обозначенных зон (4 основные и 4 дополнительные; Рис. 1), в центр одной из которых помещена погруженная на 1 см в воду платформа, а на стенах установки (в точках «N», «E», «S», «W») закреплены визуальные ориентиры.

Схема эксперимента: в течение 4 тренировочных дней (по 4 попытки в день) животное помещали в воду на расстоянии 10 см от стенки лабиринта по определенной схеме и фиксировали латентный период нахождения затопленной платформы (Рис. 1). Тестовые сессии длились по 1 мин с перерывом между подходами 30 сек. Если крыса в течение 1 мин не находила платформу, её приманивали к платформе и оставляли на ней на 15 сек.

Дизайн исследования

Исследование выполняли в 3 серии (Рис. 2): в первой моделировали ХНМК путём стенозирования ОСА на 50%, лечение начинали через 40 сут после операции и продолжали в течение 21 сут; во 2-й и 3-й сериях эксперимента животным моделировали острую травму ГМ методами создания ЧМТ или ГИ, лечение начинали на 2-е сут после операции и проводили в течение 14 сут, выраженность симптомов психоневрологического дефицита во всех сериях оценивали до и после лечения. В качестве лечения вводили ситаглиптин (Янувия, 10 мг/кг/сут., *per os*) или аминоксантидин (Sigma, 25 мг/кг/сут., *в/в*) или их комбинацию (доза, режим и путь введения для каждого препарата сохранялся). В конце исследования у животных с ХНМК определяли выраженность нарушений когнитивных функций в тесте «Водный лабиринт Морриса», а у животных с ОНМК, после эвтаназии, определяли выраженность отёка ГМ.

В каждой серии исследования животных разделяли на равные ($n=10$) группы: интактная, ОНМК/ХНМК+плацебо (0,9% NaCl) – «Плацебо», ОНМК/ХНМК+ситаглиптин – «Сит», ОНМК/ХНМК+аминоксантидин – «Амг», ОНМК/ХНМК+ситаглиптин+аминоксантидин – «Сит+Амг». Дозы веществ подбирали с учётом литературных данных [22, 23].

Эвтаназия

В соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 года, животных эвтаназировали после завершения эксперимента путём помещения в CO₂-камеру, в условиях заполнения её диоксидом углерода.

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики с применением программного обеспечения Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена-Кейлса. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$. Цифровые значения представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частичная перевязка ОСА на 50% вызывала у животных выраженные симптомы психоневрологического дефицита, которые проявились на 61-е сут эксперимента в виде повышения балла неврологического дефицита по шкале mNSS ($4,2 \pm 2,1$ против $0,1 \pm 0,1$; $p < 0,05$), снижение показателей двигательной ($18,6 \pm 7,1$ против $49,8 \pm 15,5$; $p < 0,05$) и ориентировочно-исследовательской активности ($3,1 \pm 0,5$ против $7,5 \pm 1,6$; $p < 0,05$), латентного периода

обнаружения и снятия инородных предметов с ладоней передних лап животного. У данных животных также отмечали нарушения когнитивной функции поскольку они значительно дольше запоминали место нахождения затопленной платформы в водном лабиринте Морриса ($54,9 \pm 12,9$ против $22,1 \pm 7,2$; $p < 0,05$ соответственно). У животных, которым частично перевязывали ОСА и в течение 21 сут вводили ситаглиптин или аминоксантидин, симптомы психоневрологического дефицита были выражены в меньшей степени чем у тех, которым вводили плацебо, но результаты исследования указывали на недостаточную эффективность этих препаратов. При введении комбинации этих препаратов животным с частично перевязанными ОСА симптомы психоневрологического дефицита, показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, мелкой моторики и когнитивной дисфункции были выражены в меньшей степени. При этом различия с показателями животных, которым вводили плацебо, были статистически значимыми ($p < 0,05$), что позволило судить о наличии церебропротекторных свойств исследуемой комбинации (табл. 1).

У животных, которым моделировали острую травму ГМ, возникающую при ЧМТ или ГИ, отмечали выраженные нарушения, которые проявлялись в виде симптомов неврологического дефицита по шкалам «Combs&D'Alecy» и Garcia, снижении двигательной и ориентировочной активности, нарушениями мелкой моторики передних конечностей (табл. 2). Также у этих животных фиксировали более выраженный отёк головного мозга. У животных, которым после моделирования ЧМТ или моделирования ГИ вводили ситаглиптин или аминоксантидин, показатели психоневрологического дефицита незначимо отличались от зафиксированных в группе, получавшей плацебо. При введении комбинации этих препаратов симптомы психоневрологического дефицита, как и степень отёка ГМ были значимо ниже по сравнению с группой без лечения в условиях обеих патологий. Полученные результаты свидетельствовали о значимом протективном действии комбинации ситаглиптина с аминоксантидином у животных с острой травмой ГМ (ОНМК и ЧМТ).

ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая неутешительную динамику распространения нарушений углеводного обмена и ожирения, бремя СД и соответственно его осложнений будет также расти. Несмотря на значительные достижения в области фармакологии (разработка новых классов антигипергликемических лекарственных средств – ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа (НГЛТ-2), агонисты ГПП-1 и ГПП-1/ГИП), терапии (разработка новых алгоритмов и тактик лечения пациентов с СД) и диагностики (раннее выявление, доступный скрининг), эффективность лечения СД и профилактика его осложнений остаются недостаточными.

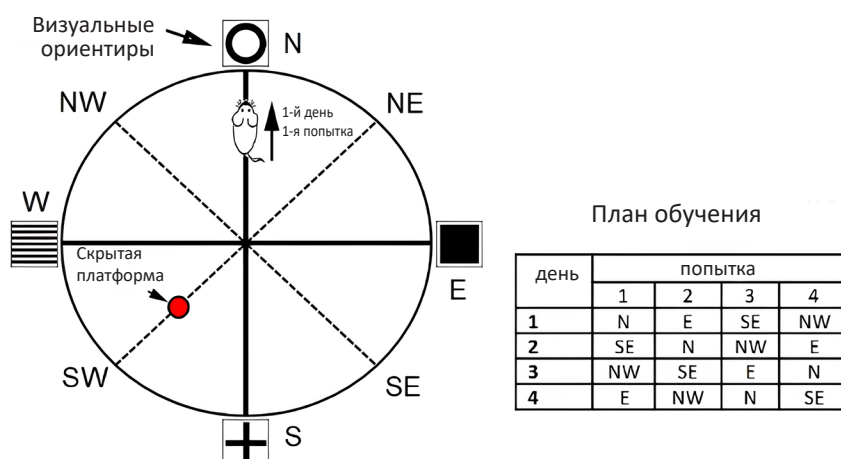


Рисунок 1 – Разметка установки и схема мест посадки животных при обучении в водном лабиринте Морриса

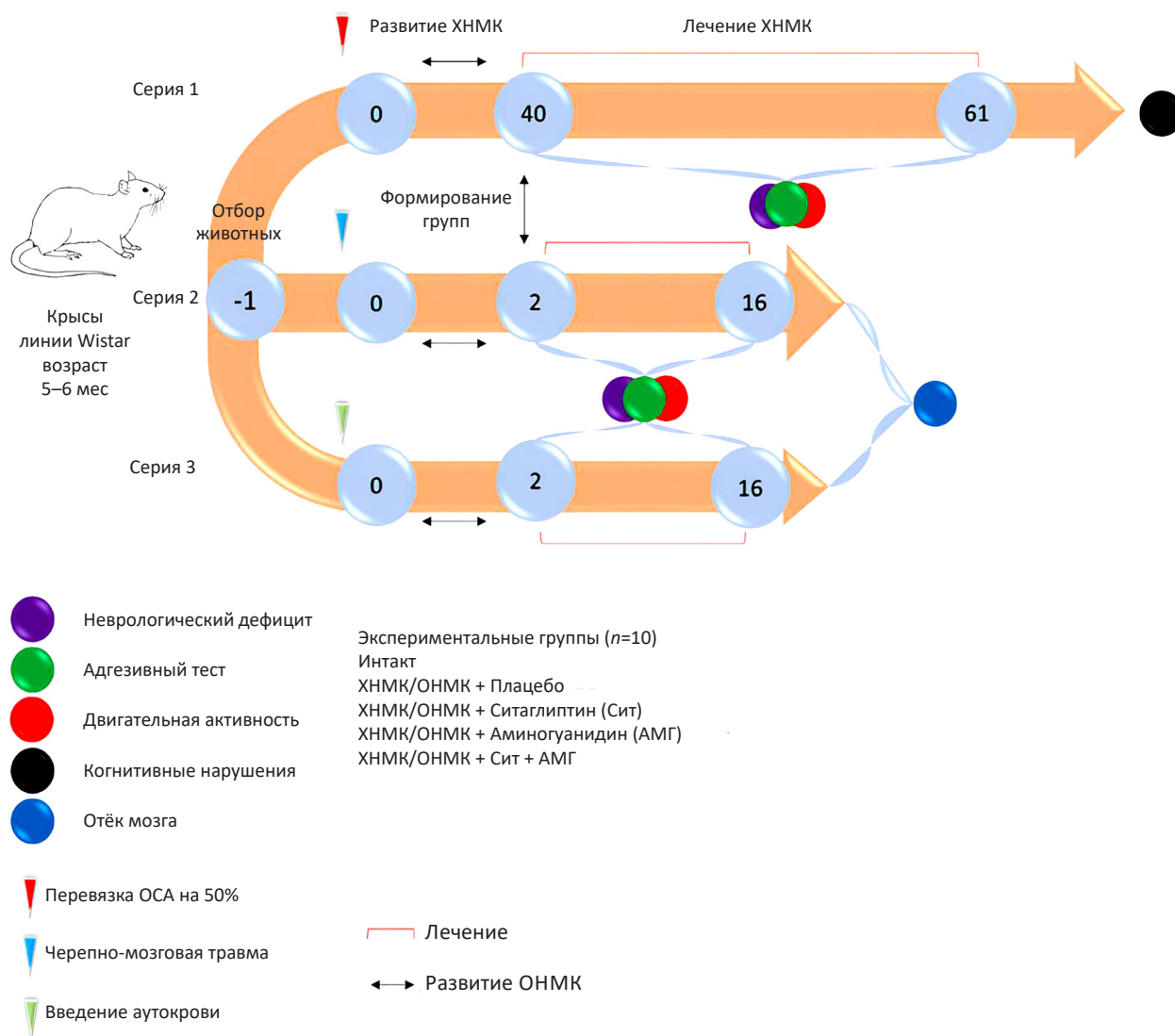


Рисунок 2 – Дизайн исследования

Примечание: ОСА – общие сонные артерии, ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, Сит – ситаглиптин, АМГ – аминогуанидин

Таблица 1 – Показатели психоневрологического дефицита у животных с ХНМК

Показатель		Интактные	ХНМК+			
			Плацебо	Сит	Амг	Сит+Амг
Шкала mNSS, баллы		0,1±0,1*	4,2±2,1	1,2±0,4*	1,1±1,2	0,5±0,8*
Открытое поле	ДА	49,8±15,5*	18,6±7,1	27,3±8	25,6±5,4	35,8±7,8*
	ОИА	7,5±1,6*	3,1±0,5	3,4±1,3	3,9±1,6	3,2±1,2
Адгезивный тест	Среднее время обнаружения стикера, сек	10,9±5,8*	101,2±41,6	41,7±17,6*	48,4±31,6	33,6±15,8*
	Среднее время снятия стикера, сек	11,2±6,3*	114,2±49,4	43,3±15,7*	53,8±32,2	39,1±11,9*
Водный лабиринт Морриса	День 1, время поиска, сек	72,3±5,6*	95,8±15,1	89,4±10,7	82,8±5,7	86,8±9,5
	День 2, время поиска, сек	59,1±8,2	69,7±19,3	79,4±11,2	69,7±9,5	59,9±7,5
	День 3, время поиска, сек	56,3±12,3	57,1±11,1	69,9±10,7	52,1±8,5	45,1±7,9*
	День 4, время поиска, сек	32,3±7,3*	51,8±14,3	49,4±10,8	49,8±4,9	37,1±5,2*

Примечание: ДА – двигательная активность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения, Амг – аминагуанидин, Сит – ситаглиптин, * – различия с группой плацебо значимы при $p < 0,05$

Таблица 2 – Показатели психоневрологического дефицита у животных с острой травмой ГМ (ОНМК и ЧМТ)

Группа	Неврологический дефицит, балл		Открытое поле		Адгезивный тест				Содержание воды в поражённой гемисфере, %
	Шкала «Combs & D'Alecy»	Шкала Garcia	ДА	ОИА	Левая лапа Ипсилатеральная поражению		Правая лапа Контралатеральная поражению		
					Время обнаружения стикера, сек	Время снятия стикера, сек	Время обнаружения стикера, сек	Время снятия стикера, сек	
Интакт	9±0,0*	18±0,0*	42,4±8,2*	25,4±1,6*	15,8±1,1*	23,9±1,4*	14,8±1,3*	19,2±1,2*	76,32±0,03*
ЧМТ+ плацебо	3±0,1	8,7±0,4	5,1±0,9	5,2±0,3	123,6±15,3	135,9±14,5	180,0±0,0	180,0±0,0	78,58±0,15
ЧМТ+Сит	3,1±0,2	8,7±0,3	4,0±1,2	1,9±0,4	91,1±14,1*	102,1±12,7*	180,0±0,0	180,0±0,0	78,88±0,21
ЧМТ+Амг	3,2±0,2	8,8±0,4	5,2±1,3	1,2±0,2	99,6±12,4	108,9±11,5	180,0±0,0	180,0±0,0	78,19±0,13*
ЧМТ+Сит+ Амг	4,9±0,2*	9,9±0,5	20,5±2,9*	10,5±0,3*	92,9±14,4*	102,7±22,2	180,0±0,0	180,0±0,0	77,83±0,12*
Интакт	9±0,0*	18±0,0*	45,2±1,8*	19,4±1,8*	13,9±1,4*	15,8±1,1*	14,8±1,8*	19,2±1,9*	76,06±0,13*
ОНМК+ плацебо	3±0,3	8,5±0,6	5,5±0,9	3,8±0,4	91,2±11,3	96,8±12,1	180,0±0,0	180±0,0	79,12±0,15
ОНМК+Сит	3,9±0,2	9,6±0,3	4,8±0,6	3,2±0,6	80,8±12	83,4±18,2	128,2±10,1*	180±0,0	78,59±0,19*
ОНМК+Амг	3,0±0,4	8,7±0,6	5,8±0,3	2,2±0,5	81,8±11	85,9±14,7	135,3±8,1*	180±0,0	78,49±0,29*
ОНМК+Сит+ Амг	4,8±0,2*	10,9±0,5*	25,0±1,7*	15,1±2,3*	52,5±11,6*	63,6±11,4*	66±11,8*	75,2±8,1*	78,05±0,24*

Примечание: ЧМТ – черепно-мозговая травма, t – время, ДА – двигательная активность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, Амг – аминагуанидин, Сит – ситаглиптин, * – различия (в сравнении с группой плацебо) значимы при $p < 0,05$.

Очевидно, что компенсация нарушений углеводного обмена является залогом эффективной профилактики осложнений СД, но, в силу различных причин, лишь небольшая доля пациентов с этим диагнозом могут достигать и поддерживать значения гликемии, установленные врачом. Низкая доступность современных высокоэффективных антигипергликемических лекарственных средств, а также наличие побочных эффектов, ограничивающих приверженность пациентов к лечению, являются существенными препятствиями для попыток управления СД.

Основной причиной смерти при СД остаются его сердечно-сосудистые осложнения, ведущей причиной которых является формирующаяся под действием хронической гипергликемии

эндотелиальная дисфункция и, как следствие, нарушение микроциркуляции. Даже случайно произошедшая ЧМТ в условиях СД протекает значительно тяжелее, с более высоким риском инвалидизации или летального исхода [6]. Хроническое воспаление и оксидативный стресс не только оказывают повреждающее действия на эндотелий, усугубляя его дисфункцию, но и повышают экспрессию iNOS, что в данных условиях играет значительную негативную роль.

Продукция оксида азота индуцибельной синтазой (iNOS) значительно превышает таковую у остальных изоформ. Помимо участия NO в процессе синтеза, секреции инсулина и микроциркуляции, эта молекула принимает участие в поддержании гомеостаза всех тканей организма. Высокие

концентрации NO, возникающие при активации iNOS, оказывают негативное действие на сердечно-сосудистую систему усиливая эндотелиальную дисфункцию (ЭД). Подавление активности iNOS может играть положительную роль в отношении ЭД и функционировании инсулярного аппарата [10].

В разные годы разрабатывались различные подходы к модуляции активности iNOS – блокирование продукции АФК в восходящем направлении, введение BH4, введение фолевой кислоты для рециркуляции BH2 в BH4, применение ингибиторов аргиназы, ресвератрола, кальция добезилата, кавноксина, усилителей транскрипции NOS (AVE3085 и AVE9488), L-аргинина, блокаторов и активаторов различных NOS [10], но ни один из них не нашёл широкого распространения в медицинской практике.

Аминогуанидин разрабатывался в качестве лекарственного средства для терапии СД и его осложнений (нефропатия). Этот препарата совмещает в себе несколько потенциально ценных свойств, а именно способность снижать активность iNOS и уменьшать накопление конечных продуктов гликирования. Аминогуанидин был снят с продвижения на фармацевтическом рынке по причинам, которые в настоящее время могут быть пересмотрены с позиций современных требований (изменение показаний, проведение дополнительных исследований) и возможностей (оптимизация молекулы, проведение дополнительных исследований по протоколам с использованием современных методов сбора и обработки информации). Аминогуанидин интересен также с точки зрения результатов доклинических исследований его церебропротекторных свойств при различных НМК, что приобретает высокую ценность учитывая причины и последствия осложнений СД.

Ингибиторы ДПП-4 первые представители класса антигипергликемических препаратов механизм действия которых связан с влиянием на систему

инкретинов, которая участвует не только в регуляции углеводного обмена, но и оказывает ряд не связанных с ним эффектов. Так для инкретиномиметиков в большей (агонисты ГПП-1) или меньшей (идПП-4) степени установлены церебро-, кардио- и эндотелиопротективные свойства [24].

Создание комбинированных лекарственных препаратов, наряду с разработкой оригинального лекарственного средства или его аналога, новой лекарственной формы, нового показания к применению, является одной из выигрышных стратегий получения нового фармацевтического продукта.

Учитывая широкий спектр плейотропных эффектов идПП-4, перечень которых расширяется по мере накопления опыта клинического применения, мы посчитали целесообразным оценить церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина и аминогуанидина.

В данной работе церебропротекторные эффекты комбинации ситаглиптина и аминогуанидина устанавливали на моделях хронического и острого НМК и было обнаружено, что действие комбинации значительно превосходит эффекты препаратов, вводимых по отдельности, что указывает на синергизм, обусловленный различными мишенями воздействия и соответственно эффектами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинированное применение ситаглиптина и аминогуанидина оказывало церебропротекторное действие при ХНМК, воспроизводимого стенозом ОСА на 50% и острой травмой ГМ, воспроизводимой нанесением ЧМТ или при экспериментальном ГИ, снижая выраженность симптомов психоневрологического дефицита, улучшая когнитивные функции и уменьшая выраженность отёка ГМ. Комбинация ситаглиптина с аминогуанидином может стать основой разработки нового перспективного подхода к лечению СД и его осложнений.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 20-75-10013).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин, А.В. Стрыгин – идея и планирование исследования, оформление графического материала, утверждение финальной версии рукописи; Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; Е.И. Морковин, А.В. Каспарова, С.С. Полодянец – статистическая обработка данных, оформление графического материала, редактирование текста; Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, А.В. Баскова – сбор и анализ литературных данных, написание рукописи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Соловьева Э.Ю., Амелина И.П. Церебральная микроангиопатия в развитии хронической ишемии мозга: подходы к лечению // Медицинский совет. – 2020. – № 2. – С. 16–24. DOI: 10.21518/2079-701X2020-2-16-24
2. Мачинский П.А., Плотникова Н.А., Ульянов В.Е., Кемайкин С.П., Рыбаков А.Г. Сравнительная характеристика показателей смертности и летальности от ишемического и геморрагического инсультов в России // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2019. – № 3 (51). – С. 101–118. DOI: 10.21685/2072-3032-2019-3-10
3. Feigin V.L., Krishnamurthi R.V., Parmar P., Norrving B., Mensah G.A., Bennett D.A., Barker-Collo S., Moran A.E., Sacco R.L., Truelsen T., Davis S., Pandian J.D., Naghavi M., Forouzanfar M.H., Nguyen G., Johnson C.O., Vos T., Meretoja A., Murray C.J., Roth G.A. Update on the Global Burden of Ischemic and Hemorrhagic Stroke in 1990–2013: The GBD 2013 Study // Neuroepidemiology. – 2015. – Vol. 45, No. 3. – P. 161–176. DOI: 10.1159/000441085
4. Воронина В.П., Загребельный А.В., Лукина Ю.В., Кутишенко Н.П., Дмитриева Н.А., Лерман О.В., Лукьянов М.М., Окшина Е.Ю., Благодатский С.В., Иванова Л.П., Бойцов С.А., Драпкина О.М., Марцевич С.Ю. Особенности течения мозгового инсульта у больных сахарным диабетом по данным регистра РЕГИОН-М // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2019. – Т. 18, № 5. – С. 60–65. DOI: 10.15829/1728-8800-2019-5-60-65
5. Galgano M., Toshkezi G., Qiu X., Russell T., Chin L., Zhao L.R. Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors // Cell Transplant. – 2017. – Vol. 26, No. 7. – P. 1118–1130. DOI: 10.1177/0963689717714102
6. Lustenberger T., Talving P., Lam L., Inaba K., Bass M., Plurad D., Demetriades D. Effect of diabetes mellitus on outcome in patients with traumatic brain injury: a national trauma databank analysis // Brain Inj. – 2013. – Vol. 27, No. 3. – P. 281–285. DOI: 10.3109/02699052.2012.743178
7. Аметов А.С., Невольникова А.О., Тертычная Е.А. Возможности агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в снижении сердечно-сосудистого риска у пациентов с сахарным диабетом типа 2: что нового? // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2019. – Т. 8, № 3 (28). – С. 44–53. DOI: 10.24411/2304-9529-2019-13005
8. Тюренков И.Н., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Волотова Е.В. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 1. – С. 58–67. DOI: 10.14341/probl201763149-58
9. Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Морковин Е.И., Стрыгин А.В., Горбунова Ю.В., Волотова Е.В., Макаренко И.Е., Сапарова В.Б., Драй Р.В., Петров В.И. Физиология, фармакология и перспективы применения ингибиторов дипептидилпептидазы-4 // Фармация и фармакология. – 2023. – Т. 11, № 1. – С. 19–47. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-19-47
10. Куркин Д.В., Абросимова Е.Е., Бакулин Д.А., Ковалев Н.С., Дубровина М.А., Борисов А.В., Стрыгин А.В., Морковин Е.И., Тюренков И.Н. Модуляция активности различных синтаз оксида азота в качестве подхода к терапии эндотелиальной дисфункции // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 130–153. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-2-130-153
11. Vakili A., Zahedi-Khorasani M. Effect of aminoguanidine on post-ischemic damage in rodent model of stroke // Pak J Pharm Sci. – 2008. – Vol. 21, No. 1. – P. 24–28.
12. Vakili A., Hosseinzadeh F., Sadogh T. Effect of aminoguanidine on post-ischemic brain edema in transient model of focal cerebral ischemia // Brain Res. – 2007. – Vol. 1170. – P. 97–102. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.07.016
13. Pérez-Asensio F.J., Hurtado O., Burguete M.C., Moro M.A., Salom J.B., Lizasoain I., Torregrosa G., Leza J.C., Alborch E., Castillo J., Knowles R.G., Lorenzo P. Inhibition of iNOS activity by 1400W decreases glutamate release and ameliorates stroke outcome after experimental ischemia // Neurobiol Dis. – 2005. – Vol. 18, No. 2. – P. 375–384. DOI: 10.1016/j.nbd.2004.10.018
14. Sugimoto K., Iadecola C. Effects of aminoguanidine on cerebral ischemia in mice: comparison between mice with and without inducible nitric oxide synthase gene // Neurosci Lett. – 2002. – Vol. 331, No. 1. – P. 25–28. DOI: 10.1016/S0304-3940(02)00834-0
15. Thornalley P.J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts // Arch Biochem Biophys. – 2003. – Vol. 419, No. 1. – P. 31–40. DOI: 10.1016/j.abb.2003.08.013
16. Куркин Д.В., Морковин Е.И., Верхоляк Д.В., Бакулин Д.А., Волотова Е.В., Тюренков И.Н. Изменение скорости мозгового кровообращения у крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – № 1 (61). – С. 36–39.
17. Wu G., Bao X., Xi G., Keep R.F., Thompson B.G., Hua Y. Brain injury after intracerebral hemorrhage in spontaneously hypertensive rats // J Neurosurg. – 2011. – Vol. 114, No. 6. – P. 1805–1811. DOI: 10.3171/2011.1.JNS101530
18. Kurkin D.V., Bakulin D.A., Morkovin E.I., Kalatanova A.V., Makarenko I.E., Dorotenko A.R., Kovalev N.S., Dubrovina M.A., Verkholyak D.V., Abrosimova E.E., Smirnov A.V., Shmidt M.V., Tyurenkov I.N. Neuroprotective action of Cortexin, Cerebrolysin and Actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats // PLoS One. – 2021. – Vol. 16, No. 7. – Art. ID: e0254493. DOI: 10.1371/journal.pone.0254493
19. Дайнеко А.С., Шмонин А.А., Шумеева А.В. Методы оценки неврологического дефицита у крыс после 30-минутной фокальной ишемии мозга на ранних и поздних сроках постишемического периода // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 68–78. DOI: 10.24884/1682-6655-2014-13-1-68-78
20. Bouet V., Boulouard M., Toutain J., Divoux D., Bernaudin M., Schumann-Bard P., Freret T. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice // Nat Protoc. – 2009. – Vol. 4, No. 10. – P. 1560–1564. DOI: 10.1038/nprot.2009.125
21. Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory // Nat Protoc. – 2006. – Vol. 1, No. 2. – P. 848–858. DOI: 10.1038/nprot.2006.116
22. Han W., Li Y., Cheng J., Zhang J., Chen D., Fang M., Xiang G., Wu Y., Zhang H., Xu K., Wang H., Xie L., Xiao J. Sitagliptin improves functional recovery via GLP-1R-induced anti-apoptosis and facilitation of axonal regeneration after spinal cord injury // J Cell Mol Med. – 2020. – Vol. 24, No. 15. – P. 8687–8702. DOI: 10.1111/jcmm.15501
23. Sugimoto K., Yagihashi S. Effects of aminoguanidine on structural alterations of microvessels in peripheral nerve of streptozotocin diabetic rats // Microvasc Res. – 1997. – Vol. 53, No. 2. – P. 105–112. DOI: 10.1006/mvre.1996.2002
24. Аметов А.С., Камынина Л.Л., Ахмедова З.Г. Кардиопротективные эффекты агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 // Кардиология. – 2014. – Т. 54, № 7. – С. 92–96. DOI: 10.18565/cardio.2014.7.92-96

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейропсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Стрыгин Андрей Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6997-1601. E-mail: drumsav@mail.ru

Андриашвили Тамара Мамукаевна – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0983-666X. E-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

Соколова Алина Андреевна – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии

и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5116-8458. E-mail: chudi.lis.14@gmail.com

Болохов Никита Сергеевич – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2458-5731. E-mail: neekit.main@gmail.com

Пустынников Владислав Эдуардович – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9561-5320. E-mail: pustynnikov200122@gmail.com

Фомичев Евгений Андреевич – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1837-4337. E-mail: fomichevVSMU@gmail.com

Баскова Александра Владимировна – студент 5-го курса кафедры стоматологии ФГБОУ ВО «ОГУ им. И.С. Тургенева». ORCID ID: 0009-0005-7573-1638. E-mail: baskova_a@internet.ru

Полодянец Саркис Суренович – студент 5-го курса, стоматологический факультет, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0003-5406-4878. E-mail: vip.polodyants@mail.ru

Каспарова Анна Вадимовна – студент 5-го курса, стоматологический факультет, ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0002-7292-5451. E-mail: anyakasparova@yandex.ru

УДК 615.28



Разработка состава и технологии получения антимикробной композиции на основе моно- и сесквитерпеноидов

Е.В. Лакомкина¹, Г.А. Атажанова¹, С.Б. Ахметова¹, И.Н. Зилфикаров^{2,3,4}

¹ Некоммерческое акционерное общество «Медицинский университет Караганды, 100000, Республика Казахстан, г. Караганда, ул. Гоголя, д. 40

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР)», 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, к. 1

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Майкопский государственный технологический университет», 385000, Россия, г. Майкоп, ул. Первомайская, д. 191

⁴ Закрытое акционерное общество «ВИФИТЕХ», 117624, Россия, г. Москва, ул. Скобелевская, д. 22

E-mail: yankovskaya@qmu.kz

Получена 20.01.2023

После рецензирования 20.04.2023

Принята к печати 05.05.2023

В статье отражены результаты подбора эфирных масел для композиций с антибактериальными и противогрибковыми свойствами. Приведена технология их получения.

Цель. Разработка технологии и изучение состава новых композиций эфирных масел, обладающих антибактериальной и противогрибковой активностью.

Материал и методы. В работе использованы: трава иссопа сомнительного (*Hyssopus ambiguus* (Trautv.) Iljin), трава тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Klovov), трава тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.), трава тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.), и полученные из них эфирные масла. Состав эфирных масел определяли методом газовой хроматографии с масс-спектральной детекцией. Основные физико-химические показатели композиций оценивали согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. Испытания на антимикробную активность проводили с применением штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10231.

Результаты. Получены и исследованы композиции, обладающие активностью в отношении микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* и грибов *Candida albicans*. Композиция на основе эфирных масел иссопа сомнительного и тимьяна Маршалла содержала 139 компонентов, из которых основные – эвкалиптол (6,51%) и терпинен-4-ол (1,95%). Композиция из эфирных масел иссопа сомнительного и тимьяна частолистого содержала 137 компонентов (эвкалиптол (20,37%), терпинен-4-ол (7,03%), Т-муурол (2,28%), γ-терпинен (2,23%), β-мирцен (2,09%) и др.). Композиция из эфирных масел иссопа сомнительного и тимьяна ползучего содержала 149 компонентов (основные – эвкалиптол (7,33%) и α-терпинеол (0,9%)).

Закключение. Предложена технология и установлен состав эфирномасличных композиций, обладающих антибактериальной и противогрибковой активностью.

Ключевые слова: эфирные масла; изопреноиды; эфирномасличная композиция; технология; антибактериальная и противогрибковая активность

Список сокращений: ГФ – Государственная фармакопея; РК – Республика Казахстан; РФ – Российская Федерация; БАВ – биологически активные вещества; ЛРС – лекарственное растительное сырье; ЛП – лекарственный препарат; ЭМ – эфирные масла; IgA – иммуноглобулин А; ФС – фармакопейная статья; ОФС – общая фармакопейная статья.

Для цитирования: Е.В. Лакомкина, Г.А. Атажанова, С.Б. Ахметова, И.Н. Зилфикаров. Разработка состава и технологии получения антимикробной композиции на основе моно- и сесквитерпеноидов. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):114-126. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-114-126

© Е.В. Лакомкина, Г.А. Атажанова, С.Б. Ахметова, И.Н. Зилфикаров, 2023

For citation: E.V. Lakomkina, G.A. Atazhanova, S.B. Akhmetova, I.N. Zilfikarov. Development of composition and technology for obtaining antimicrobial composition based on mono- and sesquiterpenoids. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):114-126. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-114-126

Development of composition and technology for obtaining antimicrobial composition based on mono- and sesquiterpenoids

E.V. Lakomkina¹, G.A. Atazhanova¹, S.B. Akhmetova¹, I.N. Zilfikarov^{2,3,4}

¹ Medical University of Karaganda,

40, Gogol Str., Karaganda, Republic of Kazakhstan, 100000

² All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR)",

Bldg 1, 7, Grin Str., Moscow, Russia, 117216

³ Maikop State Technological University",

191, Pervomaiskaya Str., Maykop, Russia, 385000

⁴ Closed Joint Stock Company «VIFITECH»,

22, Skobelevskaya Str., Moscow, Russia, 117624

E-mail: yankovskaya@qmu.kz

Received 20 Jan 2023

After peer review 20 April 2023

Accepted 05 May 2023

The article reflects the results of the essential oils selection for the compositions with antibacterial and antifungal properties. The technology of their production is represented.

The aim of the work was the development of technology and the study structure of new essential oils compositions with antibacterial and antifungal activities.

Material and methods. The following plants have been used in the work: the herb of *Hyssopus ambiguus* (Trautv.) Iljin, the herb of *Thymus crebrifolius* Klovov, the herb of *Thymus marschallianus* Willd, the herb of *Thymus serpyllum* L., and the essential oils obtained from them. The composition of the essential oils was determined by Gas Chromatography Mass Spectrometry. The main physical and chemical parameters of the compositions were evaluated in accordance with the requirements of the Russian State Pharmacopoeia, the XIVth edition. The tests for the antimicrobial activity were carried out using the strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10231.

Results. Compositions with an activity against microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and fungi *Candida albicans* have been obtained and studied. The composition based on essential oils of *Hyssopus ambiguus* (Trautv.) Iljin and *Thymus marschallianus* Willd. contained 139 components, the main ones of which are eucalyptol (6.51%) and terpinen-4-ol (1.95%). The composition of essential oils of *Hyssopus ambiguus* (Trautv. Iljin) and *Thymus crebrifolius* Klovov contained 137 components (eucalyptol (20.37%), terpinen-4-ol (7.03%), γ -terpinene (2.23%), β -myrcene (2.09%), etc.). The composition of the essential oils of *Hyssopus ambiguus* (Trautv.) Iljin and *Thymus serpyllum* L. contained 149 components (the main ones are eucalyptol (7.33%) and α -terpineol (0.9%)).

Conclusion. The technology has been proposed and the structure of the essential oils compositions with antibacterial and antifungal activities has been established.

Keywords: essential oils; isoprenoids; essential oils composition; technology; antibacterial and antifungal activities

Abbreviations: SP – State Pharmacopoeia; RK – Republic of Kazakhstan; RF – Russian Federation; BAS – biologically active substances; MPRMs – medicinal plant raw materials; EOs – essential oils; IgA – immunoglobulin A; PhM – pharmacopoeial monograph; GPhM – general pharmacopoeial monograph.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день одним из активно развивающихся научных направлений является разработка новых лекарственных препаратов (ЛП), предназначенных для лечения и профилактики инфекций верхних дыхательных путей, с применением инновационных технологий и на основе природных биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения. Эфирные масла (ЭМ) – сложные многокомпонентные смеси, состоящие преимущественно из изопреноидов, как известно, обладают широким спектром фармакологической активности, в частности, способны эффективно сдерживать развитие патогенной микрофлоры, поэтому представляют большой интерес для разработки новых ЛП [1–4].

Основную часть ЭМ составляют моно- и сесквитерпеноиды, остальное приходится на

кислородсодержащие производные. Благодаря содержанию фенолов, терпенов, спиртов, альдегидов и флавоноидов, ЭМ способны оказывать бактерицидный и бактериостатический эффект, противовирусное действие, проявлять противогрибковую активность. ЭМ обладают иммуномодулирующим действием, укрепляют клеточные мембраны, повышают антиоксидантную активность плазмы крови [5–8].

Многочисленные исследования отечественных и зарубежных учёных доказывают эффективность ряда ЭМ в отношении вирусных, бактериальных и грибковых агентов. Противовирусным и противомикробным эффектами, а также восстанавливающим действием на защитные барьеры верхних дыхательных путей, обладают БАВ представителей семейств адоксовые (*Adoxaceae*), айрные (*Acoraceae*), амариллисовые (*Amaryllidaceae*),

астровые (*Asteraceae*), берёзовые (*Betulaceae*), бобовые (*Fabaceae*), вересковые (*Ericaceae*), зверобойные (*Hypericaceae*), ивовые (*Salicaceae*), имбирные (*Zingiberaceae*), кипрейные (*Onagraceae*), кипарисовые (*Cupressaceae*), луковые (*Alliaceae*), миртовые (*Myrtaceae*), пармелиевые (*Parmeliaceae*), розоцветные (*Rosaceae*), синюховые (*Polemoniaceae*), сосновые (*Pinaceae*), яснотковые (*Lamiaceae*) и др. [9–12].

Компонентами ЭМ, которые проявляют противовирусное и антибактериальное действие, являются соединения фенольной природы (тимол, карвакрол, эвгенол и др.), терпеновые спирты (линалоол, гераниол, ментол), альдегиды (нераль, гераниаль, цитронеллаль), кетоны (туйон, фенхон, карвон, пинокамфон, камфора, ментон и др.), сложные эфиры (анетол, эстрагол и др.) [13–16].

Применение ЭМ и ЛП на их основе при респираторных инфекциях имеет огромный потенциал и требует дальнейших исследований ввиду проблемы повышения антибиотикорезистентности, т.к. они способны оказывать противомикробное действие, не вызывая развития устойчивости микроорганизмов, в отличие от антибиотиков и противовирусных химиопрепаратов [17].

Ингаляция ЭМ является одним из эффективных методов профилактики простудных заболеваний [18–21]. Они не вызывают резистентности; оказывают отхаркивающее и секретолитическое действие; повышают выработку иммуноглобулина А (IgA), что способствует повышению иммунитета; благоприятно влияют на симптомы ОРВИ; повышают активность цилиарного эпителия носовой полости [22].

С целью разработки нового ЛП с антимикробными свойствами нами изучены комбинации ЭМ, полученных от ЛРС растений сем. яснотковые (*Lamiaceae*), произрастающих на территории Республики Казахстан (РК), а именно иссопа сомнительного (*Hyssopus ambiguous* (Trautv.) Iljin), тимьяна Маршалла Тимьян Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.), тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) и тимьяна частлистого (*Thymus crebrifolius* Klok.).

ЦЕЛЬ. Разработка технологии и изучение состава новых композиций эфирных масел, обладающих антибактериальной и противогрибковой активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Объектами исследования являлись композиции ЭМ, составленные нами на основании результатов микробиологических исследований с соблюдением правил составления эфирномасличных композиций в ароматерапии. Образцы ЛРС, из которых были наработаны ЭМ, а затем получены эфиромасличные композиции, собраны авторами исследования самостоятельно на территории РК (табл. 1). Растительное сырье было собрано в период цветения, т.к. именно в этот период ЭМ данных растений

обладали наиболее подходящим качественным и количественным компонентным составом. Во всех случаях использовалась надземная часть.

Подтверждение видовой принадлежности производящих растений было осуществлено с участием профессора кафедры ботаники М.Ю. Ишмуратовой, образцы растений депонированы в гербарий факультета биологии и географии Карагандинского университета им. Е.А. Букетова (г. Караганда, РК). Предварительно ЛРС прошло радиационный контроль и испытание на тяжёлые металлы. При изучении указанных видов нами впервые проведено морфологическое и гистохимическое исследование травы иссопа сомнительного [23].

Методика получения ЭМ

ЭМ получали в установке, состоящей из реакционной круглодонной колбы вместимостью 1 дм³, паропроводной изогнутой трубки, холодильника, приёмника со спускным краном и сливной трубки. Около 15–20 г сырья помещали в колбу, приливали 300 мл воды, колбу соединяли через шлиф с паропроводящей трубкой и заполняли её водой через кран при помощи шланга с воронкой. Содержимое колбы нагревали и кипятили с интенсивностью, при которой скорость стекания дистиллята составляла 60–65 капель в 1 мин в течение 2 ч. Через 5 мин после окончания перегонки измеряли объём ЭМ. Процентное содержание определяли объёмным методом. Для каждого наименования ЛРС наработка ЭМ осуществлялась по отдельности и до получения не менее 10 мл каждого изучаемого объекта, достаточного для изучения физико-химических свойств и наработки образцов исследуемых композиций. Выход ЭМ для каждого из использованных видов растительного сырья представлен в таблице 2.

Образцы ЭМ растворяли в 50 мл *n*-гексана, раствор выдерживали с магния сульфатом безводным в течение 1 ч, затем фильтровали через фильтровальную бумагу и упаривали под вакуумом на ротационном испарителе марки Stegler XD-52AA (Россия) до полного удаления органического растворителя.

Определение компонентного состава эфирномасличных композиций

В работе использовали следующие эфиромасличные композиции: композиция 1 – «иссоп сомнительный+тимьян Маршалла», композиция 2 – «иссоп сомнительный+тимьян частлистый» и композиция 3 – «иссоп сомнительный+тимьян ползучий».

Компонентный состав ЭМ композиций определяли методом ГХ-МС согласно требованиям Государственной фармакопеи Республики Казахстан

(ГФ РК, т. I (2.2.28)¹. Для анализа использовали хроматограф марки Agilent-7890A («Agilent Technologies», США) с капиллярной колонкой HP-5 мс 30 м×0,25 мм (толщина пленки 0,25 мкм) и в сочетании с селективным масс-спектральным детектором 5975С. Полученные результаты были обработаны с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation. Идентификацию компонентов ЭМ проводили с помощью библиотеки масс-спектров NIST-2017.

ЭМ в количестве 150 мкл растворяли в 800 мкл растворителя (хлороформ для композиции 1 и спирт этиловый 70% для композиций 2 и 3) и перемешивали до полного растворения масла. Анализ проводили с использованием температурной программы: начинали с +70°C в течение 2 мин, затем подъем температуры со скоростью 20°C/мин до +270°C (удерживали в течение 30 мин). Газ-носитель – гелий. Температура инжектора – +250°C, детектора – +230°C. Масс-спектры регистрировали с использованием энергии ионизации 70 эВ и температуры разделения +280°C, диапазон массы получения M/z 10–650.

Исследование антимикробной активности эфирномасличных композиций

Анализ антимикробной активности ЭМ, композиций и результатов проводили на кафедре биомедицины в микробиологической лаборатории Медицинского университета Караганды (РК). В работе использовали: питательные среды Чистовича, мясо-пептонный агар, среда Эндо, среда Сабуро, кровяной агар; музейные штаммы культур *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*; диски производства компании Bioanalyse Limited (Турция), импрегнированные бензилпенициллина натриевой солью (1 Ед/диск), ампициллина тригидратом (25 мкг/диск), нистатином (100 мкг/диск) и флуконазолом (10 мкг/диск) для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам; линейка-шаблон для измерения размеров зон задержки роста микроорганизмов (PW096), размер – 370×65 мм (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия); денсиметр для определения концентрации культуры в физиологическом растворе.

Антимикробную активность определяли согласно требованиям ГФ РК по методике определения чувствительности к антибиотикам микробиологическим методом, а именно, методом диффузии в агар².

Для культивирования *Staphylococcus aureus* использовали среду Чистовича, для *Escherichia coli* – среду Эндо, для *Bacillus subtilis* – мясопептонный бульон, для *Candida albicans* – среду Сабуро. Согласно используемой методике, применяли суточные

культуры, разведенные в физиологическом растворе. Диски из фильтровальной бумаги, пропитанные неразбавленной эфирномасличной композицией, помещались на один сегмент чашки Петри, диски с препаратом контроля (бензилпенициллина натриевая соль, нистатин) – на другой. Учитывая, что ЛП, содержащих в своем составе изучаемые ЭМ на рынке РК не представлено, нами было принято решение использовать в качестве препарата-сравнения косметологическое средство, обладающее противомикробными свойствами, а именно спрей «Дыши» (сер. 061022, производитель АО «Аквирон», Россия).

Чашки Петри с культурами бактерий помещали на 24 ч в термостат и инкубировали; для бактерий использовали температурный режим +36(±1)°C, для грибов рода *Candida* – +28°C. Зоны отсутствия роста микроорганизмов определяли специальной линейкой-шаблоном. Диаметры зон задержки роста меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антимикробной активности, 10–15 мм – слабая активность, 15–20 мм – умеренно выраженная активность, свыше 20 мм – выраженная.

Стандартизация полученных эфирномасличных композиций

Указанные выше эфирномасличные композиции испытывали согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания (далее ГФ РФ XIV изд.), ОФС.1.5.2.0001.15 Эфирные масла³.

Описание. Эфирномасличные композиции помещали в цилиндр из прозрачного стекла диаметром 3 см, в проходящем рассеянном дневном свете определяли подвижность жидкости и их цвет. Определение запаха: около 0,1 мл (2 капли) эфирномасличной композиции наносили на полоску фильтровальной бумаги длиной 12 и шириной 5 см так, чтобы масло не смачивало края бумаги, затем оценивали запах через каждые 15 мин.

Подлинность. Определение проводили методом высокоэффективной газовой хроматографии в соответствии с требованиями ОФС.1.2.1.2.0004.15 Газовая хроматография (см. «Определение компонентного состава эфирномасличных композиций»). Для установления подлинности эфирномасличных композиций использовали относительные времена удерживания преобладающих и специфичных компонентов: для композиции 1 – эвкалиптола и терпинен-4-ола; для композиции 2 – эвкалиптола, терпинен-4-ола, γ -мууролола, γ -терпинена, β -мирцена; для композиции 3 – эвкалиптола и α -терпинеола.

Растворимость. Полученные нами эфирномасличные композиции нерастворимы в воде. Нами были проведены испытания

¹ Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. – Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2008. – 592 с. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmacoscopeia.ru/wp-content/uploads/2017/01/Gosudarstvennaya-farmakopeya-Respubliki-Kazakhstan-PDF.pdf>

² Там же.

³ Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. 1–4. – Москва: ФЭМБ, 2018. – [Электронный ресурс] – <https://femb.ru/record/pharmacopeia14>

растворимости эфирномасличных композиций также в гексане, хлороформе и диметилсульфоксиде.

Для определения растворимости эфирномасличной композиции в спирте этиловом 70% 1 мл эфирного масла помещали в пробирку вместимостью 25 мл с притёртой пробкой. Определение проводили при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$. До момента полного растворения масла спирт прибавляли порциями по 0,1 мл при частом интенсивном помешивании. Регистрировали объём спирта, израсходованного для получения прозрачного раствора. Затем продолжали прибавлять спирт порциями по 0,5 мл при интенсивном помешивании до общего объёма добавленного спирта, равного 20 мл.

Если раствор мутнел или опалесцировал от добавления 20 мл растворителя, то регистрировали его объём в точке появления первых признаков опалесценции, и тот объём спирта, при котором мутность или опалесценция исчезали. Если прозрачный раствор не образовывался после добавления 20 мл спирта, то испытание повторяли с использованием спирта этилового 90%.

Спирт этиловый. 1) 2 капли эфирномасличной композиции добавляли в несколько капель воды, помещённой на часовое стекло. Композиция выдерживала испытание, если на чёрном фоне не образовывалось заметного помутнения вокруг капель ЭМ

2) 1 мл эфирномасличной композиции наливали в пробирку, закрывали её рыхлым кусочком ваты, в середину которого помещали кристаллик фуксина основного, затем подогревали до кипения на водяной бане. Композиция выдерживала испытание, если вата не окрашивалась в фиолетово-розовый цвет.

Жирные и минеральные масла. 1) 1 мл эфирномасличной композиции взбалтывали в пробирке объёмом 20 мл с 10 мл спирта этилового 96%. Композиция выдерживала испытание, если не наблюдалось помутнения и образования маслянистых капель.

2) 0,05 мл испытуемой эфирномасличной композиции помещали на фильтровальную бумагу. Пятно масла испарялось полностью в течение 24 ч без следа.

Остаток эфирного масла после выпаривания. Около 5 г эфирномасличной композиции помещали в предварительно взвешенную чашку диаметром 8 см. Чашку нагревали на кипящей водяной бане до полного испарения масла. Охлаждали в эксикаторе над безводным хлоридом кальция и взвешивали. Уровень воды в бане на протяжении всего эксперимента находился на 1–20 мм ниже дна выпарительной чашки.

Вода. 0,5 мл ЭМ смешивали с 10 мл петролейного эфира. Композиция выдерживала испытание, если не наблюдалось помутнения.

Плотность. Испытание проводили с помощью автоматического вискозиметра марки

SVM 3000 Stabinger (Австрия) в соответствии с ОФС.1.2.1.0014.15 Плотность.

Оптическое вращение. Испытание проводили на поляриметре AP-300 фирмы ATAGO CO, LTD (Япония) в соответствии с ОФС.1.2.1.0018.15 Поляриметрия.

Показатель преломления. Испытание проводили на рефрактометре ИРФ-454 Б2М фирмы ОАО «КОМЗ» (Татарстан) в соответствии с ОФС.1.2.1.0017.15 Рефрактометрия.

Кислотное число. Количество миллиграммов калия гидроксида, которое необходимо для нейтрализации свободных кислот, содержащихся в 1 г эфирного масла, определяли в 2 г (точная навеска) масла, растворённого в 5 мл спирта этилового 95%, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину.

Количественное определение. Методом ГХ-МС определяли содержание основных компонентов эфирномасличных композиций: для композиции 1 – эвкалиптола и терпинен-4-ола; для композиции 2 – эвкалиптола, терпинен-4-ола, γ -мууролола, γ -терпинена, β -мирцена; для композиции 3 – эвкалиптола и α -терпинеола.

Статистическая обработка. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «STATISTICA» 12.6 (StatSoft, США). Вариационные ряды проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова, уровень значимости в данном исследовании принимался $p=0,05$. Для всех групп вычисляли среднее значение и стандартную ошибку среднего значения. Для оценки межгрупповых различий применяли t -критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ЭМ, выбранные в качестве компонентов эфирномасличных композиций, были исследованы на антимикробную активность.

Проведение скрининга антимикробной активности ЭМ иссопа сомнительного, тимьяна Маршалла, тимьяна частолистого и тимьяна ползучего позволило получить следующие данные, представленные в таблице 3. Для подтверждения наличия или отсутствия роста микроорганизмов чашки Петри с посевами просматривали в проходящем свете.

Как видно из данных таблицы 3, наиболее выраженную антибактериальную активность проявляли ЭМ иссопа сомнительного, в то время как анализ ЭМ тимьяна Маршалла, тимьяна частолистого и тимьяна ползучего показали более высокую противогрибковую активность. Учитывая полученные данные, нами было принято решение объединить ЭМ исследуемых видов тимьяна (во всех композициях присутствовало ЭМ иссопа сомнительного). Таким образом, нами были получены три различные эфирномасличные композиции: композиция 1 – «иссоп сомнительный+тимьян Маршалла», композиция 2 – «иссоп сомнительный+тимьян частолистый» и композиция 3 – «иссоп сомнительный+тимьян ползучий».

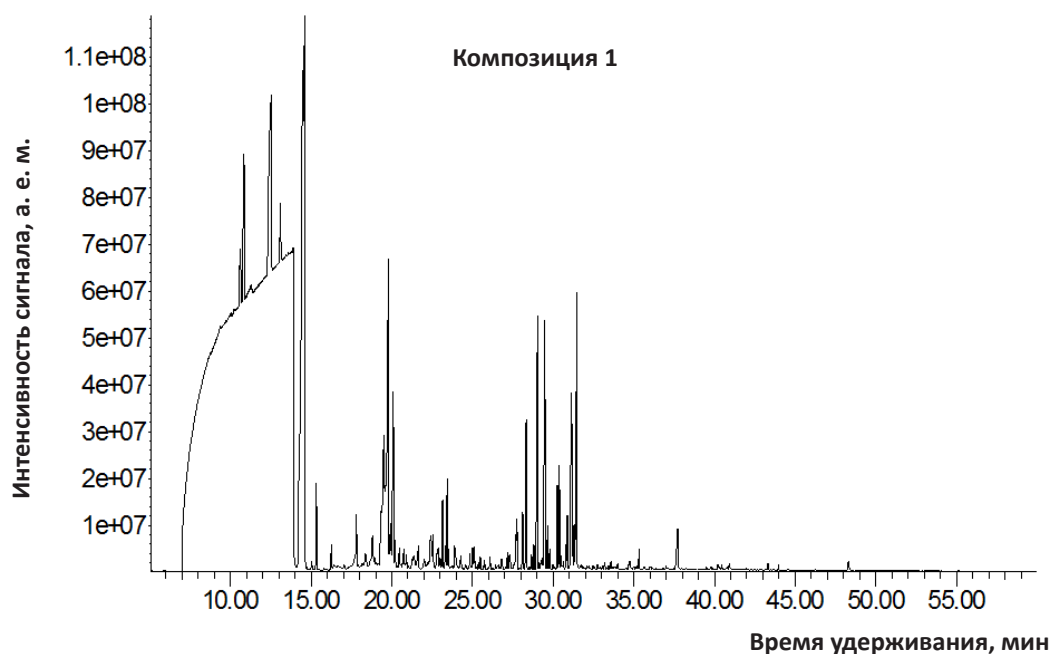


Рисунок 1 – Хроматограмма эфирномасличной композиции 1

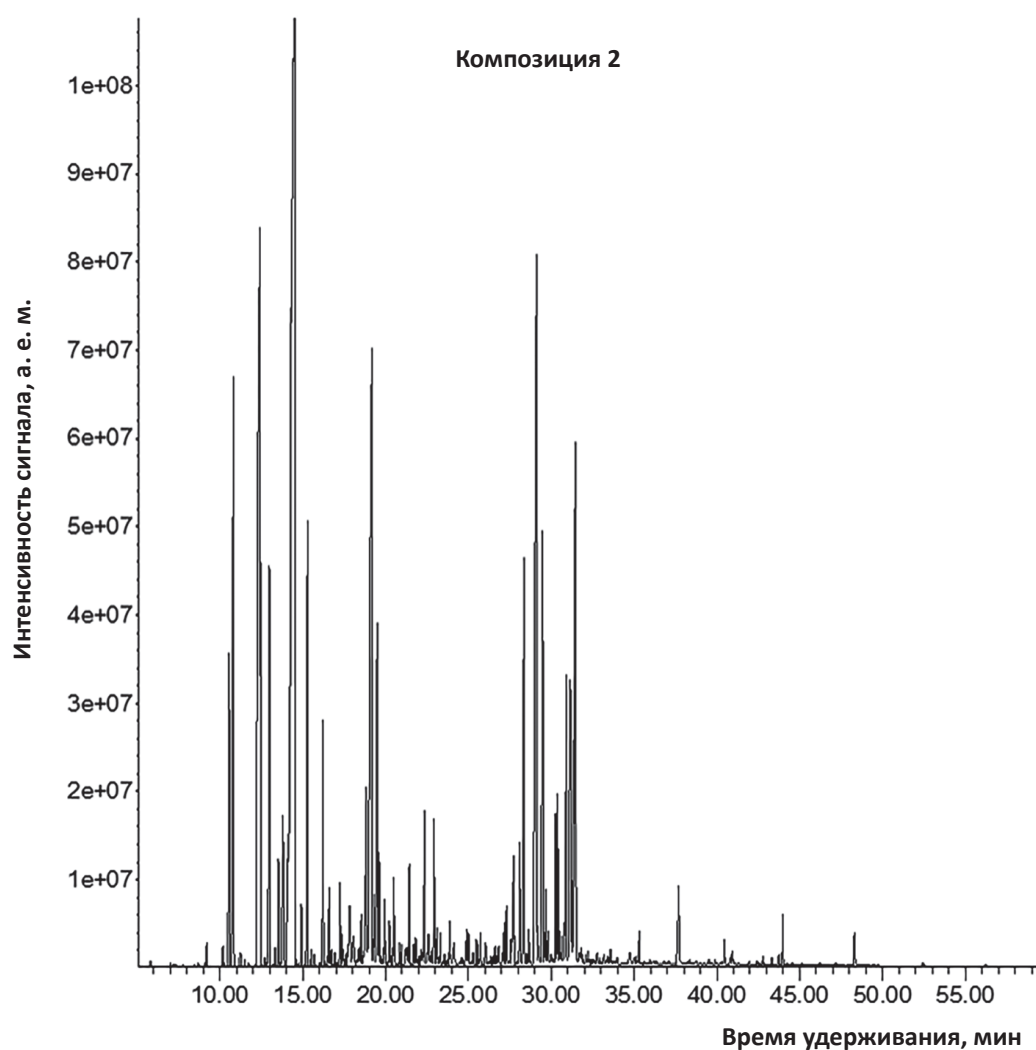


Рисунок 2 – Хроматограмма эфирномасличной композиции 2

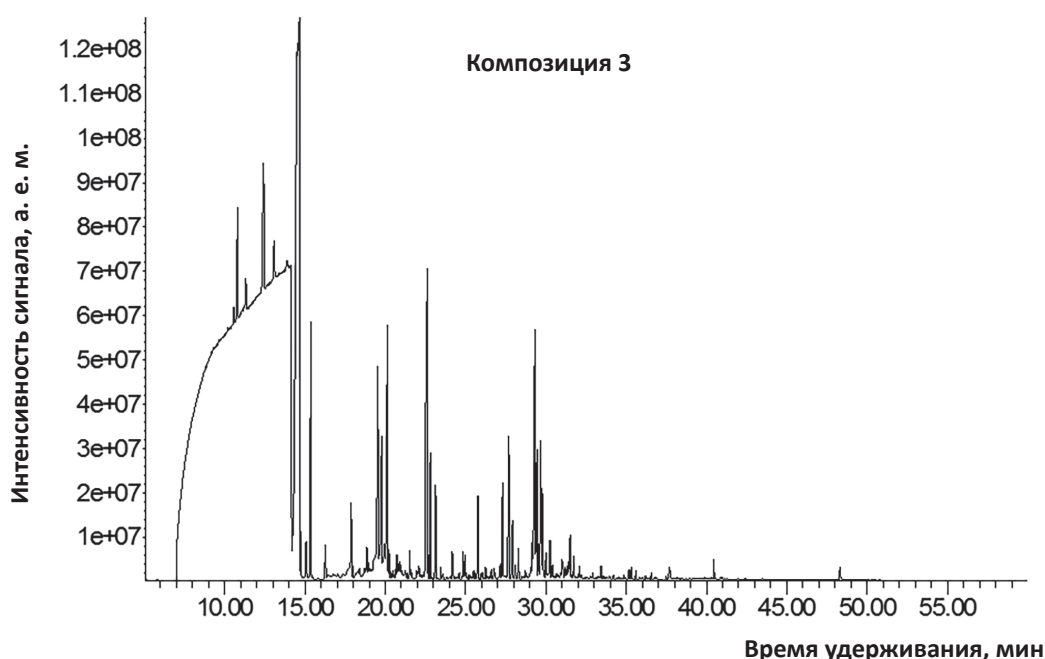


Рисунок 3 – Хроматограмма эфирномасличной композиции 3

Таблица 1 – Характеристика ЛРС, использованного для получения ЭМ

Наименование производящего растения (русс. и лат.)	Место сбора	Географические координаты	Время сбора, фаза развития
Иссоп сомнительный (<i>Hyssopus ambiguus</i> (Trautv.) Iljin)	окрестности н.п. Сортировка, Карагандинская область, РК	49.970554° с.ш. 73.2226789° в.д.	сентябрь 2021 г., фаза цветения
Иссоп сомнительный (<i>Hyssopus ambiguus</i> (Trautv.) Iljin)		49.412951° с.ш., 75.477275° в.д.	август 2021 г., фаза цветения
Тимьян Маршалла (<i>Thymus marschallianus</i> Willd.)	окрестности г. Каркаралинска, Карагандинская область, РК	49.412951° с.ш., 75.477275° в.д.	июнь 2020 г., фаза цветения
Тимьян ползучий (<i>Thymus serpyllum</i> L.)		49.412951° с.ш., 75.477275° в.д.	июнь 2020 г., фаза цветения
Тимьян частolistый (<i>Thymus crebrifolius</i> Klok.)	окрестности гор Улытау, Карагандинская область, РК	48.652828° с.ш., 67.025743° в.д.	май 2021 г., фаза цветения

Примечание: ЛРС – лекарственное растительное сырье, ЭМ – эфирные масла, РК – Республика Казахстан, н.п. – населенный пункт, с.ш. – северная широта, в.д. – восточная долгота.

Таблица 2 – Выход ЭМ в используемых ЛРС

Наименование производящего растения (русс.)	Количество (г) ЛРС для получения 1 мл ЭМ	Выход ЭМ, %
Иссоп сомнительный (Каркаралинск)	65,5	0,40
Иссоп сомнительный (Сортировка)	147	0,60
Тимьян Маршалла (Каркаралинск)	197,5	0,50
Тимьян частolistый (Улытау)	79,5	1,13
Тимьян ползучий (Каркаралинск)	201,0	0,40

Таблица 3 – Антимикробная активность ЭМ, собранных на территории Карагандинской области

Наименование производящего растения (русс.)	Зона задержки роста микроорганизмов, мм			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherihia coli</i> ATCC 25922	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
Иссоп сомнительный (Каркаралинск)	33,0±7,0	33,7±4,9	12,5±2,1	9,7±2,1
Иссоп сомнительный (Сортировка)	39,0±3,0	25,5±2,6	10,0±3,0	7,5±0,6
Тимьян Маршалла (Каркаралинск)	7,8±1,5	9,0±3,0	10,7±5,0	22,7±10,8
Тимьян частолистный (Улытау)	7,0±0,8	8,5±2,1	10,2±3,2	9,8±4,3
Тимьян ползучий (Каркаралинск)	13,3±1,7	14,5±0,7	11,0±2,8	13,0±4,1

Таблица 4 – Основные компоненты эфирномасличной композиции 1

Индекс удерживания	Время удерживания, мин	Компонент	Содержание, %
1022±5 (394)	14,4452	Эвкалиптол	6,51
1164±5 (512)	18,9980	Терпинен-4-ол	1,95
1175±5 (540)	19,4381	α-Терпинеол	0,61
1086±3 (646)	16,5737	Линалоол	0,29
1592±4 (15)	30,3548	β-Оплопенон	0,22
1050±4 (484)	17,2230	γ-Терпинен	0,21
1472±6 (181)	27,1513	γ-Цууролен	0,13
1270±5 (28)	22,2448	ρ-Цимен-7-ол	0,12
1494±5 (178)	27,7718	α-Мууролен	0,12
1376±4 (377)	24,5755	Копаен	0,13
1477±5 (364)	27,2812	Гермакрен D	0,08
1531±5 (59)	28,7747	α-Калакорен	0,06
1382±5 (186)	24,8280	(-)-β-Бурбонен	0,05
1419±5 (656)	25,7227	Кариофиллен	0,04
1372±4 (94)	25,2753	Метилэвгенол	0,02
1451±5 (468)	26,5884	Хумулен	0,02
1447±8 (2)	30,8455	Аромадендрен	0,01

Таблица 5 – Основные компоненты эфирномасличной композиции 2

Индекс удерживания	Время удерживания, мин	Компонент	Содержание, %
1022±5 (394)	14,4452	Эвкалиптол	20,34
1164±5 (512)	18,9980	Терпинен-4-ол	7,03
1632±5 (119)	31,1125	Т-мууролол	2,28
1050±4 (484)	17,2230	γ-Терпинен	2,23
983±3 (580)	12,9299	β-Мирцен	2,09
1592±4 (15)	30,3548	β-Оплопенон	0,70
1586±11 (64)	30,2250	Ледол	0,65
1025±7 (52)	14,0555	о-Цимен	0,63
1494±5 (178)	27,7718	α-Мууролен	0,41
1131±9 (76)	17,9879	транс-Вербенол	0,33
1086±3 (646)	16,5737	Линалоол	0,31
1477±5 (364)	27,2812	Гермакрен D	0,27
1419±5 (656)	25,7227	Кариофиллен	0,22
1164±N/A (1)	18,5146	Пинокарвон	0,33
1472±6 (181)	27,1513	γ-Мууролен	0,16
1104±5 (66)	17,3818	α-Камфоленал	0,14
1460±6 (178)	26,7760	Аллоаромадендрен	0,14
998±4 (356)	13,2979	α-Феландрен	0,12
1241±4 (13)	21,6748	Цитраль	0,12
860±6 (210)	9,1924	ρ-Ксилен	0,10
1270±5 (28)	22,2448	ρ-Цимен-7-ол	0,10
1382±5 (186)	24,8280	(-)-β-Бурбонен	0,10
1222±10 (18)	20,9317	D-Карвон	0,09
1454±6 (7)	27,5626	цис-Муурола-4(15),5-диен	0,08
1372±4 (94)	25,2753	Метилэвгенол	0,07
946±5 (423)	11,2560	Камфен	0,06
1185±7 (2)	19,7194	(-)-транс-Изопиперитенол	0,05
1376±4 (377)	24,5755	Копаен	0,05
1038±3 (356)	14,5678	транс-β-Оцимен	0,04
1531±5 (59)	28,7747	α-Калакорен	0,04
1211±3 (146)	20,4917	Цитронеллол	0,035
1447±8 (2)	30,8455	Аромадендрен	0,03
1089±5 (52)	17,0787	Туйон	0,02

Таблица 6 – Основные компоненты эфирномасличной композиции 3

Индекс удерживания	Время удерживания, мин	Компонент	Содержание, %
1022±5 (394)	14,4452	Эвкалиптол	7,33
1175±5 (540)	19,4381	α-Терпинеол	0,90
1164±5 (512)	18,9980	Терпинен-4-ол	0,54
1086±3 (646)	16,5737	Линалоол	0,35
1477±5 (364)	27,2812	Гермакрен D	0,26
1419±5 (656)	25,7227	Кариофиллен	0,22
1500±5 (196)	27,9160	β-Бисаболен	0,17
1037±4 (15)	14,8997	β-Оцимен	0,15
1038±3 (356)	14,5678	транс-β-Оцимен	0,11
1401±8 (51)	29,7487	Лонгифолен-(V4)	0,09
1577±N/A (1)	30,9898	(-)-Спатуленол	0,07
1335±8 (207)	24,0486	Эвгенол	0,06
1472±6 (181)	27,1513	γ-Муурол	0,06
1632±5 (119)	31,1125	γ-Муурол	0,06
1270±5 (28)	22,2448	ρ-Цимен-7-ол	0,05
1222±10 (18)	20,9317	D-Карвон	0,04
1447±8 (2)	30,8455	Аромадендрен	0,04
1376±4 (377)	24,5755	Копаен	0,03
1460±6 (178)	26,7760	Аллоаромадендрен	0,03
1170±N/A (1)	20,5492	D-Вербенон	0,02
1370±6 (83)	24,4672	Уланген	0,02
1372±4 (94)	25,2753	Метилэвгенол	0,02
1401±8 (51)	29,7487	Лонгифолен	0,01

Таблица 7 – Антимикробная активность композиций эфирных масел

Название композиции/ препарата сравнения	Зона задержки роста микроорганизмов, мм			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
Композиция 1	28,7±2,3	21,7±2,1	9,7±2,3	16,0±10,4
Композиция 2	27,7±4,9	25,0±14,8	9,0±1,0	18,0±10,1
Композиция 3	27,5±0,7	19,5±3,5	9,5±2,1	10,0±1,4
Спрей «Дыши»	7,4±0,9	8,5±3,0	16,25±2,2	7,7±0,6
Бензилпенициллина натриевая соль	26,2±5,2	31,2±8,5	11,0±1,7	–
Ампициллина тригидрат	27,0±2,1	30,2±23,0	18,2±2,8	–
Нистатин	–	–	–	19,8±3,9

Примечание: «–» – зона задержки роста отсутствует.

Таблица 8 – Показатели стандартизации эфирномасличных композиций

Показатель качества	ОФС.1.5.2.0001.15 Эфирные масла	Результаты испытаний		
		Композиция 1	Композиция 2	Композиция 3
Описание	Бесцветные или окрашенные прозрачные подвижные жидкости, чаще желтоватого цвета, с характерным запахом. Легче воды.	Подвижная жидкость с характерным запахом, светло-оранжевого цвета. Легче воды.	Подвижная жидкость с характерным запахом, светло-желтого цвета. Легче воды.	Подвижная жидкость с характерным, светло-оранжевого цвета. Легче воды.
Подлинность	На хроматограмме испытуемых растворов композиций должны присутствовать пики определяемых компонентов эфирных масел.	Относительные времена удерживания пиков на хроматограмме испытуемого раствора соответствовали таковым эвкалиптола и терпинен-4-ола	Относительные времена удерживания пиков на хроматограмме испытуемого раствора соответствовали таковым эвкалиптола, терпинен-4-ола, γ -терпинена и β -мирцена.	Относительные времена удерживания пиков на хроматограмме испытуемого раствора соответствовали таковым эвкалиптола и α -терпинеола.
Растворимость	Мало растворимы, очень мало растворимы или практически нерастворимы в воде; легко растворимы или растворимы в спирте различной концентрации, эфире и других органических растворителях.	Не растворима в воде. Со спиртом этиловым образовывала белый осадок, который исчезал при добавлении 18 мл спирта этилового 70%. При растворении эфирномасличной композиции в гексане образовывались жирные капли на дне, растворялась полностью в хлороформе, при растворении в диметилсульфоксиде – студенистый осадок.	Не растворима в воде. Полностью растворялась в спирте этиловом 70% уже при добавлении 1 мл спирта. При растворении в гексане образовывался мутный раствор, с хлороформом – маслянистый раствор, при растворении в диметилсульфоксиде – белый осадок.	Не растворима в воде. Полностью растворялась в спирте этиловом 70% уже при добавлении 1 мл спирта этилового. При растворении в гексане образовывались жирные капли на дне, с хлороформом – маслянистый раствор; при растворении в диметилсульфоксиде – белый осадок.
Спирт этиловый	Методика 1 – не должно быть помутнения вокруг капель эфирномасличной композиции Методика 2 – не должно быть фиолетово-розового окрашивания ваты.	Не дает помутнения по методике 1 и не дает фиолетово-розового окрашивания по методике 2.		
Жирные и минеральные масла в эфирных маслах	Не должно наблюдаться помутнения раствора и образование жирных капель.	Помутнение не наблюдалось, жирные капли не образовывались.	Помутнение не наблюдалось, жирные капли не образовывались.	Помутнение не наблюдалось, жирные капли не образовывались.
Остаток эфирного масла после выпаривания	Нормы не установлены	1,35%	1,01%	1,60%
Плотность	Нормы не установлены	0,900 г/см ³	0,901 г/см ³	0,910 г/см ³
Оптическое вращение	Нормы не установлены	+0,01°	+0,01°	+0,01°
Показатель преломления	Нормы не установлены	1,3800	1,5400	1,4800
Кислотное число	Не должно превышать 4	1,02	1,03	1,00
Количественное определение	Нормы не установлены	Содержание эвкалиптола – 6,51%; терпинен-4-ола – 1,95%	Содержание эвкалиптола – 20,34%; терпинен-4-ола – 7,03%, γ -терпинена – 2,28%, β -мирцена – 2,23% и β -мирцена – 2,09%.	Содержание эвкалиптола – 7,33%; α -терпинеола – 0,90%.

Важным фактором при составлении эфирномасличных композиций был синергизм ЭМ, входящих в их состав. Масло иссопа сомнительного, обладающее средней летучестью, сочетаемо с ЭМ тимьянов, обладающих высокой летучестью. При разработке композиций нами также было обращено внимание на запах конечной композиции, т.к. ЭМ иссопа сомнительного в чистом виде обладает достаточно резким запахом за счёт высокого содержания эвкалиптола, в то время как ЭМ собранных нами видов тимьянов имело менее резкий запах, что в сумме могло скорректировать конечный запах композиции [24]. Оценка запахов полученных эфирномасличных композиций проводилась субъективно. Все представленные композиции ЭМ представляли собой подвижные жидкости от светло-жёлтого до светло-оранжевого цвета с приятным характерным запахом.

Разработанные композиции были исследованы на антимикробную активность. По результатам исследования были отобраны только те образцы, которые проявили выраженную активность как минимум в отношении одного из исследуемых штаммов микроорганизмов.

После скрининга антимикробной и противогрибковой активности, который позволил сделать выбор в пользу наиболее перспективной композиции, мы исследовали их компонентный состав методом ГХ-МС.

На рисунке 1 представлена хроматограмма композиции 1.

В таблице 4 представлены основные компоненты, обнаруженные в эфирномасличной композиции 1.

Преобладающими компонентами композиции 1 являлся эвкалиптол, терпинен-4-ол и α -терпинеол.

На рисунке 2 представлена хроматограмма эфирномасличной композиции 2.

В композиции 2 обнаружено 137 компонентов, среди которых преобладал эвкалиптол, терпинен-4-ол, γ -мууролол, γ -терпинен и β -мирцен.

В таблице 5 приведены основные компоненты эфирномасличной композиции 2.

На рисунке 3 представлена хроматограмма эфирномасличной композиции 3.

В композиции 3 обнаружено 149 компонентов, среди которых преобладали эвкалиптол и α -терпинеол.

В таблице 6 представлены основные компоненты эфирномасличной композиции 3.

Результаты исследования антимикробной активности разработанных композиций представлены в таблице 7.

Как видно из представленных в таблице данных, разработанные нами композиции ЭМ обладали выраженной антибактериальной и значимой противогрибковой активностью.

Проведённый нами анализ химического состава позволил охарактеризовать доминирующие компоненты:

Эвкалиптол (1,8-цинеол) – монотерпеноид, представляющий собой бесцветную жидкость, не

растворимый в воде. По своему строению является циклическим эфиром. Входит в состав ЭМ ряда растений, например, многих видов эвкалипта. Эвкалиптол проявляет выраженную активность в отношении *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; умеренную активность против *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Эвкалиптол высокоактивен в отношении *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Aspergillus flavus* ATCC 22546. Причем уровень антимикробной активности значительно зависит от того, какие компоненты эфирного масла находятся в синергизме с эвкалиптолом [25, 26].

Терпинен-4-ол⁴ – монотерпеноид, нерастворим в воде. Обладает резким цитрусовым запахом. Терпинен-4-ол обладает выраженными антибактериальными и противогрибковыми свойствами. Исследования источников литературы показали, что терпинен-4-ол индуцирует противоопухолевые эффекты, избирательно вызывая гибель некротических клеток меланомы. Терпинен-4-ол проявляет высокую активность в отношении биопленок, образуемых *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Porphyromonas gingivalis* и *Fusobacterium nucleatum* [26].

γ -Муурол – сесквитерпеноид, практически нерастворимый в воде. Имеет слабый пряный запах и травяной вкус. Проявляет противогрибковую активность в отношении *Trametes versicolor* BCRC 35253, *Gloeophyllum trabeum* BCRC 31614, *Laetiporus sulphureus* BCRC 35305, *Lenzites betulinus* BCRC 35296 [26].

γ -Терпинен – разветвлённый ненасыщенный углеводород, изопреноид. Присутствует во всех эукариотических организмах. Имеет «травяной» запах и горький вкус. Обладает антиоксидантными, противовоспалительными и антипролиферативными свойствами [26].

β -Мирцен – ациклический монотерпен, важный компонент ЭМ ряда растений. Имеет приятный запах и вкус. Обладает аналгетической, противовоспалительной, антибактериальной и антимутагенной активностью [26, 27].

α -Терпинеол – монотерпеновый спирт, имеет запах сирени. Обладает противовоспалительными, противоопухолевыми свойствами. Проявляет активность в отношении штаммов *Serratia liquefaciens*, *Cordulephya divergens*, *Listeria innocua* и *Salmonella Typhimurium*, а также обладает антиоксидантной активностью [26, 28].

В результате проведённого исследования нами определены составы и предложены оптимальные технологические методики для изготовления эфирномасличных композиций из ЛРС, распространённых в РК растений, обладающих антимикробными свойствами. В ходе испытаний полученных композиций было установлено, что разработанные составы соответствуют основным физико-химическим и технологическим требованиям, предъявляемым к ЭМ ГФ РФ XIV изд. Результаты представлены в таблице 8.

⁴ Merck KGaA, Darmstadt. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sigmaaldrich.com/KZ/en/product/aldrich/223190>.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе комплексных исследований получены образцы ЭМ, полученных от ЛРС растений, представителей сем. яснотковые флоры Республики Казахстан, проведён скрининг их антимикробной активности. С учетом химического состава и активности полученных образцов, разработано 3 эфиромасличные композиции, обладающих выраженным антибактериальным и значимым противогрибковым эффектами.

Разработанные нами эфиромасличные композиции имеют ряд особенностей, в частности:

1. Сложный химический состав, включающий изопреноиды растительного происхождения, препятствует развитию резистентности у микроорганизмов и грибов и может являться преимуществом разработанных композиций перед синтетическими аналогами антибактериального и противогрибкового действия.

2. Выявленный нами химический состав эфиромасличных композиций обеспечивает широкий спектр и выраженность антибактериального и противогрибкового действия по сравнению с препаратами сравнения – бензилпенициллина натриевой солью, ампициллина тригидратом, нистатином и эфиромасличной композицией (спреем) «Дыши». Разработанные композиции, как

одновременно обладающие антибактериальной и противомикробной активностью, можно рассматривать в качестве перспективных объектов для создания на их основе новых ЛП, предназначенных для лечения и профилактики заболеваний верхних дыхательных путей. Эфиромасличные композиции могут вводиться способом пассивной ингаляции, что свидетельствует об удобстве применения и безопасности.

3. Разработка и дальнейшее изучение композиций на основе ЭМ из ЛРС растений, произрастающих на территории РК, позволяет развивать локализованное производство качественных и относительно недорогих лечебных и лечебно-профилактических средств, способных эффективно бороться с инфекционными заболеваниями верхних дыхательных путей.

Проведенные микробиологические и технологические исследования доказали, что полученные эфиромасличные композиции соответствовали нормам качества (ГФ РФ XIV изд., ГФ РК) и общепринятым правилам составления композиций ЭМ в ароматерапии. Полученные композиции могут являться как альтернативой, так и дополнением к применяемым в настоящее время антимикробным и противогрибковым препаратам.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность коллективу кафедры биомедицины и лаборатории коллективного пользования НАО «Медицинский университет Караганды» (Республика Казахстан) за предоставленную возможность проведения микробиологических исследований.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.В. Лакомкина – сбор лекарственного растительного сырья, наработка эфирных масел, скрининг эфирных масел на антимикробную активность, составление эфиромасличных композиций и их последующий скрининг на антимикробную активность, проведение ГХ-МС полученных композиций, разработка концепции статьи, написание статьи, сбор литературных источников, Г.А. Атажанова – руководство работой над технологической частью исследования, утверждение текста публикации, утверждение окончательного варианта публикации; С.Б. Ахметова – руководство работой над микробиологической частью исследования, утверждение текста публикации, утверждение окончательного варианта публикации; И.Н. Зилфикаров – консультирование, редактирование и утверждение текста публикации, утверждение окончательного варианта публикации.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Powers C.N., Osier J.L., McFeeters R.L., Brazell C.B., Olsen E.L., Moriarty D.M., Satyal P., Setzer W.N. Antifungal and Cytotoxic Activities of Sixty Commercially-Available Essential Oils // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23, No. 7. – Art. ID: 1549. DOI: 10.3390/molecules23071549
2. Man A., Santacroce L., Jacob R., Mare A., Man L. Antimicrobial Activity of Six Essential Oils Against a Group

of Human Pathogens: A Comparative Study // *Pathogens*. – 2019. – Vol. 8, No. 1. – Art. ID: 15. DOI: 10.3390/pathogens8010015

3. Valdivieso-Ugarte M., Gomez-Llorente C., Plaza-Díaz J., Gil Á. Antimicrobial, Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic Review // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11, No. 11. – Art. ID: 2786. DOI: 10.3390/nu11112786

4. de Matos S.P., Teixeira H.F., de Lima Á.A.N., Veiga-Junior V.F., Koester L.S. Essential Oils and Isolated Terpenes in Nanosystems Designed for Topical Administration: A Review // *Biomolecules*. – 2019. – Vol. 9, No. 4. – Art. ID: 138. DOI: 10.3390/biom9040138
5. Wińska K., Mączka W., Łyczko J., Grabarczyk M., Czubaszek A., Szumny A. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, No. 11. – Art. ID: 2130. DOI: 10.3390/molecules24112130
6. Заславская А.А., Дмитрук В.И., Злобинец А.С. Использование ароматерапии для лечения и профилактики острых респираторных заболеваний у детей // *Актуальная инфектология*. 2017;5:101-11. DOI: 10.22141/2312-413x.5.2.2017.105323
7. Лыков И.Н. Исследование противогрибковой активности действия эфирных масел // *Тенденции развития науки и образования*. – 2019. – № 51-6. – С. 17–20. DOI: 10.18411/lj-06-2019-126
8. Соковина С.В., Танчева А.А., Ильина А.А. Антимикотическая активность эфирных масел // *Вестник науки и образования*. – 2017. – № 11 (35). – С. 109–111.
9. Годовалов А.П., Быкова Л.П. Антимикробная активность производных некоторых растений // *Современные научные исследования и разработки*. – 2017. – Т. 2, № 1. – С. 58–61.
10. Butnariu M., Sarac I. Essential Oils from Plants // *Journal of Biotechnology and Biomedical Science*. – 2018. – Vol. 1, No. 4. – P. 35-43. DOI: 10.14302/issn.2576-6694.jbbs-18-2489
11. Pandey A.K., Kumar P., Singh P., Tripathi N.N., Bajpai V.K. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives // *Front Microbiol*. – 2017. – Vol. 7. – Art. ID: 2161. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02161
12. Gedikoğlu A., Sökmen M., Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties // *Food Sci Nutr*. – 2019. – Vol. 7, No. 5. – P. 1704–1714. DOI: 10.1002/fsn3.1007
13. Puškárová A., Bučková M., Kraková L., Pangallo D., Kozics K. The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7, No. 1. – Art. ID: 8211. DOI: 10.1038/s41598-017-08673-9
14. Крюков В.С., Глебова И.В. Антибактериальное действие эфирных масел растений (обзор) // *Проблемы биологии продуктивных животных*. – 2017. – № 3. – С. 5–25.
15. Кашлей Т.А., Сеньковец Т.А. Антибактериальные свойства эфирных масел и перспективы их применения // *Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси: материалы XIII международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 5 апреля 2019 г.: в 3-х ч. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: К.К. Шебеко [и др.]*. – Пинск: ПолесГУ, 2019. – Ч. 3. – С. 42–44.
16. Бадеева К.Ж., Ахметова С.Б. Антимикробная активность эфирных масел растений, произрастающих в Казахстане // *Фармация Казахстана*. – 2020. – № 1(222). – С. 15–18.
17. Булгакова В.А. Композиция натуральных эфирных масел: место в профилактике и комплексной терапии острых респираторных заболеваний у детей // *Фарматека*. – 2016. – № 4. – С. 14–20.
18. Старостина Л.С. Уменьшение лекарственной нагрузки на детский организм: опыт использования эфирных масел для профилактики и лечения острых респираторных инфекций // *РМЖ*. – 2018. – Т. 9. – С. 13–17.
19. Пискунова А.С., Кирилина С.А. Эффективное применение эфирных масел для лечения и профилактики острых респираторных инфекций у часто болеющих детей // *Практика педиатра*. – 2019. – № 1. – С. 30–34.
20. Маланичева Т.Г., Зиятдинова Н.В., Гатауллина Г.С. Современные тренды реабилитации детей с рекуррентными респираторными заболеваниями // *Практика педиатра*. – 2022. – № 4. – С. 54–58.
21. Радциг Е.Ю., Константинов Д.И. Роль биопленок в развитии и хронизации ЛОР-патологии и способы воздействия на них // *Вопросы практической педиатрии*. – 2021. – Т. 16, № 4. – С. 166–171. DOI: 10.20953/1817-7646-2021-4-166-171
22. Паштецкий В.С., Невкрытая Н.В. Использование эфирных масел в медицине, ароматерапии, ветеринарии и растениеводстве (обзор) // *Таврический вестник аграрной науки*. – 2018. – № 1(13). – С. 16–38. DOI: 10.25637/TVAN2018.01.02
23. Lakomkina Y.V., Ishmuratova M.Y., Atazhanova G.A. Morphometric Study of *Hyssopus ambiguus* Growing in the Territory of Central Kazakhstan // *OnLine Journal of Biological Sciences*. – 2022. – Vol. 22, No. 1. – P. 112–117. DOI: 10.3844/ojbsci.2022.112.117
24. Mączka W., Duda-Madej A., Górny A., Grabarczyk M., Wińska K. Can Eucalyptol Replace Antibiotics? // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, No. 16. – Art. ID: 4933. DOI: 10.3390/molecules26164933
25. Cai Z.M., Peng J.Q., Chen Y., Tao L., Zhang Y.Y., Fu L.Y., Long Q.D., Shen X.C. 1,8-Cineole: a review of source, biological activities, and application // *J Asian Nat Prod Res*. – 2021. – Vol. 23, No. 10. – P. 938–954. DOI: 10.1080/10286020.2020.1839432
26. Cheng F., Mo Y., Chen K., Shang X., Yang Z., Hao B., Shang R., Liang J., Liu Y. Integration of metabolomics and transcriptomics indicates changes in MRSA exposed to terpinen-4-ol // *BMC Microbiol*. – 2021. – Vol. 21, No. 1. – Art. ID: 305. DOI: 10.1186/s12866-021-02348-2
27. Surendran S., Qassadi F., Surendran G., Lilley D., Heinrich M. Myrcene-What Are the Potential Health Benefits of This Flavououring and Aroma Agent? // *Front Nutr*. – 2021. – Vol. 8. – Art. ID: 699666. DOI: 10.3389/fnut.2021.699666
28. Jafri H., Ansari F.A., Ahmad I. Chapter 9 – Prospects of Essential Oils in Controlling Pathogenic Biofilm. In: Khan MSA, Ahmad I, Chattopadhyay D, editors. – *New Look to Phytomedicine*, Academic Press. – Vol. 2019. – P. 203–236. DOI: 10.1016/B978-0-12-814619-4.00009-4

АВТОРЫ

Лакомкина Екатерина Викторовна – докторант НАО «Медицинский университет Караганды». ORCID ID: 0000-0001-9559-788X. E-mail: yankovskaya@qmu.kz

Атажанова Гаяне Абдулхакимовна – доктор химических наук, профессор кафедры фармацевтических дисциплин и химии НАО «Медицинский университет Караганды». ORCID ID: 0000-0003-1615-9967. E-mail: g-atazhanova@mail.ru

Ахметова Сауле Балтабаевна – кандидат медицинских наук, профессор кафедры

биомедицины НАО «Медицинский университет Караганды». ORCID ID: 0000-0002-8112-742X. E-mail: S.Ahmetova@qmu.kz

Зилфикаров Ифрат Назимович – доктор фармацевтических наук, профессор РАН, начальник лаборатории ОКЗ ЗАО «ВИФИТЕХ», главный научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ ВИЛАР; ведущий научный сотрудник кафедры фармации ФГБОУ ВО МГТУ. ORCID ID: 0000-0002-8638-9963. E-mail: dagfarm@mail.ru

УДК 615.322:547.972+543.544



Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой

О.А. Белова, В.А. Куркин, М.В. Егоров

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Получена 15.05.2022

После рецензирования 10.01.2023

Принята к печати 20.02.2023

Трава солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) является перспективным растительным сырьём, которое может быть комплексно использовано для разработки лекарственных препаратов с противовоспалительным действием.

Цель. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой.

Материал и методы. Объектами исследования являлись 5 образцов травы солодки голой, заготовленных в летний период времени в различных местах произрастания и культивирования. В качестве стандартного образца использовали пинострбин. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) методом дифференциальной спектрофотометрии. В качестве растворителя использовали спирт этиловый 96%.

Результаты. Количественное определение суммы флавоноидов в траве солодки голой проводили при аналитической длине волны 310 нм в пересчёте на пиноцетмбрин. Установлены оптимальные параметры экстрагирования суммы флавоноидов из травы солодки голой: экстрагент – спирт этиловый 90%; соотношение «сырьё-экстрагент» – 1:50; время экстракции – 60 мин; степень измельчения сырья – 2 мм. Определено содержание суммы флавоноидов для травы солодки голой, которое варьирует от $0,39 \pm 0,002$ до $3,41 \pm 0,015\%$ с учётом влажности растительного сырья от $9,97 \pm 0,003$ до $10,03 \pm 0,003\%$ в зависимости от места произрастания, культивирования и года сбора растительного сырья. Погрешность единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляла $\pm 0,73$.

Заключение. Разработанная методика количественного определения флавоноидов в траве солодки голой может быть использована для решения вопросов стандартизации указанного лекарственного растительного сырья.

Ключевые слова: солодка голая; *Glycyrrhiza glabra* L.; трава; флавоноиды; пиноцетмбрин; стандартизация; спектрофотометрия

Список сокращений: ЛП – лекарственный препарат; СО – стандартный образец; ФС – фармакопейная статья; БАВ – биологически активные вещества; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.

Quantitative determination of total flavonoids in *Glycyrrhiza Glabra* L. herbs

O.A. Belova, V.A. Kurkin, M.V. Egorov

Samara State Medical University,
89, Chapaevskaya Str., Samara, Russia, 443099

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Received 15 May 2022

After peer review 10 Jan 2023

Accepted 20 Feb 2023

Licorice herb (*Glycyrrhiza glabra* L.) is a promising herbal raw material, which can be comprehensively used to develop drugs with an anti-inflammatory action.

The aim of the article was to development a quantitative determination method of total flavonoids in *Glycyrrhiza glabra* L. herbs.

Для цитирования: О.А. Белова, В.А. Куркин, М.В. Егоров. Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):127-136. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-127-136

© О.А. Белова, В.А. Куркин, М.В. Егоров, 2023

For citation: O.A. Belova, V.A. Kurkin, M.V. Egorov. Quantitative determination of total flavonoids in *Glycyrrhiza Glabra* L. herbs. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):127-136. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-127-136

Materials and methods. The subjects of research were 5 samples of licorice herb harvested in summer in various places of growing and cultivation. Pinostrobin was used as a standard sample. The registration of the electronic spectra was carried out with a spectrophotometer (Analytik Jena AG, Germany) by differential spectrophotometry, 96% ethanol was used as a solvent.

Results. The methods for quantitative determination of total flavonoids in *Glycyrrhiza glabra* L. was carried out at an analytical wavelength of 310 nm equivalent to pinocembrin. The optimum parameters for the extraction of total flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* L. were as follows: the extractant – 90% ethanol; the «raw material-extractant» ratio was 1:50; the extraction time was 60 min; the degree of atomization was 2 mm. The content of total flavonoids for the *Glycyrrhiza glabra* L. herb has been determined, it varies from 0.39 ± 0.002 to $3.41 \pm 0.015\%$ with the humidity of the vegetative raw material from 9.97 ± 0.003 to $10.03 \pm 0.003\%$ depending on the place of the vegetation, cultivation and year of the raw material collection. The error of the single determination with a 95% confidence level was $\pm 0.73\%$.

Conclusion. The developed methods for the quantitative determination of total flavonoids in *Glycyrrhiza glabra* L. herbs can be used to solve the issues of standardization of these medicinal plant raw materials.

Keywords: licorice; *Glycyrrhiza glabra* L.; herb; flavonoids; pinocembrin; standardization; spectrophotometry

Abbreviations: SS – standard sample; PhM – pharmacopoeial monograph; GPhM – general pharmacopoeial monograph; BAC – biological active compounds; HPLC – High Performance Liquid Chromatography.

ВВЕДЕНИЕ

Солодка голая (*Glycyrrhiza glabra* L., сем. *Fabaceae*) – одно из самых исследованных и хорошо изученных растений во всем мире. Растение многолетнее травянистое, с прямостоячими и маловетвистыми стеблями, достигающее в высоту 50–100 см (в исключительных случаях до 200 см). Подземные органы хорошо развиты, корни проникают в почву на глубину до 6–8 м, образуя мощную сеть, что способствует поддержанию популяции солодки. Листья растения очередные, сложные, непарноперистые. Цветки собраны в рыхлые кистевидные соцветия на длинных цветоносах. Растение распространено во многих регионах несмотря на то, что оно относится к средиземноморскому виду. В долинах крупных рек Средней Азии, Узбекистана и Казахстана солодка голая образует заросли^{1,2}.

Корни данного растения широко используются в официальной медицине. На основе выделенных биологически активных веществ (БАВ) из корней разработаны многие комбинированные лекарственные препараты (ЛП). Также в ходе проведенных исследований группой учёных Самарского государственного медицинского университета и Всероссийского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) разработан государственный стандартный образец (СО) глицирама (ФС-42-0034-00). При этом уточнена его химическая структура, а также изучены физико-химические свойства глицирризиновой кислоты [1–4].

Корни солодки являются ценным фармакопейным сырьем, которое широко используется для производства ЛП с отхаркивающим эффектом и противовоспалительной активностью.

Данное сырьё пользуется особой популярностью не только в России, но и за рубежом [5–7]. За последние десятилетия ученые обратили внимание на различные виды рода *Glycyrrhiza* L. как на перспективные источники БАВ, используемых для создания фитопрепаратов. Одним из перспективных источников наряду с корнями солодки представляет интерес и надземная часть, а именно трава солодки голой [8, 9].

По литературным данным известно, что надземная часть солодки содержит флавоноиды, полисахариды, дубильные вещества, тритерпеноиды, витамины и др. Известно, что флавоноидный состав травы солодки голой представлен пиноцембрином, глабранином, прунетином, астрагалином и витексином [9]. Следует сделать вывод, что надземная часть солодки голой богата высоким содержанием БАВ, среди которых флавоноиды представляют наибольший интерес с точки зрения создания лекарственных препаратов.

В траве данного растения преобладают флаваноны. Доминирующим среди них является пиноцембрин (5,7-дигидроксифлаванон), эффективность которого доказана в доклинической практике. С помощью исследований *in vitro* и *in vivo* доказано, что пиноцембрин улучшал региональный мозговой кровоток беспородных крыс и уменьшал постишемическое повреждение нейроваскулярного блока. Из этого следует, что пиноцембрин обладает нейропротекторной активностью [10–14], а также обладает мощным антифибротическим эффектом, который объясняет его антиоксидантные свойства. Пиноцембрин облегчал вызванный блеомицином фиброз кожи и экспрессию белка, связанного с фиброзом, в келоидных тканях у ксенотрансплантов мышей [15, 16].

Пиноцембрин оказывал защитное действие против гентамицин-индуцированной нефротоксичности, что может быть частично связано с его антиоксидантными и антиапоптотическими

¹ Буданцев А.Л. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том 3: *Fabaceae* – *Ariaceae* / А.Л. Буданцев. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2009. – 599 с.

² Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2014. – 635 с.

эффектами, впоследствии приводящими к улучшению функции почек [17]. Данный флаванон проявил ярко выраженную активность в отношении грамположительных бактерий, а его метиловый эфир пиностробин (5-гидрокси-7-метоксифлаванон) менее выраженную в отношении *Escherichia coli* за счёт своего химического строения, определяющего липофильные свойства вещества и его сродство с липидной мембраной грамотрицательных бактерий [18–20]. В исследовании *in vitro* пиноцембрин показал фотопротекторную эффективность [20, 21] и ингибировал аллергическое воспаление дыхательных путей [22].

В одном из исследований пиноцембрин проявил более выраженную противовоспалительную активность, чем неселективный ингибитор циклооксигеназы – индометацин. При этом противовоспалительными ЛП сравнения являлись амидопирин, гидрокортизон и индометацин. Формалин-индуцированное воспаление у мышей уменьшалось в дозе пиноцембрина 25 мг/кг на 40,3%, а в дозе 50 мг/кг – на 43,4%. При метилировании и этилировании пиноцембрина в положении C₈ с образованием его производных приводило к снижению противовоспалительной активности [23].

С учётом вышесказанного, широкий диапазон терапевтического применения травы солодки голой представляется целесообразным с позиции комплексной переработки сырья для изучения свойств водно-спиртовых извлечений и препаратов на основе травы данного растения. Это позволит расширить спектр представлений о фармакологической активности флавоноидов и субстанций надземной части *G. glabra*, а также оценить возможность использования данного объекта при создании отечественных препаратов.

На основе суммы флавоноидов из надземной части солодки голой зарубежными учёными было разработано лекарственное средство «Глацембрин», обладающее противовоспалительным и обезболивающим действием [24]. Препарат «Глацембрин» прошел ряд клинических исследований, по показателям: острая токсичность, противовоспалительная активность. Результаты показали, что «Глацембрин» не отличается от аналогичного показателя пиноцембрина, а противовоспалительная активность лекарственного средства оказалась выше, чем в случае с пиноцембрином. Кроме того, препарат обладает болеутоляющим действием при испытании его на модели укусных корчей у мышей [23].

Все упомянутое выше открыло новые возможности использования травы солодки в фармацевтической промышленности в качестве сырья для изготовления стандартизированных препаратов, обладающих противовоспалительным и другими эффектами. В целом литературный

анализ показал недостаточную степень изученности и проработанности вопросов стандартизации травы солодки голой. Следует обратить внимание на разработанную методику определения суммы флавоноидов в надземной части солодки голой методом прямой спектрофотометрии в пересчёте на пиноцембрин, предложенную узбекскими учёными [25]. По нашему мнению, данная методика может давать завышенные результаты определения, т.к. при аналитической длине волны 290 нм вклад в оптическую плотность вносят и другие фенольные соединения. Кроме того, из-за многократной экстракции (3 раза) сырья, которая не всегда может быть оправдана, поскольку при данных условиях может возрасти ошибка методики анализа.

В этой связи актуальным является исследование в плане совершенствования методики количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой.

ЦЕЛЬ. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали траву солодки голой *Glycyrrhiza glabra* L., образцы которой были заготовлены: № 1 – Самарская область (Кинельский район, п. Алексеевка), август 2021 г.; № 2 – г. Самара, Ботанический сад Самарского государственного медицинского университета, август 2021 г.; № 3 – Оренбургская область, (Сакмарский район, с. Татарская Каргала), июль 2017 г.; № 4 – Республика Казахстан, г. Державинск, июнь 2018 г.; № 5 – Самарская область (Большечерниговский район, с. Большая Черниговка), август 2019 г. Влажность растительного сырья определяли в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV изд.) ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»³.

В работе использовали метод спектрофотометрии, проведённой в соответствии с ГФ РФ XIV изд., ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений оценивали на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм. В качестве растворителя использовали спирт этиловый 96%.

В качестве СО использовали раствор пиностробина, приготовленный на спирте этиловом

³ Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. 1–4. Министерство здравоохранения РФ. М., 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

96% (Рис. 1). СО пиностробина соответствовал требованиям фармакопейной статьи (ФС 42-0073-01) и был предоставлен научно-образовательному центру «Фармация» Самарского государственного медицинского университета для определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) степени чистоты, которая составила не менее 98,0%. Водно-спиртовые извлечения готовились с использованием спирта этилового 96% (марка х.ч. ООО «Гиппократ», Россия). Необходимые концентрации спирта (50, 60, 70, 80, 90%) были получены путём разведения спирта этилового 96% по таблице № 5 приложения к ГФ РФ XIV изд.

Приготовление рабочих растворов для анализа методом УФ-спектрофотометрии

Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в коническую термостойкую колбу Эрленмейера со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 90%. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на лабораторных весах марки «Сарто ГОСМ» (Россия) с точностью до $\pm 0,001$. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем её охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначального объёма. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр (красная полоса).

Для приготовления СО пиностробина для УФ-спектрофотометрии взвешивали около 0,02 г (точная навеска) вещества, помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 30 мл спирта этилового 96% при нагревании на водяной бане. Использование спирта этилового 96% позволяло обеспечить наилучшее растворение СО пиностробина. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры, его объём доводили спиртом этиловым 96% до метки (раствор А СО пиностробина). Затем 1 мл раствора А СО пиностробина помещали в мерную колбу на 25 мл, прибавляли 2 мл спиртового раствора алюминия (III) хлорида 3% и доводили объём раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытываемый раствор Б СО пиностробина).

Раствор сравнения готовили следующим образом: 1 мл раствора А пиностробина помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили объём раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б пиностробина). Измеряли оптическую плотность испытуемого раствора Б пиностробина на спектрофотометре при длине волны 310 нм на фоне раствора сравнения Б СО пиностробина.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в водно-спиртовом извлечении травы солодки голой

Около 1 мл полученного извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 2 мл 3% спиртового раствора алюминия (III) хлорида и доводили объём раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытываемый раствор А), перемешивали и оставляли на 40 мин для образования комплекса флавоноидов с алюминием. В качестве раствора сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения (1:50) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объём раствора спиртом этиловым 96% до метки (раствор сравнения А). Затем измеряли оптическую плотность испытуемого раствора А на спектрофотометре при длине волны 310 нм на фоне раствора сравнения А.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на пиноцетбрин и абсолютно сухое сырьё в процентах (X, %) вычисляли по формуле:

$$x = \frac{D * m_0 * 50 * 50 * 1,05 * 100}{D_0 * m * 50 * 25 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность испытуемого раствора Б СО пиностробина; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО пиноцетбрина, г; W – потеря в массе при высушивании, %; 1,05 – коэффициент пересчёта.

В случае отсутствия СО пиностробина целесообразно использовать рассчитанное значение удельного показателя поглощения при 310 нм – 680.

$$x = \frac{D * 50 * 25 * 100}{m * 680 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 680 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) СО пиноцетбрина при 310 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

Валидация аналитической методики

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, прецизионность (уровень повторяемости), внутрилабораторная прецизионность, правильность в соответствии с ГФ РФ XIV издания. При выполнении расчётов использовалось программное обеспечение Microsoft Excel 2013.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе выполнения эксперимента были получены водно-спиртовые извлечения из травы солодки голой и изучены их УФ-спектры. В траве данного растения преобладают флаваноны, среди которых доминирующим флавоноидом является пиноцетбрин (Рис. 1), имеющий максимум поглощения при длине 290 $\pm$ 2 нм (Рис. 2).

На наш взгляд, именно пиноцембрин в основном определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из травы солодки голой (Рис. 3). Этот вывод соответствует литературным данным [7]. Так как пиноцембрин в Российской Федерации как СО не зарегистрирован, нами была изучена возможность использования в качестве СО пиностробина (ФС 42-0073-01), близкого по химическому строению пиноцембрину. Определено, что пиноцембрин и пиностробин имеют максимум поглощения при длине волны 290 нм (прямая спектрофотометрия) (Рис. 2 и 4). Принимая во внимание то обстоятельство, что в случае содержания суммы флавоноидов методом прямой спектрофотометрии, имеет место завышение результатов эксперимента, нами была изучена возможность использования дифференциальной спектрофотометрии, используя в качестве комплексообразующего реагента алюминия (III) хлорид.

Установлено, что при добавлении алюминия (III) хлорида к испытуемому раствору и растворам пиноцембрин и пиностробина наблюдается bathochromный сдвиг в длинноволновом спектре поглощения (Рис. 2–4). При этом определено, что дифференциальная спектрофотометрия по коротковолновому максимуму поглощения растворов пиностробина и пиноцембрин находятся при длине волны 310 нм (Рис. 5 и 6), тогда как в длинноволновой области спектра максимумы поглощения у них не совпадают, что позволяет нам рекомендовать в качестве аналитической длину волны 310 нм. При использовании СО пиностробина нами осуществлялся пересчёт содержания суммы флавоноидов на пиноцембрин путём введения в формулу расчёта коэффициента.

В случае отсутствия СО пиностробина использовали теоретическое значение удельного поглощения пиностробина, определённого нами экспериментально.

Было установлено, что наиболее полное извлечение флавоноидов из травы солодки голой достигается при экстракции спиртом этиловым 90%. Следующим этапом было проведение эксперимента по определению оптимального соотношения «сырьё-экстрагент» (1:50). Затем были установлены

временные параметры экстракции, в течение которых происходило максимальное извлечение флавоноидов из сырья – 60 мин. Заключительным этапом являлось определение степени измельчения сырья (2 мм), способствующее полному извлечению флавоноидов экстрагентом (табл. 1).

Специфичность методики определяли по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов травы солодки голой и раствора СО пиностробина с алюминия (III) хлоридом и дифференциального пика СО пиностробина.

Линейность методики определяли для серии растворов пиностробина с концентрациями в диапазоне от 0,016 до 0,16 мг/мл (0,016; 0,032; 0,08; 0,16). На основании полученных данных строили график зависимости значений оптической плотности растворов пиностробина с алюминия (III) хлоридом от концентрации пиностробина и затем рассчитывали уравнение линейной регрессии (Рис. 8).

При изучении линейной зависимости вида $y = bx + a$, коэффициент корреляции составил 0,9981, следовательно, СО пиностробина может быть использован для анализа суммы флавоноидов в траве солодки голой в указанном диапазоне концентраций (Рис. 8).

Прецизионность (уровень повторяемости) оценивали путём анализа исследуемого образца растительного сырья в 11-кратной повторности. Ошибка единичного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой с доверительной вероятностью 95% составила $\pm 0,73\%$ (табл. 2).

Для оценки внутрилабораторной прецизионности анализ испытуемого образца производил другой аналитик в другие дни с использованием того же оборудования (табл. 3). Для каждого образца проводились исследования в количестве 6 повторностей. Из таблицы 3 видно, что расчётное значение F-критерия Фишера 1,06 меньше табличной величины 5,05. Следовательно, дисперсии результатов анализа обоих химиков статистически эквивалентны и различия между полученными значениями не значимы. Таким образом, разработанная методика соответствует требованиям валидации по показателю внутрилабораторная прецизионность.

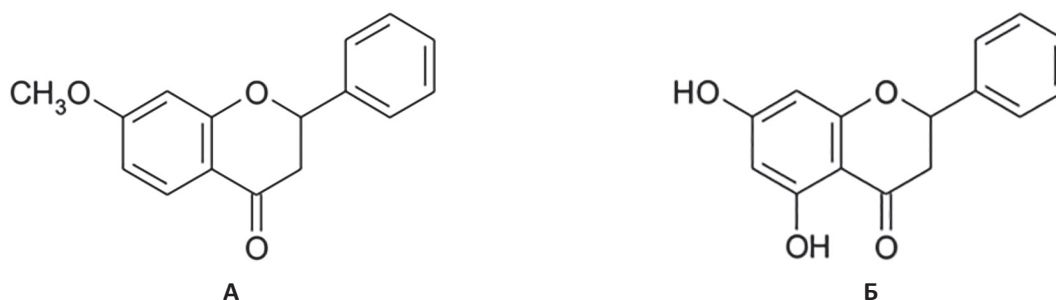


Рисунок 1 – Структурные формулы пиностробина (А) и пиноцембрин (Б)

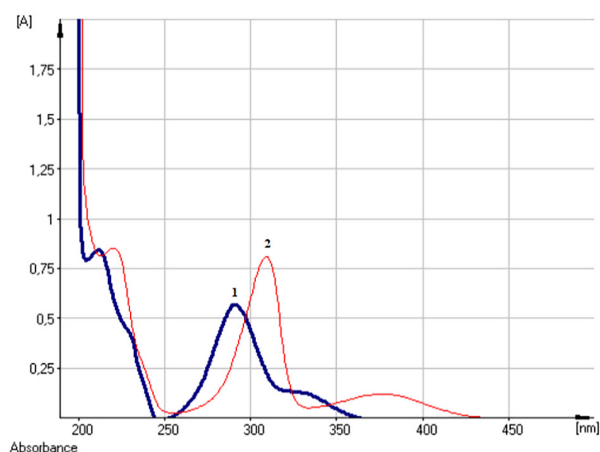


Рисунок 2 – Электронные спектры раствора пиноцембрина

Примечания: 1 – раствор пиноцембрина (прямая спектрофотометрия), 2 – раствор пиноцембрина с добавлением алюминия (III) хлорида

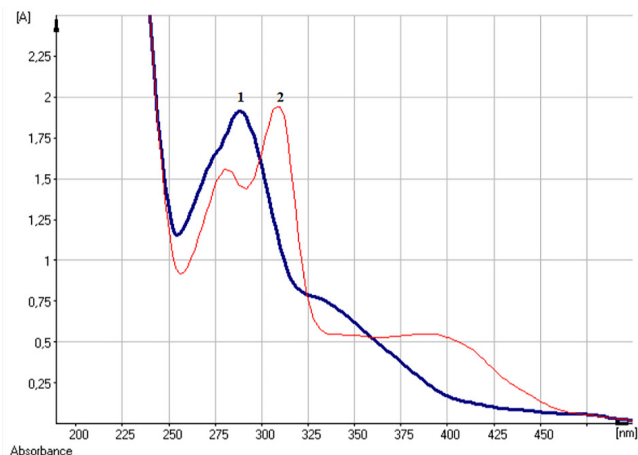


Рисунок 3 – Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы солодки голой

Примечания: 1 – раствор извлечения (прямая спектрофотометрия), 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия (III) хлорида

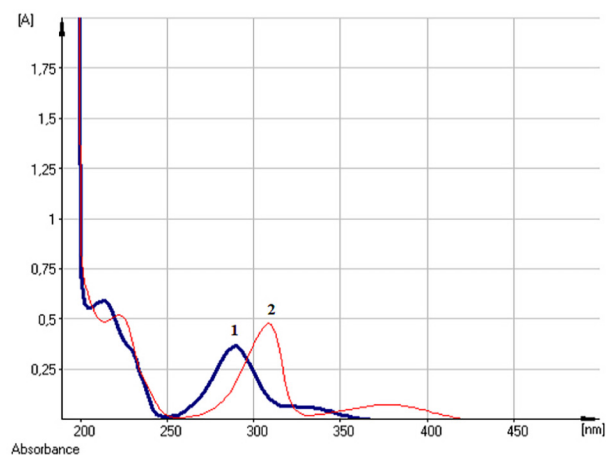


Рисунок 4 – Электронные спектры раствора пиностробина

Примечания: 1 – раствор пиностробина (прямая спектрофотометрия), 2 – раствор пиностробина с добавлением алюминия (III) хлорида

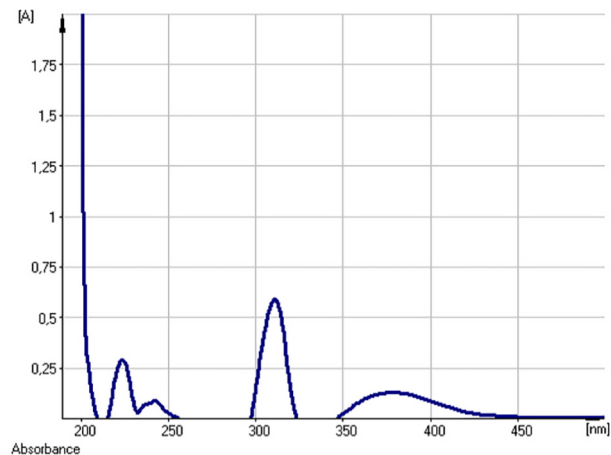


Рисунок 5 – Электронный спектр раствора пиноцембрина (дифференциальный спектр)

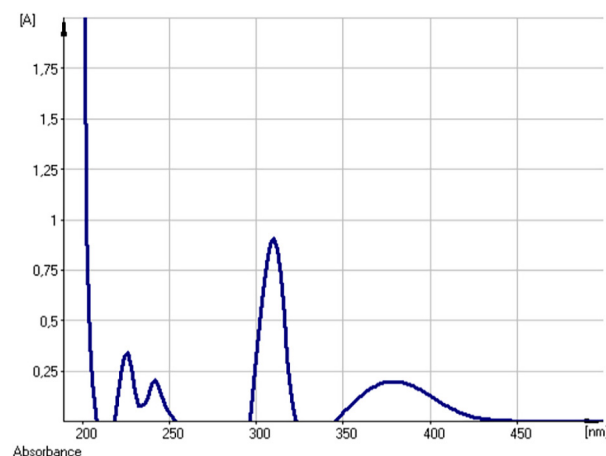


Рисунок 6 – Электронный спектр раствора пиностробина (дифференциальный спектр)

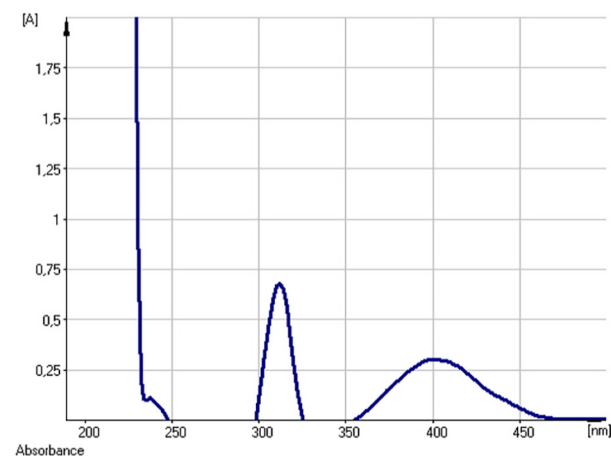


Рисунок 7 – Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы солодки голой (дифференциальный спектр)

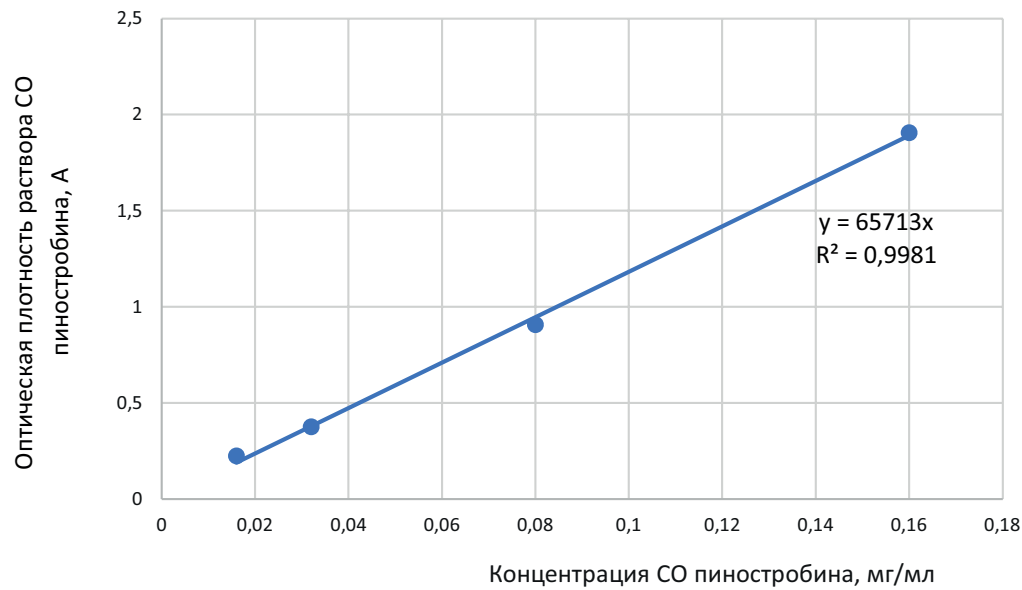


Рисунок 8 – Зависимость значений оптической плотности раствора пиностробина с алюминия (III) хлоридом от концентрации пиностробина (дифференциальный вариант)

Таблица 1 – Оптимальные показатели экстрагирования суммы флавоноидов из травы солодки голой при длине волны 310 нм

Концентрация спирта этилового, %	Соотношение сырье-экстрагент	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на пиноцембрин и абсолютно сухое сырье, %
I. Экстрагент				
50	1:50	60	2	1,50±0,006
60				1,19±0,005
70				1,21±0,031
80				1,86±0,005
90				2,28±0,001
96				1,59±0,007
II. Время экстракции				
90	1:50	30	2	2,02±0,008
		45		2,31±0,001
		60		2,76±0,012
		120		2,39±0,010
III. Степень измельчения				
90	1:50	60	1	3,10±0,013
			2	3,41±0,015
			3	2,52±0,011
IV. Соотношение «сырье–экстрагент»				
90	1:30	60	2	2,18±0,009
	1:50			3,41±0,015
	1:100			3,21±0,014

Таблица 2 – Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой (уровень повторяемости)

X, %	Метрологические характеристики
3,40	N=11
3,41	f=10
3,42	$\bar{X}=3,41$
3,42	SD=0,03690
3,45	RSD=1,0813%
3,46	$S_{\bar{X}}=0,01113$
3,39	P, %=95
3,47	t (P, t)=2,23
3,35	$\Delta\bar{X}=0,02481\%$
3,40	E=0,73%
3,37	

Таблица 3 – Валидационная оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения суммы флавоноидов в траве солодки голой

X, %	X, %	Метрологические характеристики	
Аналитик 1	Аналитик 2	Аналитик 1	Аналитик 2
3,40	3,39	$\bar{X}=3,43$	$\bar{X}=3,43$
3,42	3,41	SD=0,02229	SD=0,02229
3,42	3,42	RSD=0,2652%	RSD=0,2652%
3,44	3,43	$S_{\bar{X}}=0,009098$	$S_{\bar{X}}=0,009098$
3,45	3,44	P, %=95	P, %=95
3,46	3,45	t (P, t)=2,23 (табл.)	t (P, t)=2,23 (табл.)
		E=0,59%	E=0,59%
		$\Delta\bar{X}=0,02\%$	$\Delta\bar{X}=0,02\%$

Примечание: $t_{\text{выч}}=0,66 < t(95\%;6)$; $F_{\text{выч}}=1,06 < F(95\%;5;5)$ – различия между полученными результатами случайны.

Таблица 4 – Результаты оценки правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой

Внесено пиностробина, мг/мл	Найдено, мг/мл	Открываемость, %	Метрологические характеристики
7,57	7,49	98,94	$\bar{X}=99,68\%$
7,57	7,52	99,34	SD=0,36062
7,57	7,56	99,87	RSD=0,3618%
15,15	15,08	99,54	$S_{\bar{X}}=0,120206$
15,15	15,11	99,74	P, %=95
15,15	15,16	100,07	t (P, t)=2,23
22,73	22,66	99,69	E=0,27%
22,73	22,70	99,87	$\Delta\bar{X}=0,27\%$
22,73	22,74	100,04	

Таблица 5 – Содержание суммы флавоноидов в образцах травы солодки голой (%) в пересчёте на пиноцембрин

№	Характеристика образца сырья	Содержание влаги в растительном сырье, %	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (%) в пересчёте на пиноцембрин
1.	Самарская область (Кинельский район, п. Алексеевка), август 2021	9,97±0,003	3,38±0,015
2.	г. Самара, Ботанический сад Самарского университета, август 2021	9,96±0,003	0,48±0,002
3.	Оренбургская область, (Сакмарский район, с. Татарская Каргала), июль 2017	9,99±0,003	0,39±0,002
4.	Республика Казахстан, г. Джарма, июль 2018	10,01±0,002	1,34±0,006
5.	Самарская область (Большечерниговский район, с. Большая Черниговка), август 2019	10,03±0,003	1,19±0,005

Правильность методики определяли методом добавок раствора СО пиностробина с известной концентрацией (25, 50 и 75%) к испытуемому раствору водно-спиртового извлечения травы солодки голой. При этом средний процент открываемости составил $99,68 \pm 0,27\%$ (табл. 4). Для каждой концентрации проводили три определения. Погрешность, определяемая для проб с добавками СО, находилась в пределах погрешности единичного определения, что свидетельствовало об отсутствии систематической погрешности (табл. 4).

Установлено, что среднее содержание флавоноидов в исследуемом образце сырья составило $3,41 \pm 0,015\%$ (относительная погрешность определения составила $\pm 0,73$).

Таким образом, исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно сделать вывод о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчёте на пиноцембрин.

С использованием этой методики было проанализировано 5 образцов травы солодки голой, заготовленных в летний период в разных местах произрастания (табл. 7). Определено, что содержание суммы флавоноидов в анализируемых образцах варьирует от $0,39 \pm 0,002$ до $3,41 \pm 0,015\%$ с учетом влажности растительного сырья от $9,97 \pm 0,003$ до $10,03 \pm 0,003\%$ в зависимости от места произрастания и года сбора растительного сырья (табл. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведённого исследования была разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве солодки голой методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием СО пиностробина при аналитической длине волны 310 нм.

Проведена валидационная оценка разработанной методики по показателям специфичность, линейность, прецизионность (уровень повторяемости), внутрिलाбораторная прецизионность, правильность в соответствии с ГФ РФ XIV издания. Исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно говорить о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчёте на пиноцембрин.

Результаты исследования могут быть использованы при создании лекарственных растительных препаратов на основе травы солодки голой, обладающих нейропротекторной активностью, антифибротическими эффектами, антимикробным действием в отношении *Escherichia coli* и фотопротекторной эффективностью.

Полученные результаты исследования могут быть использованы при разработке проекта нормативной документации на перспективный вид сырья «Солодки голой трава».

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

О.А. Белова – сбор растительного материала для анализа, проведение эксперимента, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка черновика рукописи, анализ литературы, написание и подготовка рукописи для публикации;

В.А. Куркин – окончательное утверждение для публикации рукописи, обработка результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания;

М.В. Егоров – участие в разработке концепции и дизайна исследования, критический анализ результатов исследования.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Качественный и количественный анализ сырья и препаратов солодки // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 1. – С. 175–180.
- Куркин В.А., Егоров М.В. Стандартизация корней солодки голой и лекарственного препарата «Солодки экстракт жидкий» // Фундаментальные исследования. – 2014. – Т. 6, № 6. – С. 1232–1236.
- Абдрахманова Г.М., Жаугашева С.К., Павелковская Г.П. Разработка технологии двуслойных суппозиторий на основе экстракта солодки и парацетамола // Фармация и фармакология. – 2014. – Т. 7, № 6. – С. 36–38. DOI: 10.19163/2307-9266-2014-2-6(7)-36-38
- Таланова И.О., Волкова Т.Г. Сравнительный анализ некоторых отхаркивающих препаратов на основе солодки // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – Т. 129, № 3. – С. 1–5. DOI: 10.23670/IRJ.2023.129.29
- Бровченко Б.В., Ермакова В.А., Боков Д.О., Самылина И.А., Демина Н.Б., Чернова С.В. Валидация ВЭЖХ методики определения содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 12. – С. 42–47. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-87-91.
- Бровченко Б.В., Ермакова В.А., Боков Д.О., Самылина И.А., Лазарева Н.Б. Оценка содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки и

- продуктах их переработки методом ВЭЖХ-УФ // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2019. – Т. 8, № 2. – С. 87–91. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-87-91
7. Ермакова В.А., Самылина И.А., Ковалева Т.Ю., Бровченко Б.В., Доровских Е.А., Бобкова Н.В. Корни солодки: анализ фармакопейных требований // Фармация. – 2019. – Т. 68, № 6. – С. 16–19.
 8. Юлдашев М.П., Ботиров Э.Х., Вдовин А.Д., Абдуллаев А.Д. Глабризофлафон – новый изофлавоноид из *Glycyrrhiza glabra* L. // Биоорганическая химия. – 2000. – Т. 26, № 11. – С. 873–876.
 9. Ботиров Э.Х., Киямитдинова Ф., Маликов В.М. Флавоноиды надземной части *Glycyrrhiza glabra* // Химия природных соединений. – 1986. – № 1. – С. 111–112.
 10. Gao M., Liu R., Zhu S.Y., Du G.H. Acute neurovascular unit protective action of pinocembrin against permanent cerebral ischemia in rats // J Asian Nat Prod Res. – 2008. – Vol. 10, No. 5–6. – P. 551–558. DOI: 10.1080/10286020801966955
 11. Liu R., Gao M., Yang Z.H., Du G.H. Pinocembrin protects rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia–reperfusion both *in vivo* and *in vitro* // Brain Res. – 2008. – Vol. 1216. – P. 104–115. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.03.049
 12. Rasul A., Millimouno F.M., Ali Eltayb W., Ali M., Li J., Li X. Pinocembrin: a novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities // BioMed Res Int. – 2013. – Vol. 2013. – Art. ID: 379850. DOI: 10.1155/2013/379850
 13. Shi L.L., Qiang G.F., Gao M., Zhang H.A., Chen B.N., Yu X.Y., Xuan Z.H., Wang Q.Y., Du G.H. Effect of pinocembrin on brain mitochondrial respiratory function // Acta Pharm Sin. – 2011. – Vol. 46, No. 6. – P. 642–649. Chinese
 14. Wu C.X., Liu R., Gao M., Zhao G., Wu S., Wu C.F., Du G.H. Pinocembrin protects brain against ischemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress induced apoptosis // Neurosci Lett. – 2013. – No. 546. – P. 57–62. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.04.060
 15. Li X., Zhai Y., Xi B., Ma W., Zhang J., Ma X., Miao Y., Zhao Y., Ning W., Zhou H., Yang C. Pinocembrin Ameliorates Skin Fibrosis via Inhibiting TGF- β 1 Signaling Pathway // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11, No. 8. – P. 1240. DOI: 10.3390/biom11081240
 16. Said M.M., Azab S.S., Saeed N.M. Antifibrotic Mechanism of Pinocembrin: Impact on Oxidative Stress, Inflammation and TGF- β /Smad Inhibition in Rats // Ann Hepatol. – 2018. – Vol. 1 (17), No. 2. – P. 307–317. DOI: 10.5604/01.3001.0010.8661
 17. Promsan S., Jaikumkao K., Pongchaidecha A., Chattipakorn N., Chatsudthipong V., Arjinajarn P., Pompimon W., Lungkaphin A. Pinocembrin attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats // Can J Physiol Pharmacol. – 2016. – Vol. 94, No. 8. – P. 808–818. DOI: 10.1139/cjpp-2015-0468
 18. Dunstan M.S., Robinson C.J., Jervis A.J., Yan C., Carbonell P., Hollywood K.A., Currin A., Swainston N., Le Feuvre R., Micklefield J., Faulon J.L., Breitling R., Turner N., Takano E., Scrutton N.S. Engineering *Escherichia coli* towards *de novo* production of gatekeeper (2S)-flavanones: naringenin, pinocembrin, eriodictyol and homoeriodictyol // Synth Biol (Oxf). – 2020. – Vol. 5, No. 1. – Art. ID: ysaa012. DOI: 10.1093/synbio/ysaa012
 19. Cao W., Ma W., Wang X. Enhanced pinocembrin production in *Escherichia coli* by regulating cinnamic acid metabolism // Sci Rep. – 2016. – Vol. 6. – Art. ID: 32640. DOI: 10.1038/srep32640
 20. García Forero A., Villamizar Mantilla D.A., Núñez L.A., Ocazone R.E., Stashenko E.E., Fuentes J.L. Photoprotective and Antigenotoxic Effects of the Flavonoids Apigenin, Naringenin and Pinocembrin // Photochem Photobiol. – 2019. – Vol. 95, No. 4. – P. 1010–1018. DOI: 10.1111/php.13085
 21. Fuentes J.L., Villamizar Mantilla D.A., Flores González S.J., Núñez L.A., Stashenko E.E. Plants growing in Colombia as sources of active ingredients for sunscreens // Int J Radiat Biol. – 2021. – Vol. 97, No. 12. – P. 1705–1715. DOI: 10.1080/09553002.2021.1987564
 22. Gu X., Zhang Q., Du Q., Shen H., Zhu Z. Pinocembrin attenuates allergic airway inflammation via inhibition of NF- κ B pathway in mice // Int Immunopharmacol. – 2017. – Vol. 53. – P. 90–95. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.10.005
 23. Абдурахманов Б.А., Сотимов Г.Б., Халилов Р.М., Маматханов А.У. Технология получения субстанции на основе флавоноидов надземной части *Glycyrrhiza glabra* // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55, № 10. – С. 18–22. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-10-18-22
 24. Хасанова Р.Х., А.Н. Набиев, Вахабов А.А. Пиноцембрин препарат из солодки голой // Научно-практический журнал. «Гастроэнтерология Санкт-Петербурга». – 2003. – № 2–3. – С. 180.
 25. Маматханова М.А., Абдурахманов Б.А., Нигматуллаев Б.А., Сотимов Г.Б., Халилов Р.М., Маматханов А.У. Изучение надземной части *Glycyrrhiza glabra* в качестве перспективного сырья для производства препаратов на основе флавоноидов // Химия растительного сырья. – 2016. – № 1. – С. 171–176.

АВТОРЫ

Белова Ольга Александровна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-4767-0824. E-mail: belova_olga@pranapharm.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами

фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7513-9352. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Егоров Максим Валерьевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9441-2628. E-mail: m.v.egorov@samsmu.ru

УДК 615.275.4



Анализ особенностей цитокинового ответа и иммунопатогенетических эффектов при применении препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли для постконтактной профилактики против новой коронавирусной инфекции: двойное слепое плацебо-контролируемое исследование

О.А. Радаева¹, Л.А. Балыкова¹, К.Я. Заславская¹, Ю.А. Костина¹, Н.А. Пятаев¹, Н.М. Селезнева¹, А.В. Климова¹, И.Ю. Чегодаева¹, К.Н. Корянова², А.В. Таганов³, П.А. Белый⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», 430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

² Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-т Калинина, д. 11

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

E-mail: radaevamed@mail.ru

Получена 02.02.2023

После рецензирования 14.04.2023

Принята к печати 30.04.2023

Цель. Изучение особенностей цитокинового ответа в группе лиц контактных по новой коронавирусной инфекции в зависимости от развития заболевания в течение последующих 14 дней с выделением мишеней для иммунокоррекции препаратом на основе РНК двуспиральной натриевой соли (препарат РАДАМИН®ВИРО) с вторичным снижением риска COVID-19 в анализируемой группе.

Материалы и методы. Проведено двойное слепое плацебо контролируемое исследование терапевтических эффектов препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли в группе пациентов, контактировавших с лицами, имеющими подтвержденный диагноз COVID-19. Методом иммуноферментного анализа в динамике определяли в сыворотке крови и слюне содержание интерферона альфа и бета (IFN α и IFN β соответственно), интерлейкина-1 β и -10 (IL1 β и IL-10 соответственно) у контактных лиц с ретроспективной оценкой изменения в зависимости от введения препарата или плацебо, а также развития COVID-19.

Результаты. В ходе представленного исследования продемонстрировано, что установленное содержание IFN α (менее 28 пг/мл) и IFN β (менее 12 пг/мл) в слюне на 1–2 сут контакта выступает предиктором повышения риска развития COVID-19. При этом имеет значение степень увеличения данных иммунорегуляторных пептидов в интервале 2–3 дней контакта: IFN α и IFN β на 250% и более позволяет нивелировать негативный прогноз у пациентов. Наиболее низкие показатели ($p < 0,001$) IFN α на 1–2 сут контакта, а также рост к 3 дню менее 21% наблюдались у лиц с окружностью талии более 80/94 см (женщины/мужчины). Заболеваемость в данной группе была выше и составила 85% (16 из 20 человек). Предикторной роли IL-1 β и IL-10 в крови и слюне в отношении старта инфекционного процесса не выявлено. Введение препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли контактным пациентам позволило скорректировать интерфероновый ответ в виде повышения содержания IFN α и IFN β , а также снизить заболеваемость в сравнении с группой плацебо.

Заключение. Отличия интерфероновой регуляции при контакте с SARS-CoV-2 в виде более низких уровней INF α и β , а также мало выраженная динамика роста в интервале первых 3-х дней влияли на повышение риска развития COVID-19. РАДАМИН®ВИРО может быть рекомендован в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19 как для медицинских учреждений, так и у лиц, осуществляющих уход и/или контактировавших с больными COVID-19.

Ключевые слова: коронавирус; COVID-19; РНК двуспиральной натриевой соли; РАДАМИН®ВИРО; профилактика; индуктор интерферонов

Список сокращений: COVID-19 – инфекционное заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2; ЭАГ – эссенциальная артериальная гипертензия; ИИ – индуктор интерферонов; ОРЗ – острое респираторное заболевание; ПЦР – полимеразная цепная реакция; IWRS – система интерактивной интернет-рандомизации; э-ИРК – электронная индивидуальная регистрационная карта; IFN α – интерферон альфа; IFN β – интерферон бета; IL1 β – интерлейкин-1 β ; IL-10 – интерлейкин-10; МАНК – метод амплификации нуклеиновых кислот.

Для цитирования: О.А. Радаева, Л.А. Балыкова, К.Я. Заславская, Ю.А. Костина, Н.А. Пятаев, Н.М. Селезнева, А.В. Климова, И.Ю. Чегодаева, К.Н. Корянова, А.В. Таганов, П.А. Белый. Анализ особенностей цитокинового ответа и иммунопатогенетических эффектов при применении препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли для постконтактной профилактики против новой коронавирусной инфекции: двойное слепое плацебо-контролируемое исследование. Церебропротекторное действие комбинации ситаглиптина с аминоксантином при нарушениях мозгового кровообращения. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):137-148. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-137-148

© О.А. Радаева, Л.А. Балыкова, К.Я. Заславская, Ю.А. Костина, Н.А. Пятаев, Н.М. Селезнева, А.В. Климова, И.Ю. Чегодаева, К.Н. Корянова, А.В. Таганов, П.А. Белый, 2023

For citation: O.A. Radaeva, L.A. Balykova, K.Ya. Zaslavskaya, Yu.A. Kostina, N.A. Pyataev, N.M. Selezneva, A.V. Klimova, I.Yu. Chegodaeva, K.N. Koryanova, A.V. Taganov, P.A. Bely. Analysis of cytokine response characteristics and immunopathogenetic effects of double-stranded sodium salt RNA-based drug for postexposure prophylaxis against novel coronavirus infection: double-blind, placebo-controlled trial. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):137-148. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-137-148

Analysis of cytokine response characteristics and immunopathogenetic effects of double-stranded sodium salt RNA-based drug for postexposure prophylaxis against novel coronavirus infection: double-blind, placebo-controlled trial

O.A. Radaeva¹, L.A. Balykova¹, K.Ya. Zaslavskaya¹, Yu.A. Kostina¹, N.A. Pyataev¹, N.M. Selezneva¹, A.V. Klimova¹, I.Yu. Chegodaeva¹, K.N. Koryanova², A.V. Taganov³, P.A. Bely⁴

¹ National Research Ogarev Mordovia State University, 68, Bolshevistskaya Str., Saransk, Russia, 430005

² Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

³ Peoples' Friendship University of Russia, 6, Miklukho-Maklay Str., Moscow, Russia, 117198

⁴ Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov, Bldg. 1, 20, Delegatskaya Str., Moscow, Russia, 127473

E-mail: radaevamed@mail.ru

Received 02 Feb 2023

After peer review 14 April 2023

Accepted 30 April 2023

The aim of the work was to study cytokine response characteristics in the group of persons contacted by a novel coronavirus infection depending on the development of the disease over the next 14 days. Herewith, for the immunocorrection with a preparation based on RNA double-stranded sodium salt (RADAMIN®VIRO) causing a secondary reduction in the risk of COVID-19 in the analyzed group, potential targets had been selected.

Materials and methods. A double-blind, placebo-controlled study of the drug based on RNA double-stranded sodium salt therapeutic effects was conducted in a group of patients who had been in contact with the persons having a confirmed diagnosis of COVID-19. The method of enzyme immunoassay in dynamics was used to determine the content of interferons alpha and beta (IFN α and IFN β , respectively), interleukin-1 β and -10 (IL1 β and IL-10, respectively) in the blood serum and saliva in the contact persons, with a retrospective assessment of changes depending on the administration of the drug or placebo, as well as the development of COVID-19.

Results. In the course of the presented study, it was demonstrated that the established content of IFN α (less than 28 pg/ml) and IFN β (less than 12 pg/ml) in saliva on the 1st–2nd contact days is a predictor of an increased risk of developing COVID-19. Herewith, the increase degree in these immunoregulatory peptides in the interval of 2–3 contact days is important: IFN α and IFN β allows leveling the negative prognosis in patients by 250% or more. The lowest rates ($p < 0.001$) of IFN α on the 1st–2nd contact days, as well as an increase of less than 21% by the 3rd day, were observed in persons with a waist circumference of more than 80/94 cm (women/men). The incidence in this group was higher and amounted to 85% (16 out of 20 people). The predictor role of IL-1 β and IL-10 in the blood and saliva in relation to the start of the infectious process was not revealed. The administration of drug based on RNA double-stranded sodium salt to the contact patients made it possible to correct the interferon response in the form of an increase in the content of IFN α and IFN β , as well as to reduce the incidence in comparison with the placebo group.

Conclusion. Differences in the interferon regulation upon contact with SARS-CoV-2 in the form of lower IFN α and β levels, as well as a slightly pronounced growth dynamics in the interval of the first 3 days, influenced the increased risk of developing COVID-19. RADAMIN®VIRO can be recommended as a means of post-exposure prophylaxis of COVID-19 for both medical institutions and for caregivers and / or contacts with COVID-19 patients.

Keywords: coronavirus; COVID-19; RNA double-stranded sodium salt; RADAMIN®VIRO; prevention; interferon inducer

Abbreviations: COVID-19 – an infectious disease caused by the SARS-CoV-2 virus; EAH – essential arterial hypertension; II – interferon inducer; ARI – acute respiratory disease; PCR – polymerase chain reaction; IWRS – Interactive Web Randomization System; eIRC – electronic individual registration card; IFN α – interferon alpha; IFN β – interferon beta; IL1 β – interleukin-1 β ; IL-10 – interleukin-10; NAAT – nucleic acid amplification test.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях пандемии COVID-19 (возбудитель – вирус SARS-CoV-2), с учётом частых появлений геновариантов и их высокой контагиозности, возрастает значимость профилактических мероприятий, где постконтактная профилактика является фактором предотвращения распространения заболевания. Препараты, которые можно применять с данной целью, должны замедлять скорость распространения эпидемии

и/или пандемии и снижать вирусную нагрузку на организм в случае заражения [1].

Течение новой коронавирусной инфекции имеет многообразие клинических проявлений: от тяжёлых лёгочных поражений до лёгкого и/или бессимптомного течения, что может быть напрямую связано с индивидуальной реакцией организма на SARS-CoV-2, где регуляторные пептиды (цитокины) оказывают значительное влияние на развитие и течение заболевания [2].

Противовирусный ответ, опосредованный интерферонами, имеет прямую взаимосвязь с вирусной нагрузкой, которая зависит от заражающей дозы и степени иммунного контроля репликации. Противовирусные эффекты препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли реализуются посредством стимуляции синтеза интерферонов I типа, а также путём изменения активности спектра толл-подобных рецепторов с вторичным иммуномодулирующим эффектом, реализующимся через звенья как врожденного, так и адаптивного иммунитета [3]. На ранних стадиях заражения, несмотря на ингибирование продукции эндогенных IFN HCoV, применение индуктора интерферонов (ИИ) на основе РНК двуспиральной натриевой соли может выступить фактором, определяющим контроль репликации SARS-CoV-2 [4].

В отношении карантинных мер можно отметить не столь высокий эффект, т.к. данные ограничены отслеживанием и фиксированием случаев заболевания, изоляцией тяжёлых больных в стационаре, в лёгких случаях – в домашних условиях и отслеживанием контактов. Многие страны внедрили социальное дистанцирование с целью снижения контактов и передачи инфекции среди населения, однако высокий вклад бессимптомного распространения показал недостаточность этих мер [5, 6]. В тоже время были отмечены недостатки краткосрочных мер, которые связаны с риском возобновления подъёма заболеваемости по причине позднего введения карантина или ранней его отмены [7, 8].

Исследования показали, что прогноз в отношении распространения заболеваемости можно расценивать как неблагоприятный с учётом мировых тенденций глобализации и урбанизации, что в свою очередь снижает эффективность административных мер, которые не будут играть ведущую роль и не окажут значительного влияния на распространение эпидемий и пандемий [9, 10].

Фармацевтические компании всего мира ведут поиск новых высокоэффективных инновационных молекул, характеризующихся как специфической, так и неспецифической активностью против возбудителей социально значимых инфекционных заболеваний для лечебного и профилактического применения [11–13].

Пандемия COVID-19 послужила стимулом для поиска эффективных противовирусных препаратов как для лечения, так и для профилактики инфекционных заболеваний, а также сократила сроки внедрения противовирусных препаратов в схемы лечения. В условиях пандемии согласование и одобрение для использования в клинической практике препаратов для лечения и профилактики COVID-19 проходило по ускоренной схеме для химиотерапевтических и биологических препаратов при постоянном и тщательном контроле эффективности и безопасности [14, 15].

В настоящее время имеются признаки стихания пандемии COVID-19, что является хорошей возможностью подготовить эффективные терапевтические методики и пополнить «арсенал» новыми эффективными и безопасными препаратами [16].

Следует отметить тот факт, что даже при большом охвате вакцинированных и тех, кто уже перенёс COVID-19, риск инфицирования остаётся достаточно высоким, что связано с появлением новых сублиний SARS-CoV-2. Одним из таких примеров является подвариант вируса SARS-CoV-2 (относящийся к линии XBB.1.16) – «Арктур», который обладает большей вирулентностью и устойчивостью к сформировавшемуся иммунитету, о чём свидетельствует недавно опубликованное индийскими учёными исследование [17].

В отношении профилактических мер следует отметить, что особенностью течения COVID-19 является наличие бессимптомных носителей и/или болеющих в лёгкой форме, с симптоматикой сезонных ОРВИ, что в свою очередь показало недостаточность мер изоляции и социального дистанцирования для контроля над пандемией [18, 19].

С учётом того, что в семьях есть члены, профессиональная деятельность которых связана с непрерывным производством и постоянным нахождением в контакте с другими людьми, риск заражения остальных членов семьи значительно возрастает [20, 21].

Интерферонотерапия в качестве профилактики оказывает иммуномодулирующее и опосредованное противовирусное действие при контакте с больными COVID-19, способствуя оптимальному ответу на проникновение вируса и выработке внутриклеточных противовирусных белков, что представляется целесообразным и оправданным для контроля заболеваемости у контактирующих лиц (семья, трудовые коллективы, массовые скопления людей, лечебные учреждения) [22].

На ранних стадиях заражения применение ИИ способствует выработке противовоспалительных цитокинов и, как следствие, позитивно влияет на снижение риска развития жизнеугрожающих состояний у пациентов [23].

В настоящее время в большинстве индустриально развитых стран, включая Российскую Федерацию, ведётся постоянный поиск эффективных молекул, обладающих прямым и опосредованным действием на социально значимые инфекционные заболевания, с целью их профилактики и лечения [24].

Результаты проведённого плацебо-контролируемого исследования препарата РАДАМИН®ВИРО (РНК двуспиральная натриевая соль) доказывают его эффективность при профилактике заражения новой коронавирусной инфекцией. В случае заражения COVID-19 симптомы заболевания развивались реже, чем у пациентов группы плацебо. Снижение частоты

развития, длительности и степени выраженности симптомокомплекса, характерного для COVID-19, свидетельствует о высокой эффективности препарата, что актуализирует необходимость изучения влияния препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли на цитокиновый ответ (локальный и системный) и целесообразность его применения с целью иммунокоррекции в контексте терапии и профилактики респираторных вирусных инфекций, в первую очередь COVID-19 [25].

ЦЕЛЬ. Изучение особенностей локального и системного цитокинового ответа в группе лиц контактных по новой коронавирусной инфекции, в зависимости от развития заболевания в течение последующих 14 дней с выделением потенциальных мишеней для иммунокоррекции препаратом на основе РНК двуспиральной натриевой соли (препарат РАДАМИН®ВИРО) с вторичным снижением риска COVID-19 в анализируемой группе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

С одобрения локального этического комитета при ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева» (протокол № 5 от 17 мая 2020, одобрено 30.04.2022, протокол № 105) проведено исследование локального и системного цитокинового ответа пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ), контактных по новой коронавирусной инфекции с выделением особенностей цитокинового статуса, ассоциированных с повышением риска развития COVID-19. Исследование проводилось в период с мая 2020 по май 2022 на базе поликлинического отделения Республиканской клинической больницы № 3, г. Саранск, Россия.

В рамках второй части исследования (с 1.06.2022 по 20.11.2022) было сформировано две группы для изучения иммунных эффектор препарата РНК двуспиральной натриевой соли: 1-я (группа плацебо) – 15 человек в возрасте от 45 до 55 лет, с ЭАГ, находившихся в «тесном семейном контакте» с больным COVID-19; 2-я (группа испытуемого препарата) – 14 человек в возрасте от 45 до 55 лет с ЭАГ, находившихся в «тесном семейном контакте» с больным COVID-19, и включённые в исследование, изучающее эффекты действия препарата – в рамках дополнительного исследования к Протоколу клинического исследования RAD-012022 (принцип двойного слепого плацебо-контролируемого исследования, врач и пациент не знали на момент введения и до завершения второго этапа исследования какую терапию получал субъект, но пациент знал, что мог получать РНК двуспиральной натриевую соль).

Также были введены дополнительные два критерия деления контактных пациентов: окружность талии (менее 80/94 см (20 человек) или более 80/94 см (15 человек), женщины/мужчины), и ретроспективный критерий в зависимости от

развития COVID-19 в течение 14 дней наблюдения (заболевшие и не заболевшие).

Диагноз COVID-19 был поставлен в соответствии с актуальными Временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции.

Контактным лицам (группа плацебо) вводился физиологический раствор натрия хлорида 0,9% – 5 мл однократно в дозе 5 мг в первые сут обращения инфицированного члена семьи, что соответствовало 2 сут непосредственного контакта. Забор материала (кровь, слюна) в 1-й группе проводился трехкратно: на 1–2 сут контакта с инфицированным пациентом, далее на 3 и 7 сут.

Участникам группы испытуемого препарата вводили препарат на основе РНК двуспиральной натриевой соли однократно в дозе 5 мг в 1-е сут обращения инфицированного члена семьи, что соответствовало 2 сут непосредственного контакта при сопоставлении с основной группой. До введения препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли на 2 сут контакта с инфицированным пациентом, через 1 день после введения (соответствовало 3 сут контакта с инфицированным пациентом), через 3 дня после введения (соответствовало 6–7 сут контакта с инфицированным пациентом) проводился забор крови и слюны.

Забор крови и нестимулированной слюны для обеих групп проводился утром натощак (12 ч без приёма пищи и воды). Кровь центрифугировали (центрифуга АРМЕД LC-04В, Россия) с последующим отделением сыворотки и хранением в маркированных пробирках при температуре –30°C не более 45 сут. Перед забором слюны участники полоскали полость рта дистиллированной водой в течение 2-х мин непосредственно перед отбором проб, а затем слюну собирали путём 15-минутного пассивного слюноотечения в градуированные пробирки. Уровни интерферона альфа (IFN α) и интерферона бета (IFN β), интерлейкина-1 β и -10 (IL1 β и IL-10 соответственно) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) в лаборатории кафедры иммунологии, микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева» на иммуноферментном анализаторе «Personal Lab TM» (Adaltis, Италия). Выбор вышеуказанных цитокинов обоснован данными ранее проведённого собственного исследования о роли интерферонов I типа, отношения про- и противовоспалительных цитокинов в противовирусном иммунитете, а также результатами пилотной работы по изучению иммунного статуса контактных пациентов. Вышеуказанные работы были проведены перед началом данного исследования и включали 32 цитокина, результаты авторами не публиковались.

Данное исследование проводилось в соответствии с правилами Надлежащей клинической практики Международной конференции по гармонизации (ICH GCP), этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Форталева, 2013) и требованиями

Российского законодательства. Получение биологического материала (кровь) для исследования производили с учётом положений Хельсинской декларации ВМА (2013 г.) и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999) с учётом дополнительного протокола к Конвенции по правам человека и биомедицине в области биомедицинских исследований (2005).

Рандомизация субъектов исследования по группам

Рандомизация субъектов осуществлялась посредством интерактивной online системы рандомизации (Interactive Web Randomization System – IWRS), встроенной в электронную индивидуальную регистрационную карту (э-ИРК). Перед началом исследования каждому врачу-исследователю, которому делегирована обязанность переноса данных в ЭИРК, был передан код доступа (комбинация имени пользователя и пароля) к э-ИРК, а также подробные письменные инструкции по работе с э-ИРК, включая процедуру рандомизации.

Рандомизация проводилась по следующему алгоритму. Каждому субъекту, соответствующему всем критериям включения и не соответствующему ни одному из критериев невключения, посредством системы IWRS присваивался трехзначный рандомизационный номер. Рандомизационный номер субъекта и другие соответствующие данные вносились врачом-исследователем в Журнал скрининга/рандомизации субъектов исследования.

Если субъект преждевременно прекращал участие в исследовании, его рандомизационный номер повторно не использовался, и субъект впоследствии уже не мог принять участие в исследовании.

Критерии включения

Возраст от 45 до 55 лет, вакцинация для профилактики COVID-19 в анамнезе (не позже 6 мес до включения в исследование), обращения первого инфицированного члена семьи на 1–2 сут при появлении клинических симптомов ОРЗ, подтверждения диагноза COVID-19 у члена семьи методом экспресс-диагностики и затем ПЦР, согласие контактного лица на забор материала для исследования в 1-е сут обращения инфицированного члена семьи за медицинской помощью, согласие контактного лица на участие в исследовании в течение 14 дней с подписанием добровольного информированного согласия. Для основной группы дополнительно – согласие на введение препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли (РАДАМИН®ВИРО), для контрольной группы – плацебо (физиологический раствор (NaCl) 0,9% – 5 мл).

Критерии невключения

Ассоциированные клинические состояния в анамнезе: острое нарушение мозгового

кровообращения, инфаркт миокарда, стенокардия, коронарная реваскуляризация, почечная недостаточность, сахарный диабет 1 типа, аутоиммунные, аллергические заболевания, применение глюкокортикостероидов, противовирусных препаратов и/или иммуномодуляторов в течение 30 дней до включения в исследования, отказ пациента от долгосрочного участия в исследовании.

Критерии исключения

Решение об исключении субъекта из исследования принимал врач-исследователь. Субъект выводился из исследования сразу при возникновении любой из следующих ситуаций:

1. Появление в ходе исследования любых заболеваний или состояний, которые ухудшали прогноз субъекта, а также делали невозможным дальнейшее участие субъекта в клиническом исследовании.

При выявлении у субъекта COVID-19 по результатам анализов РНК SARS-CoV-2 методом амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), отобранных как на этапе скрининга, так и после него, и отсутствии необходимости госпитализации субъекта, он не исключался из исследования, за ним продолжалось наблюдение. В случае необходимости госпитализации субъекта в ходе исследования, он исключался из исследования.

2. Приём препаратов запрещённой терапии или необходимость их назначения.

3. Беременность (для участниц исследования).

4. Ошибочное включение субъекта, несоответствующего критериям включения и/или соответствующего критериям невключения.

5. Другие нарушения Протокола, которые, по мнению врача-исследователя, являются значительными.

6. Отказ субъекта от участия в исследовании.

7. Другие административные причины.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием программ StatTech v. 2.8.8 (ООО «Статтех», Россия) и StatSoft Statistica 13.5. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (количество пациентов в группе менее 50). Данные представлены в виде медианы (Me) и границ 95% доверительного интервала (95%ДИ) или нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3). Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни для несвязанных выборок и критерия Вилкоксона для зависимых выборок. Уровень статистической значимости для малых выборок (в данном случае влияние терапии препаратом на риск развития заболевания) рассчитывали с помощью критерия Фишера ($p < 0,05$).

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off (точка отсечения определялась по наивысшему значению индекса Юдена) рассчитывалась на основе специфичности и чувствительности по следующей формуле: $J = \text{Sensitivity} + \text{Specificity} - 1$ (где: J – индекс Юдена). Чем выше была специфичность и чувствительность, тем выше были значения индекса Юдена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У лиц, которые находились в семейном контакте с больными COVID-19, однако не заболели в последующем, регистрировали более высокое содержание INF α в сыворотке крови (более 2,5 пг/мл) и слюне (более 28 пг/мл); INF β в сыворотке крови (более 3 пг/мл) и слюне (более 12 пг/мл) на момент 1–2 сут контакта. По полученным данным пороговое значение уровня INF α в слюне на 1–2 сут контакта, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена (0,79), составило 14,5 пг/мл, указывая на рост риска развития COVID-19 при меньшем содержании цитокина в слюне (площадь под ROC-кривой – $0,917 \pm 0,055$; 95% ДИ=0,810–1,000. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,004$) и уровень INF α в слюне в первые дни контакта обладал предикторной информативностью в отношении риска развития COVID-19 у контактных лиц. Предикция содержания INF α в крови в 1–2 сут контакта в отношении изменения риска развития COVID-19 у контактных лиц не выявлена (полученная модель была статистически не значимой, $p > 0,05$).

Для INF β предикторной информативностью в отношении снижения риска развития COVID-19 у контактных лиц являлось содержание его в крови более 2,7 пг/мл на 1–2 сут контакта (площадь под ROC-кривой – $0,89 \pm 0,23$; 95% ДИ=0,76–0,93. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,0034$) и в слюне – 13,5 пг/мл (площадь под ROC-кривой составила $0,80 \pm 0,09$; 95% ДИ=0,62–0,98. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,038$).

При сопоставлении динамических характеристик содержания интерферонов (в интервале между 1–2 и 3 сут контакта с инфицированным пациентом) у лиц, не заболевших в течение 14 сут контакта, определён рост INF α в слюне на 60–70% на 3 сут, что достоверно выше ($p < 0,001$), чем в группе заболевших в последующем (10–23%). Динамики содержания INF α в аналогичный временной период (в интервале между 1–2 и 3 сут контакта с инфицированным пациентом) в крови не выявлено ($p > 0,05$). Пороговое значение процента прироста уровня INF α в слюне на 3-и сут контакта в точке cut-off (точка отсечения), которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена (0,8), составило 42%, что определяло

снижение частоты развития острого заболевания при достижении процента выше 42. Площадь под ROC-кривой составила 0,95 (95% ДИ: 0,87–1,000). Полученная модель была статистически значимой ($p=0,002$).

Данные динамического роста в слюне и крови уровня INF β демонстрируют достоверные отличия в группах: так контактные лица (без COVID-19 в последующие 14 дней наблюдения) характеризовались трехкратным увеличением содержания INF β ($p < 0,001$) ко 2-му дню контакта, которое в слюне сохранялось и к 6-7 дню контакта, но нивелировалось в крови к 6-7 дням (табл. 1, 2). Пороговое значение процента прироста уровня INF β в слюне на 3 сут контакта в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена (0,77), составило 61%, что определяло снижение частоты развития острого заболевания при достижении процента выше 61. Площадь под ROC-кривой составила 0,96 (95% ДИ=0,82–1,97). Полученная модель была статистически значимой ($p=0,004$).

Важно отметить, наиболее низкие показатели ($p < 0,001$) уровней INF α на 1–2 сут контакта наблюдались в группе лиц с окружностью талии более 80/94 см (женщины/мужчины) (в крови 1,43 пг/мл, 95% ДИ [1,27–2,39] пг/мл, в слюне 11,7 пг/мл 95% ДИ [8,99–12,4] пг/мл), при окружности талии менее 80/94 см (женщины/мужчины): в крови 2,57 пг/мл, 95% ДИ [1,48–2,97] пг/мл, в слюне 18,2 пг/мл 95% ДИ [15,1–41,7] пг/мл, а процент повышения к 3 дню контакта был менее 21% [6–21]%. Заболеваемость в данной группе у контактных лиц составила 85% (16 из 20 человек). Заболеваемость среди лиц с окружностью талии менее 80/94 см (женщины/мужчины) составила 30% (3 из 15 человек).

Повышение содержания INF α и INF β в слюне и крови лиц, контактных по новой коронавирусной инфекции, при отсутствии заболевания в последующие 14 дней не сопровождалось ростом провоспалительного IL-1 β , что достоверно отличалось от группы пациентов с развившимся заболеванием в течение 14 дней контакта ($p < 0,001$), но происходило на фоне повышения в слюне противовоспалительного IL-10 к 6–7 дням контакта (табл. 1, 2).

Введение лицам, контактным по новой коронавирусной инфекции, на 1–2 сут контакта с клиническими проявлениями COVID-19 препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли внутримышечно в дозе 5 мг однократно, определило снижение заболеваемости в последующие 14 дней при сравнении с группой плацебо. В группе испытуемого препарата из 14 пациентов заболевших лиц не выявлено, в группе плацебо – из 15 контактных лиц заболело 5 человек, что составило 30% (табл. 3).

Исходя из полученных данных, при анализе влияния препарата на риск развития заболевания были выявлены статистически значимые различия ($p=0,042$).

Таблица 1 – Анализ уровней цитокинов (пг/мл) в крови контактных лиц по новой коронавирусной инфекции в зависимости от развития заболевания в течение периода наблюдения

Показатели	Группы	Риск заболевания			p
		Me	Q ₁ –Q ₃	n, чел	
INFα 1–2 день контакта	Не заболевшие	2,61	2,23–3,01	32	0,030*
	Заболевшие	2,15	1,67–2,29	35	
INFα 3 день контакта	Не заболевшие	2,74	2,38–2,96	32	0,015*
	Заболевшие	2,17	1,33–2,24	35	
INFα 7 день контакта	Не заболевшие	2,74	2,33–3,62	32	0,001*
	Заболевшие	2,08	1,64–2,35	35	
INFβ 1–2 день контакта	Не заболевшие	3,51	3,12–4,92	32	0,019*
	Заболевшие	1,82	1,08–2,84	35	
INFβ 3 день контакта	Не заболевшие	13,3	6,17–15,8	32	<0,001*
	Заболевшие	1,92	1,32–2,23	35	
INFβ 7 день контакта	Не заболевшие	5,42	4,93–6,27	32	<0,001*
	Заболевшие	2,35	1,28–3,17	35	
IL1β 1–2 день контакта	Не заболевшие	4,51	4,26–5,39	32	0,204
	Заболевшие	8,87	4,44–9,23	35	
IL1 β 3 день контакта	Не заболевшие	5,09	4,51–7,10	35	0,015*
	Заболевшие	21,5	14,50–24,78	32	
IL1 β 7 день контакта	Не заболевшие	4,73	4,22–5,28	35	0,011*
	Заболевшие	19,5	16,70–22,50	32	
IL-10 1–2 день контакта	Не заболевшие	9,72	9,05–10,39	35	0,06
	Заболевшие	11,8	8,99–14,72	32	
IL-10 3 день контакта	Не заболевшие	10,6	8,96–11,30	35	0,07
	Заболевшие	12,2	11,20–13,70	32	
IL-10 7 день контакта	Не заболевшие	10,1	9,43–11,27	35	0,394
	Заболевшие	11,1	9,95–12,20	32	

Примечание: * – достоверно при сравнении групп («заболевшие» и «незаболевшие») U-критерием Манна-Уитни.

Таблица 2 – Анализ уровней цитокинов (пг/мл) в слюне контактных лиц по новой коронавирусной инфекции в зависимости от развития заболевания в течение периода наблюдения

Показатели	Группы	Уровень цитокина			p
		Me	Q ₁ –Q ₃	n, чел	
INFα 1–2 день контакта	Не заболевшие	38,9	28,7–42,1	32	0,003*
	Заболевшие	12,7	9,13–14,5	35	
INFα 3 день контакта	Не заболевшие	51,2	44,3–58,3	32	<0,001*
	Заболевшие	14,5	8,23–18,7	35	
INFα 7 день контакта	Не заболевшие	38,5	35,3–45,1	32	<0,001*
	Заболевшие	15,6	7,91–19,5	35	
INFβ 1–2 день контакта	Не заболевшие	17,23	9,54–22,7	32	0,035*
	Заболевшие	4,34	3,48–4,92	35	
INFβ 3 день контакта	Не заболевшие	51,8	47,5–60,4	32	<0,001*
	Заболевшие	4,98	4,11–5,68	35	
INFβ 7 день контакта	Не заболевшие	51,7	50,8–60,7	32	<0,001*
	Заболевшие	18,7	17,7–24,1	35	
IL1 β 1-2 день контакта	Не заболевшие	20,3	16,8–22,3	32	0,057
	Заболевшие	29,50	26,50–31,6	35	
IL1 β 3 день контакта	Не заболевшие	25,3	21,4–26,1	32	0,005*
	Заболевшие	43,1	42,7–51,4	35	
IL1 β 7 день контакта	Не заболевшие	19,5	18,4–20,1	32	<0,001*
	Заболевшие	75,4	71,6–77,3	35	
IL-10 1–2 день контакта	Не заболевшие	26,8	23,4–33,5	32	0,63
	Заболевшие	27,20	25,1–28,3	35	
IL-10 3 день контакта	Не заболевшие	27,12	21,7–32,5	32	0,75
	Заболевшие	30,1	25,8–32,3	35	
IL-10 7 день	Не заболевшие	43,7	40,6–60,5	32	0,019*
	Заболевшие	31,8	27,6–35,1	35	

Примечание: * – достоверно при сравнении групп («заболевшие» и «незаболевшие») U-критерием Манна-Уитни.

Таблица 3 – Анализ влияния терапии препаратом основе РНК двуспиральной натриевой соли (в сравнении с группой плацебо) на частоту заболевания COVID-19 среди лиц, контактных по новой коронавирусной инфекции

Группы	Риск заболевания		p
	Не заболевшие	Заболевшие	
Радамин	14 (58,3)	0 (0,0)	0,042*
Плацебо	10 (41,7)	5 (100,0)	

Примечание: * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$; критерий Фишера).

Таблица 4 – Анализ уровней цитокинов (пг/мл) в слюне контактных лиц по новой коронавирусной инфекции в зависимости от введения препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли

Показатели	Группы	Уровни			p
		Me	Q ₁ –Q ₃	n, чел.	
INFα до введения	Радамин	33,5	11,8–41,7	14	0,760
	Плацебо	35,4	12,1–40,3	15	
INFα через 1 д после введения	Радамин	58,3	42,4–62,7	14	0,005*
	Плацебо	41,4	11,7–48,3	15	
INFα через 3 дня после введения	Радамин	41,7	34,5–49,1	14	0,026*
	Плацебо	29,6	21,3–37,9	15	
INFβ до введения	Радамин	8,30	3,65–18,5	14	0,247
	Плацебо	16,6	8,04–19,9	15	
INFβ 1 д после введения	Радамин	59,1	54,3–61,9	14	0,003*
	Плацебо	52,7	7,26–54,1	15	
INF1b 3 д после введения	Радамин	52,5	46,3–56,7	14	0,541
	Плацебо	54,3	24,4–61,3	15	
Уровень IL1 β до введения)	Радамин	20,9	17,9–24,5	14	0,600
	Плацебо	19,5	17,1–23,4	15	
IL1 β через 1 день после введения	Радамин	24,6	22,4–28,8	14	0,965
	Плацебо	23,7	22,2–35,4	15	
IL1 β через 3д после введения	Радамин	19,5	18,6–19,7	14	0,175
	Плацебо	19,7	19,3–58,1	15	
Уровень IL-10 до введения	Радамин	27,6	24,5–33,3	14	0,585
	Плацебо	27,2	24,7–32,6	15	
IL-10 через 1 день после введения	Радамин	22,8	20,5–26,7	14	< 0,001*
	Плацебо	32,7	29,8–33,7	15	
IL-10 через 3 день после введения	Радамин	41,2	39,1–43,5	14	0,064
	Плацебо	62,4	38,3–68,1	15	
	Плацебо	21,1	6,53–28,4	15	

Примечание: * — достоверно при сравнении групп («заболевшие» и «незаболевшие») U-критерием Манна-Уитни

Таблица 5 – Анализ уровней цитокинов (пг/мл) в крови контактных лиц по новой коронавирусной инфекции в зависимости от введения препарата РНК двуспиральной натриевой соли

Показатели	Группы	Уровни			p
		Me	Q ₁ –Q ₃	n, чел	
INFα до введения	Радамин	2,31	2,09–2,49	14	0,810
	Плацебо	2,21	2,12–2,57	15	
INFα через 1 д после введения	Радамин	2,71	2,47–3,08	14	0,043*
	Плацебо	2,31	2,00–2,63	15	
INFα через 3 дня после введения	Радамин	2,98	2,45–3,91	14	0,041*
	Плацебо	2,45	2,13–2,68	15	
INFβ до введения	Радамин	2,95	1,61–4,66	14	0,371
	Плацебо	4,15	2,51–4,97	15	
INFβ 1 д после введения	Радамин	14,6	13,81–15,53	14	< 0,001*
	Плацебо	4,20	3,16–5,24	15	
INF1b 3 д после введения	Радамин	5,55	4,84–6,27	14	0,071
	Плацебо	4,44	3,41–5,47	15	
Уровень IL1 β до введения)	Радамин	4,51	4,30–7,49	14	0,965
	Плацебо	5,19	4,23–7,39	15	
IL1 β через 1 день после введения	Радамин	5,97	4,78–9,23	14	0,485
	Плацебо	4,75	4,13–12,9	15	
IL1 β через 3д после введения	Радамин	4,95	4,59–5,55	14	0,913
	Плацебо	4,77	4,27–11,8	15	
Уровень IL-10 до введения	Радамин	9,99	9,51–11,1	9	0,619
	Плацебо	9,67	9,23–10,7	12	
IL-10 через 1 день после введения	Радамин	10,8	10,4–11,4	12	0,488
	Плацебо	9,51	9,03–11,6	12	
IL-10 через 3 день после введения	Радамин	10,3	9,9–11,5	12	0,382
	Плацебо	9,84	9,21–11,6	14	

Примечание: * – достоверно при сравнении групп («заболевшие» и «незаболевшие») U-критерием Манна-Уитни

Учитывая задачу исследования, направленную на выявление потенциала коррекции интерфероновой ответа при введении препарата РНК двуспиральной натриевой соли, проанализирована динамика изменения содержания в слюне и сыворотке крови IFNα и INFβ, IL-1β и IL-10 на фоне применения препарата. На момент введения препарата РНК двуспиральной натриевой соли или плацебо пациенты характеризовались сопоставимыми уровнями IFNα и INFβ в сыворотке крови и слюне ($p > 0,05$; табл. 4, 5), что соответствовало равному количеству пациентов с содержанием в слюне IFNα и INFβ, по приведенным ранее данным, повышающим риск развития COVID-19 при контакте с SARS-CoV-2 инфицированным человеком. Через 1 день после введения препарата отмечалось статистически достоверное отличие между группой Радамина и плацебо в сыворотке крови и слюне IFNα и INFβ, в виде наиболее выраженного роста INFβ (табл. 4, 5).

При сопоставлении индивидуальных показателей изменения содержания интерферонов в сыворотке крови и слюне контактных лиц выявлено, что у больных (6 человек из 14) с уровнями IFNα в крови менее 2,5 пг/мл и INFβ менее 3 пг/мл, в слюне менее 28 пг/мл по ранее описанным данным, относящимся к группе с крайне высоким риском развития заболевания, при введении препарата РНК двуспиральной натриевой соли отмечено увеличение

концентрации данных интерферонов в 2,5–3 раза в 1 сут. после введения. При этом было также отмечено, что эти больные достигали показателей лиц с низким риском развития острого заболевания. Анализируемые 6 пациентов этой группы также характеризовались окружностью талии более 80/94 см (женщины/мужчины). Данная тенденция в виде значимого увеличения содержания IFNα и INFβ у лиц с сопоставимыми концентрациями интерферонов и окружностью талии выше нормы не зарегистрирована при введении плацебо.

ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунный ответ против коронавирусов человека (HCoV), включая коронавирус 2 тяжёлого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2) [26, 27], в большинстве случаев характеризуется низким уровнем интерферонов I и III типа (IFNs), что приводит к росту вирусной нагрузки с последующим гипериммунным ответом. Значение локального и системного интерфероновой ответа значимый фактор как при инициации COVID-19 у контактных лиц, так и при формировании особенностей клинического течения [28, 29].

В ходе представленного исследования продемонстрировано, что содержание IFNα в слюне менее 28 пг/мл и IFNβ менее 12 пг/мл на 1–2 сут контакта выступает предиктором

повышения риска развития COVID-19 у контактных по новой коронавирусной инфекции лиц. Однако при этом имеет значение и степень увеличения данных иммунорегуляторных пептидов в интервале 2–3 дней контакта, так рост IFN α и IFN β на 250% и более позволяет нивелировать негативный прогноз у данной категории пациентов.

Необходимо отметить, что исследование проводилось в период доминирования в циркуляции варианта вируса Омикрон, который по данным исследователей в меньшей степени изменяет синтез интерферонов [28, 30], однако выявленные индивидуально низкие концентрации IFN α и IFN β в слюне и крови, являясь патофизиологической особенностью пациентов, в первую очередь с окружностью талии более 80/94 см (женщины/мужчины) и выступающих фактором повышения риска развития COVID-19 у данной категории пациентов при контакте с SARS-CoV-2 инфицированным человеком вне зависимости от ассоциированной с вариантом вируса и его способности подавлять синтез данных иммунорегуляторных пептидов.

В связи высокой контагиозностью новых вариантов Омикрон (Кентавр, Цербер, Кракен, Арктур) медицинским сообществом уделяется огромное значение поиску медикаментозных средств, способных скорректировать недостаточный (замедленный) интерфероновый ответ у пациента в момент инфицирования. Введение препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли (РАДАМИН®ВИРО) однократно внутримышечно в дозе 5 мг определило модификацию как локального, так и системного интерферонового ответа без гиперактивации провоспалительного цитокина IL-1 β . Наиболее значимым результатом применения препарата является повышение содержания IFN α и IFN β у лиц с первоначально низкими их уровнями, как в крови, так и слюне, что по собственным данным, относит этих пациентов к группе повышенного риска развития COVID-19 при их тесном семейном контакте с инфицированным пациентом. Данные пациенты в большем количестве случаев характеризовались повышением показателя окружности талии более 80/94 см (женщины/мужчины), что позволяет выдвинуть гипотезу о дополнительной значимости коррекцилокальногои системного интерферонового ответа у лиц с избыточной массой тела и ожирением, контактных по новой коронавирусной инфекции, путем применения препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли для снижения рисков инициации и осложненного течения инфекции.

Данные нашего исследования свидетельствуют о том, что при введении препарата на основе РНК двуспиральной натриевой соли не выявлено среднего повышения уровней противовоспалительного цитокина (IL-10) у контактных лиц в сыворотке крови и слюне, что, возможно, зависит от мультимодальных эффектов препарата, а также особенностей индивидуального иммунного статуса пациента,

реализованного посредством протективного и блокирующего действия на размножение вируса в инкубационном периоде, нивелируя тем самым патофизиологическую необходимость в росте IL-10.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отличия интерфероновой регуляции иммунного ответа при контакте с SARS-CoV-2 в виде более низких уровней IFN α и β , а также мало выраженная динамика роста в интервале первых 3-х дней влияли на повышение риска развития COVID-19, что имело патогенетическое обоснование. Клинически значимой гипотезой, выдвинутой в работе, является связь окружности талии более 80/94 см с базово низкими уровнями интерферонов первого типа в крови и слюне, что говорит о большей значимости коррекции синтеза интерферонов у данной категории пациентов. Безусловно, учитывая каскадный тип работы системы цитокинов, имеют принципиальное значение выявленные отличия концентраций провоспалительного IL-1 β и противовоспалительного IL-10 у лиц с развитием инфекционного процесса, но данные отличия являются вторичными и отражают старт заболевания в одной из групп. Предикторной роли уровня IL-1 β и IL-10 на момент инфицирования не продемонстрировано.

Важно отметить, что противовирусный ответ, опосредованный IFN, зависит от вирусной нагрузки, которая складывается из заражающей дозы и степени иммунного контроля репликации. Препараты интерферогенов обладают потенциалом коррекции синтеза интерферонов, что патогенетически значимо при запуске и развитии SARS-CoV-2 инфицирования.

Несмотря на ингибирование продукции эндогенных IFN, применение индуктора интерферонов на основе РНК двуспиральной натриевой соли может выступать фактором, определяющим контроль репликации SARS-CoV-2, особенно на первых этапах заболевания. При этом важно отметить безопасность применения препарата, т.к. сохраняются механизмы эндогенного контроля содержания интерферонов в организме не выше протективных концентраций.

Таким образом, препарат РНК двуспиральной натриевой соли может быть рекомендован в качестве средства постконтактной профилактики COVID-19, как для медицинских учреждений (амбулаторий и стационаров), так и у лиц, осуществляющих уход и/или контактировавших с больными COVID-19 (включая трудовые коллективы и места массового скопления людей). Применение препарата РАДАМИН®ВИРО по 5 мг (1 флакон) внутримышечно однократно с целью постконтактной профилактики COVID-19 существенно снижает риск заражения данным заболеванием, а также оказывает значительное влияние на снижение бремени коронавирусной инфекции в социально-экономическом аспекте борьбы с пандемией.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Клиническое исследование проводилось при поддержке компании ООО «ПРОМОМЕД РУС». Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Радаева О.А. – проведение исследования, написание и редактирование текста; Л.А. Балыкова – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; К.Я. Заславская – разработка дизайна исследования, редактирование текста; Ю.А. Костина – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; Н.А. Пятаев – обработка данных исследования; Н.М. Селезнева – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; А.В. Климова – реализация дизайна исследования, обработка результатов исследования; И.Ю. Чегодаева – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; К.Н. Корянова – обработка данных исследования; А.В. Таганов – редактирование текста, обработка данных исследования; П.А. Белый – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Мордык А.В., Сайфулина М.Л., Багишева Н.В., Антипова Е.П. Профилактика COVID-19 в семейных очагах // *Лечащий Врач*. – 2021. – Т. 2, № 24. – С. 61–63. DOI: 10.26295/OS.2021.92.25.012
2. Смирнов В.С., Ленева И.А., Кудрявцева Т.А., Файзулов Е.Б., Заплутанов В.А., Петленко С.В., Карташова Н.П., Грачева А.В., Корчевая Е.Р. Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro* // *Антибиотики и химиотерапия*. – 2021. – Т. 66, № 5–6. – С. 4–10. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-4-10
3. Соколова Т.М., Шувалов А.Н., Полосков В.В., Шаповал И.М., Костинов М.П. Стимуляция экспрессии генов сигнальных рецепторов и индукция синтеза цитокинов в клетках крови человека при действии препарата рибонуклеат натрия и его комбинаций с гриппозными вакцинами *in vitro* // *Молекулярная медицина*. – 2015. – № 1. – С. 12–17.
4. Наровлянский А.Н., Ершов Ф.И., Санин А.В., Пронин А.В. Система интерферона при COVID-19 // *Иммунология*. – 2022. – Т. 43, № 3. – С. 245–254. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-3-245-254
5. Феденок Ю.Н., Буркова В.Н. Социальное дистанцирование как альтернатива в условиях пандемии коронавируса: кросс-культурное исследование // *Сибирские исторические исследования*. – 2020. – № 2. – С. 6–40. DOI: 10.17223/2312461X/28/1
6. Tindale L.C., Stockdale J.E., Coombe M., Garlock E.S., Lau W.Y.V., Saraswat M., Zhang L., Chen D., Wallinga J., Colijn C. Evidence for transmission of COVID-19 prior to symptom onset // *Elife*. – 2020. – Vol. 9. – Art. ID: e57149. DOI: 10.7554/elife.57149
7. Zhang J., Litvinova M., Wang W., Wang Y., Deng X., Chen X., Li M., Zheng W., Yi L., Chen X., Wu Q., Liang Y., Wang X., Yang J., Sun K., Longini I.M. Jr., Halloran M.E., Wu P., Cowling B.J., Merler S., Viboud C., Vespignani A., Ajelli M., Yu H. Evolving epidemiology and transmission dynamics of coronavirus disease 2019 outside Hubei province, China: a descriptive and modelling study // *Lancet Infect Dis*. – 2020. – Vol. 20, No. 7. – P. 793–802. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30230-9
8. Fraser C., Riley S., Anderson R.M., Ferguson N.M. Factors that make an infectious disease outbreak controllable // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2004. – Vol. 101, No. 16. – P. 6146–6151. DOI: 10.1073/pnas.0307506101
9. Hellewell J., Abbott S., Gimma A., Bosse N.I., Jarvis C.I., Russell T.W., Munday J.D., Kucharski A.J., Edmunds W.J.; Centre for the Mathematical Modelling of Infectious Diseases COVID-19 Working Group; Funk S., Eggo R.M. Feasibility of controlling COVID-19 outbreaks by isolation of cases and contacts // *Lancet Glob Health*. – 2020. – Vol. 8, No. 4. – P. e488–e496. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30074-7. Epub 2020 Feb 28. Erratum in: *Lancet Glob Health*. – 2020.
10. Брико Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернявская О.П., Полежаева Н.А. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с её распространением в Российской Федерации. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 4–12. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12
11. Andrew D.P., Chang M.S., McNinch J., Wathen S.T., Rihanek M., Tseng J., Spellberg J.P., Elias C.G. 3rd. STCP-1 (MDC) CC chemokine acts specifically on chronically activated Th2 lymphocytes and is produced by monocytes on stimulation with Th2 cytokines IL-4 and IL-13 // *J Immunol*. – 1998. – Vol. 161, No. 9. – P. 5027–5038.
12. Beeching N.J., Fletcher T.E., Fowler R. Coronavirus Disease (COVID-19) // *BMJ Best Practices*. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://bestpractice.bmj.com/topics/en-us/3000168>.
13. Li R., Pei S., Chen B., Song Y., Zhang T., Yang W., Shaman J. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2) // *Science*. – 2020. – Vol. 368, No. 6490. – P. 489–493. DOI: 10.1126/science.abb3221
14. Баклаушев В.П., Кулемзин С.В., Горчаков А.А., Лесняк В.Н., Юсубалиева Г.М., Сотникова А.Г. COVID-19. Этиология, патогенез, диагностика и лечение // *Клиническая практика*. – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 7–20. DOI: 10.17816/clinpract.2020.11.1.7-20
15. Самойлова А.В. Роль Росздравнадзора в обеспечении качественной и безопасной медицинской помощи в период распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // *Национальное здравоохранение*. – 2020. – Т. 1, № 1. – С. 16–22.
16. Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Горенков Д.В., Хантимирова Л.М., Парамонова Ю.С., Смолина Е.М., Бондарев В.П., Меркулов В.А. Эффективность применения препаратов на основе иммуноглобулинов плазмы и моноклональных антител для лечения и профилактики COVID-19 // *Иммунология*. – 2022. – Т. 43, № 5. – С. 485–503. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-5-485-503
17. Kim K., Cho K., Song J., Rahmati M., Koyanagi A., Lee S.W., Yon D.K., Il Shin J., Smith L. The case fatality rate of COVID-19 during the Delta and the Omicron epidemic phase: A meta-analysis // *J Med Virol*. – 2023. – Vol. 95, No. 2. – Art. ID: e28522. DOI: 10.1002/jmv.28522
18. Тамм М.В. Коронавирусная инфекция в Москве: прогнозы и сценарии // *ФАРМАКОЭКОНОМИКА*.

- Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2020. – Т. 13, № 1. – С. 43–51. DOI: 10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51
19. Гипаева Г.А. Профилактика COVID-19 и ее эффективность: обзор литературы // Наука и социум: материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (2 декабря 2020 г.) / отв. ред. Е.Л. Сорокина. – Новосибирск: Изд-во АНО ДПО «СИППИСПР». – 2020. – С. 44–50. DOI: 10.38163/978-5-6043859-4-4_2020_44
 20. Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L., MacAry P.A., Ng L.F.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention // *Nat Rev Immunol.* – 2020. – Vol. 20, No. 6. – P. 363–374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8
 21. Абакушина Е.В. Иммунологические аспекты коронавирусной болезни, вызванной SARS-CoV-2 // *Гены и Клетки.* – 2020. – Т. 15, № 3. – С. 14–21. DOI: 10.23868/202011002
 22. Усенко Д.В. Перспективы поиска средств неспецифической профилактики инфекции COVID-19 // *Медицинский Совет.* – 2022. – № 6. – С. 36–42. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-6-36-42
 23. Радаева О.А., Таганов А.В., Рогожина Е.А. Перспективы использования индукторов интерферона на основе двуспиральной РНК для лечения вирусных и бактериальных инфекций // *РМЖ. Медицинское обозрение.* – 2022. – Т. 6, № 11. – С. 643–649. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-11-643-649
 24. Andrew D.P., Chang M.S., McNinch J., Wathen S.T., Rihane M., Tseng J., Spellberg J.P., Elias C.G. 3rd. STCP-1 (MDC) CC chemokine acts specifically on chronically activated Th2 lymphocytes and is produced by monocytes on stimulation with Th2 cytokines IL-4 and IL-13 // *J Immunol.* – 1998. – Vol. 161, No. 9. – P. 5027–5038.
 25. Балыкова Л.А., Радаева О.А., Заславская К.Я., Таганов А.В., Белый П.А., Захаров К.А., Попова В.В., Чудиновских Т.И., Теплых С.В., Балабан И.В., Козлов Р.С., Кириченко Н.В., Симакина Е.Н., Корянова К.Н., Пушкарь Д.Ю. Постконтактная профилактика COVID-19: результаты двойного слепого плацебо-контролируемого многоцентрового клинического исследования по оценке эффективности и безопасности применения препарата РНК двуспиральной натриевой соли // *Фармация и фармакология.* – 2023. – Т. 11, № 1. – С. 72–88. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-72-88
 26. Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L., Corneau A., Boussier J., Smith N., Péré H., Charbit B., Bondet V., Chenevier-Gobeaux C., Breillat P., Carlier N., Gauzit R., Morbieu C., Pène F., Marin N., Roche N., Szwebel T.A., Merckling S.H., Treluyer J.M., Veyer D., Mouthon L., Blanc C., Tharaux P.L., Rozenberg F., Fischer A., Duffy D., Rieux-Laucat F., Kernéis S., Terrier B. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients // *Science.* – 2020. – Vol. 369, No. 6504. – P. 718–724. DOI: 10.1126/science.abc6027
 27. Jamilloux Y., Henry T., Belot A., Viel S., Fauter M., El Jammal T., Walzer T., François B., Sève P. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions // *Autoimmun Rev.* – 2020. – Vol. 19, No. 7. – Art. ID: 102567. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102567
 28. Laine L., Skön M., Väisänen E., Julkunen I., Österlund P. SARS-CoV-2 variants Alpha, Beta, Delta and Omicron show a slower host cell interferon response compared to an early pandemic variant // *Front Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – Art. ID: 1016108. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1016108
 29. Park A., Iwasaki A. Type I and Type III Interferons - Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19 // *Cell Host Microbe.* – 2020. – Vol. 27, No. 6. – P. 870–878. DOI: 10.1016/j.chom.2020.05.008
 30. Bakadia B.M., He F., Souho T., Lamboni L., Ullah M.W., Boni B.O., Ahmed A.A.Q., Mukole B.M., Yang G. Prevention and treatment of COVID-19: Focus on interferons, chloroquine/hydroxychloroquine, azithromycin, and vaccine // *Biomed Pharmacother.* – 2021. – Vol. 133. – Art. ID: 111008. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111008

АВТОРЫ

Радаева Ольга Александровна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии, Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0003-1383-2474. E-mail: radaevamed@mail.ru

Балыкова Лариса Александровна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой педиатрии, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-2290-0013. E-mail: larisabalykova@yandex.ru

Заславская Кира Яковлевна – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Костина Юлия Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7825-7856. E-mail: bazunova.2013@mail.ru

Пятаев Николай Анатольевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-9688-7640. E-mail: pyataevna@mail.ru

Селезнева Наталья Михайловна – кандидат

медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-3004-2063. E-mail: nata_rm@mail.ru

Климова Алёна Валерьевна – аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0009-0001-9356-6745. E-mail: alyonka-class@mail.ru

Чегодаева Ирина Юрьевна – студентка 6-го курса специальности «Педиатрия» ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0001-7973-5015. E-mail: Chegodaeva-irina@ro.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

Таганов Алексей Викторович – доктор медицинских наук, профессор кафедры дерматовенерологии с курсом косметологии факультета непрерывного медицинского образования медицинского института ФГАОУ ВО РUDN. ORCID ID: 0000-0001-5056-374X. E-mail: matis87177@yandex.ru

Белый Петр Александрович – кандидат медицинских наук, старший лаборант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО МГМУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5998-4874. E-mail: pbely@ncpharm.ru

УДК 614.2; 615.03



Лекарственные препараты «off-label»: правовые проблемы и социально-экономические аспекты практики применения

С.В. Русских^{1,2}, Е.А. Тарасенко², Л.И. Москвичева³, С.А. Орлов^{1,4}, А.А. Трякин⁵,
А.В. Воробьева¹, О.А. Бенеславская¹, В.И. Макарова¹, Е.А. Путилина⁶, С.А. Уткин⁶

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко»,
105064, Россия, г. Москва, ул. Воронцово поле, д. 12, стр. 1

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,
101000, Россия, г. Москва, ул. Мясницкая, д. 20

³ Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена –

филиал федерального государственного бюджетного учреждения

«Национальный медицинский исследовательский центр радиологии»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

125284, Россия, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 3

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

101990, Россия, г. Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3

⁵ Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

115522, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24

⁶ Российская детская клиническая больница — филиал федерального государственного

автономного образовательного учреждения высшего образования

«Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

198207, Россия, г. Москва, Ленинский пр-кт, д. 117, к. 1

E-mail: etarassenko@hse.ru

Получена 12.10.2022

После рецензирования 15.04.2023

Принята к печати 10.05.2023

Цель. Проанализировать российский и зарубежный опыт регулирования и практики применения лекарственных препаратов (ЛП) «off-label» для выработки рекомендаций по способам оптимизации их использования в клинической практике.

Материал и методы. Анализ научных статей и нормативно-правовых документов Российской Федерации и зарубежных стран, опубликованных с 2011 по 2022 года на сайтах КонсультантПлюс, Food and Drug Administration, European Medicines Agency, National Center for Biotechnology Information, e-library, а также качественное социологическое исследование, проведенное в мае-августе 2022 года, а именно 11 глубинных интервью с экспертами в области системы здравоохранения Российской Федерации.

Результаты. Рассмотрены социально-экономические аспекты и раскрыт перечень правовых проблем практики применения ЛП «off-label». Представлен анализ состояния нормативно-правовой базы по вопросам использования ЛП специалистами здравоохранения в условиях отсутствия зарегистрированных показаний по применению лекарственного средства; применения незарегистрированного лекарственного средства на территории Российской Федерации в повседневной врачебной практике; анализ российского и зарубежного опыта регулирования применения ЛП в условиях отсутствия их регистрации в стране, а также отсутствия регистрации некоторых показаний к их

Для цитирования: С.В. Русских, Е.А. Тарасенко, Л.И. Москвичева, С.А. Орлов, А.А. Трякин, А.В. Воробьева, О.А. Бенеславская, В.И. Макарова, Е.А. Путилина, С.А. Уткин. Лекарственные препараты «off-label»: правовые проблемы и социально-экономические аспекты практики применения. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):149-160. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-149-160

© С.В. Русских, Е.А. Тарасенко, Л.И. Москвичева, С.А. Орлов, А.А. Трякин, А.В. Воробьева, О.А. Бенеславская, В.И. Макарова, Е.А. Путилина, С.А. Уткин, 2023

For citation: S.V. Russkikh, E.A. Tarasenko, L.I. Moskvicheva, S.A. Orlov, A.A. Tryakin, A.V. Vorobeva, O.A. Beneslavskaya, V.I. Makarova, E.A. Putilina, S.A. Utkin. "Off-label" drugs: legal problems and socio-economic aspects of application practice. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):149-160. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-149-160

назначению в инструкции по медицинскому применению лекарственного средства. Авторами были сформулированы ключевые проблемы применения ЛП «off-label» в клинической практике. По результатам глубинных интервью были выявлены и конкретизированы рекомендации экспертного сообщества по способам оптимизации применения ЛП «off-label».

Заключение. Результаты настоящего исследования стали основой для формулирования рекомендаций для расширения возможностей специалистов назначать лечение ЛП «off-label» при одновременном сохранении должной степени государственного контроля за данным процессом: законодательное закрепление обязательств и ответственности региональных органов управления здравоохранением по вопросам лекарственного обеспечения; создание открытой и прозрачной системы применения ЛП «off-label» для пациентов и/или их законных представителей, обязательное полноценное информирование пациента о факте применения ЛП «off-label», а также риске и характере развития возможных нежелательных реакций. Основным приоритетом при назначении таких препаратов должна выступать безопасность пациента.

Ключевые слова: лекарственные препараты; неправильное применение; назначения «off-label»; регулирование и практика применения лекарственных препаратов; безопасность пациентов

Список сокращений: ЛП – лекарственные препараты; НПА – нормативный правовой акт; НР – нежелательная реакция; ЕМА – Европейское агентство лекарственных средств; GOLUP – Надлежащая практика использования лекарств не по прямому назначению; US FDA – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США; ЖНВЛП – жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты; КИ – клинические исследования; ОМС – обязательное медицинское страхование; ВМП – высокотехнологичная медицинская помощь.

“Off-label” drugs: legal problems and socio-economic aspects of application practice

S.V. Russekikh^{1,2}, E.A. Tarasenko², L.I. Moskvicheva³, S.A. Orlov^{1,4}, A.A. Tryakin⁵,
A.V. Vorobeva¹, O.A. Beneslavskaya¹, V.I. Makarova¹, E.A. Putilina⁶, S.A. Utkin⁶

¹ Semashko National Scientific Research Institute of Public Health,
Bldg. 1, 12, Vorontsovo Pole Str., Moscow, Russia, 105064

² HSE University,
20, Myasnitskaya Str., Moscow, Russia, 101000

³ Herzen Moscow Research Institute of Oncology –
branch of the National Medical Research Center for Radiology,
3, 2nd Botkinsky Dwy, Moscow, Russia, 125284.

⁴ National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine,
Bldg 3, 10, Petroverigsky Ln., Moscow, Russia, 101990

⁵ Blokhin National Medical Research Center of Oncology,
24, Kashirskoe Hwy, Moscow, Russia, 115522

⁶ Russian Children's Clinical Hospital – branch of Pirogov Russian National Research Medical University,
Bldg 1, 117, Leninsky Ave., Moscow, Russia, 198207

E-mail: etarasenko@hse.ru

Received 12 Nov 2022

After peer review 15 April 2023

Accepted 10 May 2023

The aim of the work was to analyze Russian and foreign experience in the regulation and application practice of “off-label” drugs in order to develop recommendations on the optimization of their application in clinical practice.

Material and methods. The analysis of scientific articles and legal documents of the Russian Federation and foreign countries published from 2011 to 2022 on the websites Consultant Plus, FDA, EMA, NCBI, e-library, as well as a qualitative sociological study conducted in May-August 2022 – 11 in-depth interviews with experts in the field of the healthcare system of the Russian Federation.

Results. The social and economic aspects have been considered and the list of legal problems in the application practice of “off-label” drugs has been disclosed. A state analysis of the regulatory and legal framework on the drugs application practice by healthcare professionals in the absence of registered indications for “off-label” drugs use has been presented. The use of an unregistered medicinal product in the territory of the Russian Federation in everyday medical practice has been considered. The analysis of the Russian and foreign experience in regulating the use of drugs in the absence of their registration in the country, as well as the absence of registration of some indications for their prescription in the instructions for the medical use of such drugs has been also carried out. The authors have formulated the key problems of the use of “off-label” drugs in clinical practice. Based on the results of the in-depth interviews, the recommendations of the expert community on the ways to optimize the use of “off-label” drugs have been identified and concretized.

Conclusion. The results of this study made it possible to formulate recommendations for expanding the ability of specialists to prescribe “off-label” drugs treatment while maintaining a proper degree of the state control over this process: a legislative consolidation of the regional health authorities’ obligations and responsibilities on the drug provision; creating an open and transparent system for the “off-label” drugs use by patients and their legal representatives, the mandatory full information of the patient about the fact of using the “off-label” drug, as well as the risk and nature of the development of possible adverse reactions. When prescribing these drugs, the patient safety should be the top priority.

Keywords: drugs; misuse; “off-label” prescriptions; regulation and practice of drug use; patient safety

Abbreviations: RLA – regulatory legal act; AR – adverse reaction; EMA – European Medicines Agency; GOLUP – Good Off-Label Use Practices; US FDA – United States Food and Drug Administration; VED – Vital and Essential Drugs; CTs – clinical trials; CMI – compulsory medical insurance; HTMC – high-tech medical care.

ВВЕДЕНИЕ

Применение лекарственных препаратов (ЛП) по показаниям, не указанным в инструкции, включая назначение при других диагнозах, изменение способов применения и дозировок является неизбежной практикой уже довольно длительный период времени [1–4]. Назначение и отпуск ЛП вне зарегистрированных показаний (неофициально «off-label») по-прежнему остается актуальной правовой проблемой и проблемой клинической практики, вызванной, прежде всего, неудовлетворенными клиническими потребностями [5–8]. Это связано с целым рядом причин: необходимостью, в некоторых случаях, оказывать медицинскую помощь пациенту в условиях отсутствия зарегистрированных ЛП [9, 10]; нежеланием фармацевтических компаний вкладывать финансовые средства в проведение клинических исследований (КИ) и регистрацию дополнительных показаний [11]; отсутствием у врача временных (высокая загруженность), организационных и технических возможностей для уточнения указанных в регистрационном досье показаний к применению конкретного ЛП [12], а также рядом индивидуальных характеристик медицинского работника и пациента (недостаточная квалификация, неосведомленность об ответственности за назначение ЛП «off-label», ложные убеждения) [13, 14]. В некоторых случаях именно не один, а комбинация из вышеперечисленных факторов приводят к неправильному применению ЛП [15].

Несмотря на то, что эффективность применения ЛП «off-label» официально не подтверждена, их использование в клинической практике может служить средством спасения жизни пациентов с редкими заболеваниями, у больных детского или старческого возраста, беременных и кормящих женщин, а также в случае выявления новых инфекционных заболеваний, для которых еще не разработана этиотропная терапия (например, COVID-19) [16].

Одной из важных проблем применения ЛП вне зарегистрированных показаний является «путаница» в терминологии. Согласно определению, данному Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and

Drug Administration, US FDA), назначением «off-label» считается использование медицинского изделия или ЛП по неутвержденным в инструкции показаниям, в иной лекарственной форме или режиме дозирования, а также в популяциях, не указанных в инструкции [17]. В то же время в нормативно-правовых актах и публикациях относительно применения ЛП «off-label» встречается формулировка данного явления как назначение препарата по «показаниям, отличным от показаний для применения, содержащихся в инструкции по применению ЛП», то есть «неправильное применение», что значительно сужает понятие [18].

К случаям, в которых применение ЛП происходит «off-label», относятся: использование не зарегистрированных на территории страны ЛП; назначение противопоказанного при данной патологии ЛП; назначение по незарегистрированным показаниям; назначение не указанным в инструкции популяциям (беременные) или возрастным группам (дети, пожилые); одновременное назначение неблагоприятных комбинаций ЛП; использование ЛП с нарушением способов применения (кратности, дозирования, пути введения, продолжительности лечения) [17–19].

Любой практикующий врач вне зависимости от специализации неоднократно прибегает к назначениям «off-label» [20]. Основными группами пациентов, среди которых наиболее широко распространено применение ЛП «off-label», являются дети, беременные женщины, лица пожилого и старческого возраста, пациенты с онкологическими заболеваниями и орфанными болезнями, больные, получающие паллиативную медицинскую помощь, пациенты психиатрического профиля [18, 21–23].

В указанных группах проведение КИ, необходимых для внесения соответствующих показаний в инструкцию по применению ЛП, обычно затруднено, а в некоторых случаях и вовсе невозможно по этическим соображениям, что является основной причиной невключения ряда препаратов в список жизненно необходимых и важнейших (ЖНВЛП), клинические рекомендации и стандарты оказания медицинской помощи. В результате применение ЛП «off-label» не может быть финансировано системой обязательного медицинского страхования (ОМС)

или бюджетными средствами в рамках оказания высокотехнологичной медицинской помощи (ВМП).

ЦЕЛЬ. Анализ российского и зарубежного опыта регулирования и практики применения ЛП «off-label» для выработки рекомендаций по способам оптимизации применения в клинической практике.

Задачи исследования:

1. Оценить распространенность применения ЛП «off-label» в международной клинической практике;
2. Проанализировать правовое регулирование применения ЛП «off-label» в Российской Федерации и за рубежом;
3. Выяснить мнение экспертов по вопросам применения ЛП «off-label».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве основных методов в настоящей работе использованы: анализ отечественных и зарубежных научных статей по вопросам регулирования обращения и практического применения ЛП «off-label», опубликованных с 2011 по 2022 год на сайтах КонсультантПлюс, Food and Drug Administration, European Medicines Agency, National Center for Biotechnology Information, e-library, и нормативно-правовых документов Российской Федерации и зарубежных стран; качественное социологическое исследование с применением методологии глубинных интервью.

Глубинные интервью¹ с экспертами в области системы здравоохранения граждан Российской Федерации были проведены в мае-августе 2022 года. Опросник глубинного неформализованного интервью представлял собой перечень тем, подлежащих выяснению. Темы сформулированы как в повествовательной, так и в вопросительной форме. Эти грамматические формы были взаимозаменяемы, с целью выбора по желанию исследователем любой из них, либо их комбинации. В зависимости от типа смысловой связи темы вопросника подразделялись на повествования, описания и рассуждения. В сравнении с другими методами качественного исследования этот способ обеспечил получение глубинной информации благодаря тому, что вся временная продолжительность обсуждения изучаемой темы была сосредоточена на интервью с одним участником. Следует отметить, что отсутствие влияния со стороны других участников позволило однозначно идентифицировать автора ответа и сопоставить полученные результаты с характеристиками респондента.

В качестве экспертов в настоящем исследовании приняли участие 11 специалистов различного

¹ Глубинное интервью – неструктурированное, прямое, личное интервью, в котором одного респондента опрашивает высококвалифицированный интервьюер для определения его основных побуждений, эмоций, отношений и убеждений по определенной теме.

профиля: представители Государственной Думы Федерального собрания Российской Федерации (1 эксперт); Областной детской клинической больницы ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (1 эксперт); Института управления и трансляционной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (2 эксперта); ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (2 человека); Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (2 эксперта); ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (3 эксперта); фармацевтического концерна АО «Байер» (1 эксперт); вице-президент Общества специалистов доказательной медицины (osdm.org) (1 эксперт). Средний возраст респондентов составил 45±5 лет. Для всех опрашиваемых были созданы одинаковые условия места и времени проведения интервью. Интервьюируемые также были поставлены в известность и, в свою очередь, дали согласие на публикацию результатов анкетирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Применение ЛП «off-label»

в международной клинической практике

Феномен применения ЛП «off-label» изучен рядом отечественных и зарубежных исследователей [24–27]. По данным Кузнецовой Е.Ю. и соавт. (2020) более 62% врачей отмечали необходимость назначения ЛП «off-label» в своей клинической практике [27]. При этом в качестве основных причин применения препаратов с нарушением положений инструкции, специалисты указывали на отсутствие альтернативных вариантов лечения и необходимость оказания паллиативной помощи тяжело больным пациентам [27, 28].

Наиболее часто подобная практика встречается в онкологии, гематологии и педиатрии [29–31]. В систематическом обзоре, опубликованном в 2017 году, суммированы результаты 23 исследований, опубликованных в период с 1975 по 2016 годы. Частота применения ЛП «off-label» в онкологии составила 6–82% в зависимости от типа опухоли, стадии, препарата и возраста пациента. Показано, что ЛП «off-label» одинаково часто назначаются как при амбулаторном, так и стационарном лечении. В качестве основных причин применения препаратов «off-label» были выделены: отсутствие показаний для применения ЛП при определенном виде опухолей (9–46%), а также изменение режима применения препарата (10–40%). ЛП «off-label» в онкологии применяются чаще всего в рамках паллиативного лечения (34–76%), реже для куративного (10–41%) или адъювантной терапии (8,5–49%) [32].

Другой клинической специальностью, в которой широко распространение назначений ЛП «off-label»,

является педиатрия [33–35]. Частота применения ЛП вне зарегистрированных показаний в данной области достигает 87,7% [36].

По данным Прядкиной Е.А. и соавт. (2018), при анализе частоты и структуры назначений ЛП «off-label», указанных в медицинской документации отделения педиатрического дневного стационара гематологического и онкологического профиля, 69% историй болезни содержали 93 назначения ЛП «off-label», среди которых 39 назначений не соответствовали инструкции по рекомендуемому возрасту пациента; 14 – по дозе ЛП; 39 – по зарегистрированным показаниям к применению; 1 – по лекарственной форме препарата. Основными группами ЛП «off-label» были иммунодепрессанты (29%), интерфероны (15%), комплексообразующие средства (12%). В 68% случаев ЛП «off-label» назначали для лечения основного заболевания, в 32% – сопутствующей патологии [37].

Столь высокая распространенность назначений «off-label» обусловлена трудоёмкостью и затратностью проведения крупных КИ в относительно малой популяции больных, отсутствием экономических стимулов проведения таких исследований. В результате в инструкциях по применению ЛП наименее проработаны аспекты, связанные с возможностями и особенностями их применения у детей. Среди зарегистрированных ЛП лишь 33% одобрены для применения в детском возрасте: 23% – в раннем детстве (1–3 года), 9% – в младенческом возрасте (до 1 года). При этом известно о повышенном риске развития токсических явлений на ЛП у детей в сравнении со взрослым населением, а также о наличии специфических нежелательных реакций (НР) [18, 38, 39]. Частота осложнений при применении ЛП «off-label» в педиатрии колеблется от 23 до 60%, а относительный риск их возникновения в 4,43 раза выше, чем в случаях их использования по показаниям [33, 36].

В исследовании Матвеева А.В. и соавт. (2018) показано, что 47,7% случаев развития НР у детей Республики Крым в период с 2011 по 2016 год связано с назначением ЛП «off-label»: 36,1% выявленных эпизодов относились к категории применения ЛП по незарегистрированным показаниям, 31% – происходили с нарушением кратности введения и сроков приёма, в 20,7% не учитывались противопоказания к применению, 19,4% – характеризовались нарушением дозирования, 18,7% – неуказанным путём введения, в 2,1% – имело место игнорирование анамнеза. Большая часть (52,7%) назначений ЛП «off-label» приходилась на пациентов в возрасте от 29 дней до 1 года [40].

Бесконтрольное использование ЛП «off-label» может являться причиной возникновения негативных последствий как для врачей, так и для обратившихся к ним пациентов [27, 41]. Следует отметить, что как

только ЛП соответствует стандартам безопасности и эффективности, необходимым для получения одобрения FDA, он может быть использован по новым показаниям и/или в популяциях, отличных от тех, для которых он был одобрен. Примером такого применения ЛП «off-label» является указанная в клинических рекомендациях различных стран лекарственная терапия новой коронавирусной инфекции. Для лечения COVID-19 в начале пандемии медицинские работники использовали различные препараты, зарегистрированные для терапии схожей инфекционной патологии [42, 43]. В настоящее время в Российской Федерации уже сформировано 16 версий временных методических рекомендаций по лечению коронавирусной инфекции, однако в период пандемии был произведен активный поиск эффективных схем лечения посредством использования ЛП «off-label», так как в начальном периоде пандемии отсутствовали препараты, показания к применению которых включали бы инфекцию, вызванную штаммами SARS-CoV-2 [27, 42].

Применение ЛП «off-label» имеет и негативный опыт. Так одним из примеров развития НР при бесконтрольном назначении ЛП является случай развития слепоты при использовании противоопухолевого средства бевацизумаб в Румынии. Назначившего препарат врача обвинили в халатности [44]. При этом профильное министерство сделало заявление, что в случаях применения ЛП «off-label», полную ответственность несут специалисты здравоохранения, участвующие в процессе его назначения и применения².

В России также известно о нескольких громких историях, связанных с причинением вреда жизни и здоровью пациентов в результате применения ЛП «off-label» [45]. Одна из них связана с назначением в Республике Дагестан в 2016 году мизопростола, являющегося согласно официальной инструкции по применению средством для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, пациентке с целью прерывания беременности, что привело к смерти женщины. Родственники погибшей пациентки обратились в судебные инстанции с иском о возмещении вреда. Во время разбирательства было установлено, что причиной смерти стало применение данного препарата «off-label», требование истцов было удовлетворено, а медицинская организация привлечена к гражданско-правовой ответственности³.

В 2014 году за применение «off-label»

² Press Release of ANMDM Regarding the Off-Label Use of AVASTIN [Comunicat de Presa al ANMDM Referitor la Utilizarea off_Label a AVASTIN (bevacizumab)]. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.anm.ro/anunt-important-11-03-2011/>. Romanian

³ Решение по делу о компенсации морального вреда в связи с причинением вреда жизни и здоровью. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://sudact.ru/regular/doc/6vlcquF4dy1e/>.

цефтриаксона при разведении его раствором лидокаина неверной концентрации (10% вместо 1%) и связанным с этим летальным исходом пациента, фельдшер г. Улан-Удэ была приговорена к лишению свободы согласно ч. 2 ст. 109 «Причинение смерти по неосторожности вследствие ненадлежащего исполнения лицом своих профессиональных обязанностей» Уголовного Кодекса Российской Федерации⁴.

Описанные случаи указывают на необходимость разработки и внедрения в широкую практику дополнительных мер детального правового регулирования и контроля над применением ЛП «off-label».

Правовое регулирование применения ЛП «off-label» в Российской Федерации и за рубежом

Правовое регулирование применения и выписывания ЛП «off-label» в Российской Федерации сегодня весьма неоднозначно. Возможность применения ЛП в данном варианте достаточно поверхностно указана в п. 15 ст. 37 «Организация оказания медицинской помощи» Федерального Закона № 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации», согласно которому «назначение и применение лекарственных препаратов, медицинских изделий и специализированных продуктов лечебного питания, не входящих в соответствующий стандарт медицинской помощи или не предусмотренных соответствующей клинической рекомендацией, допускаются в случае наличия медицинских показаний (индивидуальной непереносимости, по жизненным показаниям) по решению врачебной комиссии». При этом подчеркнуто, что «действие данного требования может быть изменено в отношении медицинских организаций частной системы здравоохранения – участников экспериментального правового режима в сфере цифровых инноваций в соответствии с программой экспериментального правового режима в сфере цифровых инноваций»⁵.

При этом согласно приказу Минздрава России от 2 декабря 2013 года № 886н состав и порядок работы врачебной комиссии определяется руководителем медицинской организации. Врачебная комиссия должна включать в себя председателя, одного или двух заместителей

председателя, секретаря и членов комиссии (заведующие подразделений, врачи-специалисты)⁶.

О порядке назначения ЛП косвенно говорится еще в ряде нормативно-правовых актов, однако нигде однозначно не сказано о разрешении или запрете на применение ЛП «off-label». Одним из таких документов, ранее регулирующих использование ЛП, был Порядок назначения и выписывания лекарственных препаратов (Приложение № 1 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 20 декабря 2012 г. № 1175н)⁷. В п. 6.1 данного документа было сказано о запрете медицинским работникам выписывать ЛП при отсутствии медицинских показаний, однако не указано, что это должны быть именно показания, прописанные в инструкции к ЛП. В то же время в 2017 году проходило общественное обсуждение Проекта Приказа Минздрава, вносящего изменения в указанный порядок, согласно которым по решению врачебной комиссии в определённых случаях предлагалось разрешить использовать ЛП «по жизненным показаниям, отличным от показаний для применения, содержащихся в инструкции». Документ вызвал широкий общественный резонанс, однако данные изменения в Порядок не были внесены. Действующий документ Приложение № 1 к Приказу Министерства здравоохранения РФ от 24.11.2021 г. № 1094н «Об утверждении Порядка назначения лекарственных препаратов» в ст. 1 п. 7 гласит, что «Медицинским работникам запрещается оформлять рецепты при отсутствии у пациента медицинских показаний на незарегистрированные лекарственные препараты»⁸. Однако в том же нормативно-правовом акте в ст. 1 п. 5 говорится о возможности назначения ЛП, не входящего в стандарты медицинской помощи, через врачебную комиссию со ссылкой на ст. 37 п. 15 Федерального закона № 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации». Решение врачебной

⁶ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 2 декабря 2013 г. № 886н «О внесении изменений в Порядок создания и деятельности врачебной комиссии медицинской организации, утвержденный приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 5 мая 2012 г. № 502н, и в Порядок назначения и выписывания лекарственных препаратов, утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20 декабря 2012 г. № 1175н» (с изменениями и дополнениями). – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://base.garant.ru/70551698/>.

⁷ Порядок назначения и выписывания лекарственных препаратов. Приложение № 1 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 20 декабря 2012 г. N 1175н. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://base.garant.ru/70404898/53f89421bbdaf741eb2d1ecc4ddb4c33/#ixzz5lCKu1Xnz>.

⁸ Приказ Минздрава России от 24.11.2021 № 1094н «Об утверждении Порядка назначения лекарственных препаратов, форм рецептурных бланков на лекарственные препараты, Порядка оформления указанных бланков, их учета и хранения, форм бланков рецептов, содержащих назначение наркотических средств или психотропных веществ, Порядка их изготовления, распределения, регистрации, учета и хранения, а также Правил оформления бланков рецептов, в том числе в форме электронных документов» – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_401865/.

⁴ Решение по делу о причинении смерти по неосторожности вследствие ненадлежащего исполнения лицом своих профессиональных обязанностей. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://oktiabrsky.bur.sudrf.ru/modules.php?name=press_dep&or=1&did=135.

⁵ Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 26.03.2022) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 10.04.2022) – [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895/7964563436c4bb0aed73d388df1a95d9103b632/.

комиссии медицинской организации фиксируется в медицинской документации пациента и в журнале врачебной комиссии.

Поправки к Федеральному закону № 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации», которые позволяют использовать вне инструкции («off-label») лекарства для лечения несовершеннолетних с определёнными заболеваниями или состояниями вступили в силу 29 июня 2022 года. Их перечень был утвержден распоряжением Правительства Российской Федерации № 1180н-р от 16.05.2022 г. («Перечень заболеваний, при которых возможно использование лекарственных средств «off-label»)⁹. В данный список вошли новообразования, болезни крови, органов дыхания, эндокринной и нервной систем, психические расстройства и др. Также в указанный документ были внесены коды Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), состояний и групп состояний по беременности, родам, послеродовому периоду.

Важным аспектом в назначении ЛП «off-label» является информирование пациента лечащим врачом – несовершеннолетнего, одного из его родителей (законного представителя) о применении препарата «off-label». Согласно ст. 20 Федерального закона № 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации» пациент должен быть информирован о безопасности лекарства, ожидаемом результате, степени риска и действиях в случае непредвиденных эффектов.

Также во введенных поправках согласно ст. 37 п. 14.1 Федерального закона № 323-ФЗ «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации» с изм. от 13.07.2022 г. значится разрешение о внесении ЛП «off-label» в клинические рекомендации и стандарты медицинской помощи детям, в инструкциях которых (в разделе дозировок и способов применения) данная категория населения отсутствует. Важно отметить, что это относится к лекарственным средствам, имеющим регистрацию на территории Российской Федерации, к заболеваниям и состояниям, включённым в «Перечень заболеваний, при которых возможно использование лекарственных средств «off-label».

В п. 1 и п. 2 ст. 67 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» с изм. от 14.07.22 указано, что информация о ЛП может содержаться в специализированных изданиях, инструкциях по применению ЛП, научных публикациях и др., но не регламентировано каким образом врач может пользоваться информацией, полученной в тех или иных источниках¹⁰. Отдельно подчеркивается, что рекламные материалы о ЛП, отпускаемом без рецепта, должны соответствовать инструкции по применению ЛП [46].

⁹ Там же.

¹⁰ Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 № 61-ФЗ с изм. от 14.07.2022 г. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/7072622692d160a804b7ba320189a2338752ee81/.

Согласно Приказу Минздрава РФ от 10.05.2017 № 203Н «Об утверждении критериев качества оценки медицинской помощи», назначение ЛП для медицинского применения должно осуществляться с учётом инструкции по применению ЛП, однако насколько непреклонно должна учитываться инструкция, не сказано¹¹. В этом же Приказе закреплено обязательное внесение записи в амбулаторную карту при назначении ЛП для медицинского применения и применении медицинских изделий по решению врачебной комиссии медицинской организации.

В то же время не следует забывать о ситуациях уголовной ответственности при назначении ЛП. В случае причинения тяжкого вреда здоровью или смерти пациента действия врача могут попадать под положения ст. 109 «Причинение смерти по неосторожности вследствие ненадлежащего исполнения лицом своих профессиональных обязанностей», ст. 118 «Причинение тяжкого вреда здоровью по неосторожности вследствие ненадлежащего исполнения лицом своих профессиональных обязанностей», либо ст. 238 «Оказание услуг, не отвечающих требованиям безопасности» Уголовного Кодекса Российской Федерации. При этом исключениями являются неблагоприятные исходы в условиях крайней необходимости и/или обоснованного риска. Следует понимать, что согласно ст. 39 Уголовного кодекса Российской Федерации, ситуацией крайней необходимости является наличие опасности, «непосредственно угрожающей личности и правам данного лица или иных лиц, охраняемым законом интересам общества или государства, если эта опасность не могла быть устранена иными средствами и при этом не было допущено превышения пределов крайней необходимости»¹². При этом согласно ст. 41 Уголовного кодекса, обоснованным является риск в той ситуации, когда поставленная цель не может быть достигнута другими, не связанными с риском действиями или бездействием и субъект, допустивший риск, предпринял достаточные меры для профилактики развития нежелательных побочных явлений.

Применение ЛП «off-label» может также повлечь дисциплинарную (в случае несоблюдения должностных обязанностей или нарушения требований Трудового Кодекса Российской Федерации) или гражданско-правовую (для медицинской организации) ответственность [47].

В своей статье Габай П.Г. и Багмет Н.А. (2017) указывают на возможность освобождения

¹¹ Приказ Минздрава РФ от 10.05.2017 № 203Н «Об утверждении критериев качества оценки медицинской помощи». – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=293575>.

¹² Уголовный кодекс Российской Федерации от 13.06.1996 № 63-ФЗ (ред. от 25.03.2022). – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_10699/.

медицинской организации от возмещения вреда здоровью пациента в случае назначения ЛП «off-label» для устранения опасности жизни или здоровью в отсутствие других возможных способов и при подписании перед назначением препарата информированного добровольного согласия, однако подчеркивается, что эта возможность не всегда может быть реализована [48].

Вопрос регулирования применения ЛП «off-label» в США и странах Европы имеет более длительную историю. В США назначение ЛП «off-label» считается допустимым после регистрации препарата в FDA по решению лечащего врача в случае информированного согласия пациента [21]. В Германии в 2007 году были выработаны следующие условия для применения препаратов вне показаний: наличие у больного жизнеугрожающей патологии или заболевания, значительно снижающего качество его жизни; отсутствие клинически доказанных специфических препаратов для лечения данного заболевания; наличие КИ, демонстрирующих эффективность ЛП «off-label» в аналогичных клинических ситуациях; принятие решения о назначении препарата экспертной комиссией [18, 49].

Работа над принципами регулирования применения ЛП вне инструкции проходила и на общеевропейском уровне, результатом чего стало предложение по созданию надлежащей практики использования лекарств не по прямому назначению (Good Off-Label Use Practices, GOLUP), сформулированной в Декларации EMA (European Medicines Agency, Европейское агентство лекарственных средств), согласно которому применение ЛП «off-label» должно иметь место только в случае соблюдения всех указанных ниже условий:

1. Наличие тяжёлого заболевания, ставящего под угрозу жизненно важные функции или опасного для жизни;
2. Отсутствие разрешённого к применению ЛС или повторяющийся неблагоприятный исход применения имеющихся препаратов;
3. Отсутствие альтернативных способов лечения, предписанных для конкретного состояния;
4. Наличие данных, подтверждающих эффективность применения данного ЛП «off-label»;
5. Наличие информированного добровольного согласия пациента на применение ЛП «off-label»;
6. Наличие установленных способов отчётности о НР, связанных с не предусмотренным инструкцией применением [46, 50].

Необходимо отметить, что данная Декларация в ЕС не имеет статуса нормативно-правового акта, вопрос о введении документов, регулирующих использование ЛП «off-label» в настоящее время решается. В то же время в странах Европы существуют

отдельные регуляторные документы, такие как временные рекомендации по использованию ЛП, меры по регулированию возмещения [19].

Мнения и рекомендации экспертов по вопросам практики применения ЛП «off-label» по результатам глубинных интервью

Большинство экспертов (8 из 11 опрошенных) оценили факт назначения ЛП «off-label» специалистами подразделений как рутинную практику. При этом не зарегистрированные ЛП в России врачами не применяются, однако при необходимости их применение возможно только путём подачи заявления в Минздрав по программам расширенного доступа.

В качестве показаний, требующих наиболее частого применения ЛП «off-label», эксперты отметили онкологические и гематологические заболевания. При этом, при ОРВИ взрослым ЛП «off-label» мало назначают, а детям – почти каждому.

Большинство экспертов (9 из 11 опрошенных) уточнили, что ЛС «off-label» применяются, как правило, по поводу основного заболевания, а не для терапии его осложнений или сопутствующей патологии. По мнению экспертов, основная цель таких назначений – повышение возможности выздоровления пациента, страдающего потенциально смертельным заболеванием: обычно назначение «off-label» производится в ситуациях, когда для лечения той или иной группы пациентов доступные зарегистрированные ЛП отсутствуют, либо возможности терапии согласно инструкциям исчерпаны.

Меньшая часть экспертов (2 из 11 опрошенных) отметили, что встречаются случаи неоплаты назначения ЛП «off-label» или штрафов со стороны страховых компаний, указав, что штрафы есть, частота их наложения не известна. Основной повод для подобных санкций – качество оформления консилиумов (например, если не указана альтернативная схема приёма препарата).

Важным представляется упоминание экспертами основных организационных недостатков системы применения назначений ЛП «off-label»:

- «требуется проведение повторных консилиумов, например, для редукции доз препаратов, проводится повторная оплата консилиума. Имеются частые отказы в реализации рекомендаций федерального центра по месту жительства»;
- «имеется необходимость в создании в России условий, при которых регистрация российских ЛП в ЕС и США максимально была бы близка по времени регистрации в нашей стране и странах Евразийского экономического союза (ЕАЭС)»;
- «сложности в регистрации новых показаний, отсутствие активности производителя

по коррекции показаний в уже давно используемом зарегистрированном ЛС»;

- «низкая активность фармакологических компаний в отношении информирования об эффективности и безопасности применения ЛП «off-label» при лечении узких групп пациентов, в том числе детей. Для повышения активности производителей ЛП нужны льготы, например, налоговые».
- «неравномерное территориальное размещение референс-центров (получение второго мнения – технические возможности и компетенции) и межрегиональных центров детской онкологии и гематологии. Крупные центры имеются только в Москве и Санкт-Петербурге, в результате происходит перегрузка их пациентами»;
- «наложение штрафов со стороны страховых медицинских организаций за применение ЛП «off-label» там, где это обосновано; ЛП, назначенные «off-label», не принимаются к оплате страховыми компаниями, отмечается низкий уровень финансирования клинко-статистических групп».

Серьезный интерес вызывают предложения экспертов по способам оптимизации применения ЛП «off-label» в клинической практике, включающие в себя:

- разработку этических норм назначения ЛП «off-label»;
- разработку законов прямого действия, не ограничивающих возможности врачей в назначении ЛП вне указанных в инструкции показаний;
- внесение в Национальный проект «Здравоохранение»¹³ обязательств регионов по вопросам лекарственного обеспечения;
- упрощение системы внесения новых показаний к назначению ЛП в существующую инструкцию по медицинскому применению;
- рекомендации по созданию перечня ЛП, используемых «off-label», имеющих клиническую доказательную базу с целью обеспечения беспрепятственного применения и оплаты в системе ОМС и ВМП. Оставив требование к врачу обосновать назначение ЛП, необходимо систематически анализировать работу врачей на предмет обоснованности применения ЛП «off-label» при том или ином заболевании.

Таким образом, по результатам глубинных интервью эксперты подтвердили факт регулярного назначения врачами «off-label» и необходимость совершенствования действующих правил

относительно их назначения. Практикующие эксперты отметили, что некоторые возможности оправдать назначение таких препаратов пациенту в действующем законодательстве все же есть – назначение ЛП «off-label» по жизненным показаниям через врачебную комиссию, через утвержденные Министерством здравоохранения клинические рекомендации и стандарты медицинской помощи. Цель назначения – спасение жизни пациента.

Организационными решениями, по мнению опрошенных экспертов, в разрешении коллизий в законодательстве и врачебной практике в вопросах назначения ЛП «off-label» могут быть: упрощение системы внесения новых показаний по ЛС в существующую инструкцию по медицинскому применению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании анализа литературных источников, нормативно-правовых документов, а также проведенного авторами качественного исследования можно заключить, что применение ЛП «off-label» является неизбежным практически в любой медицинской практике, о чём должны быть осведомлены все участники лечебного процесса.

Основным приоритетом при применении ЛП «off-label» должна выступать безопасность пациента. В связи с этим, обязательными условиями назначения терапии «off-label» должны быть следующие: отсутствие альтернативных способов лечения; наличие доказательной базы по применению ЛП; применение решения о назначении ЛП «off-label» только в рамках специализированных профильных медицинских учреждений; получение добровольного информированного согласия от пациента; обязательное соблюдение требований отчетности по случаям развития НР.

Как в Российской Федерации, так и в других странах правовое регулирование назначения ЛП «off-label» является неоднозначным. С целью расширения возможностей специалистов назначать ЛП «off-label» при одновременном сохранении должной степени государственного контроля за данным процессом, могут быть применены следующие организационные мероприятия: законодательное закрепление обязательств и ответственности региональных органов управления здравоохранением по вопросам лекарственного обеспечения; создание открытой и прозрачной системы применения ЛП «off-label» для пациентов и/или их законных представителей, обязательное полноценное информирование пациента о факте применения ЛП «off-label», а также риске и характере развития возможных НР; создание перечня ЛП «off-label», имеющих клиническую доказательную базу с целью обеспечения беспрепятственного применения

¹³ Национальные проекты «Здравоохранение» и «Демография». – [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravoohranenie>

и оплаты в системе ОМС и ВМП; упрощение процедуры внесения изменений в регистрационное удостоверение для ЛП «off-label», эффективность которых продемонстрирована в КИ высокого уровня доказательности.

Несмотря на отсутствие в настоящее время нормативно-правовых актов, разрешающих или запрещающих применение ЛП «off-label»

в Российской Федерации, при определённых обстоятельствах медицинские работники и/или организации могут нести дисциплинарную, административную или уголовную ответственность за назначение ЛП «off-label». Данный факт переводит рассмотренный в настоящем исследовании вопрос из медицинской плоскости в широкую область смежных дисциплин.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

С.В. Русских – разработка дизайна исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, редактирование статьи; Е.А. Тарасенко – научное консультирование, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование статьи; Л.И. Москвичева – сбор данных, написание и редактирование статьи; С.А. Орлов – научное консультирование, редактирование статьи; А.А. Трякин – научное консультирование; А.В. Воробьева – сбор, анализ и интерпретация данных, написание статьи; О.А. Бенеславская, В.И. Макарова, Е.А. Путилина, С.А. Уткин – сбор данных, редактирование статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Sahragardjoonegani B., Beall R.F., Kesselheim A.S., Hollis A. Repurposing existing drugs for new uses: a cohort study of the frequency of FDA-granted new indication exclusivities since 1997 // J Pharm Policy Pract. – 2021. – Vol. 14, No. 1. – Art. ID: 3. DOI: 10.1186/s40545-020-00282-8
2. Kwon J.H., Kim M.J., Bruera S., Park M., Bruera E., Hui D. Off-Label Medication Use in the Inpatient Palliative Care Unit // J Pain Symptom Manage. – 2017 Jul. – Vol. 54, No. 1. – P. 46–54. DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2017.03.014
3. Hagemann V., Bausewein C., Remi C. Off-label use in adult palliative care – more common than expected. A retrospective chart review. Eur J Hosp Pharm. – 2022. – Vol. 29, No. 6. – P. 329–335. DOI: 10.1136/ejpharm-2020-002554
4. Villamañán E., Sobrino C., Bilbao C., Fernández J., Herrero A., Calle M., Alvaro D., Segura M., Picazo G., Rodríguez J.M., Baldominos G., Ramirez M.T., Larrubia Y., Llorente J., Martinez A., Alvarez-Sala R. Off-label use of inhaled bronchodilators in hospitalised patients in Spain: a multicentre observational study // Eur J Hosp Pharm. – 2021 Nov. – Vol. 28, Suppl. 2. – P. 23–28. DOI: 10.1136/ejpharm-2019-002171
5. Howe K., Bourke S., Sansom L. The extent to which off-patent registered prescription medicines are used for off-label indications in Australia: A scoping review // PLoS One. – 2021. – Vol. 16, No. 12. – Art. ID: 0261022. DOI: 10.1371/journal.pone.0261022
6. van Norman G.A. Off-Label Use vs Off-Label Marketing of Drugs: Part 1: Off-Label Use-Patient Harms and Prescriber Responsibilities // JACC Basic Transl Sci. – 2023. – Vol. 8, No. 2. – P. 224–233. DOI: 10.1016/j.jacbts.2022.12.011
7. Papthanasious M., Rpharwar A., Kamler M., Rassaf T., Luedike P. Off-label use of pulmonary vasodilators after left ventricular assist device implantation: calling in the evidence // Pharm Ther. – 2020. – Vol. 214. – Art. ID: 107619. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107619.
8. Werner N., Renker M., Dörr O., Bauer T., Nef H., Choi Y.H., Hamm C.W., Zahn R., Kim W.K. Anatomical suitability and off-label use of contemporary transcatheter heart valves // Int J Cardiol. – 2022. – Vol. 350. – P. 96–103. DOI: 10.1016/j.ijcard.2021.12.044
9. Bell J.S., Richards G.C. Off-label medicine use: ethics, practice and future directions // Aust J Gen Pract. – 2021. – Vol. 50, No. 5. – P. 329–331. DOI: 10.31128/AJGP-08-20-5591
10. Moulis F., Durrieu G., Lapeyre-Mestre M. Off-label and unlicensed drug use in children population // Therapie. – 2018. – Vol. 73, No. 2. – P. 135–149. DOI: 10.1016/j.therap.2018.02.002
11. Syed S.A., Dixon B.A., Constantino E., Regan J. The Law and Practice of Off-Label Prescribing and Physician Promotion // J Am Acad Psychiatry Law. – 2021. – Vol. 49, No. 1. – P. 53–59. DOI: 10.29158/JAAPL.200049-20
12. Balan S., Ahmad Hassali MA, Mak VSL. Attitudes, knowledge and views on off-label prescribing in children among healthcare professionals in Malaysia // Int J Clin Pharm. – 2019. – Vol. 41, No. 4. – P. 1074–1084. DOI: 10.1007/s11096-019-00862-y
13. Niedźwiedź M., Skibińska M., Narbutt J., Lesiak A. Off-label medications in the treatment of hospitalized children with atopic dermatitis // Postepy Dermatol Alergol. – 2023. – Vol. 40, No. 1. – P. 72–77. DOI: 10.5114/ada.2022.119967
14. Taylor B.C., Triplet J.J., El-Sabawi T.J. Share Off-Label Use in Orthopaedic Surgery // Am Acad Orthop Surg. – 2019. – Vol. 27, No. 17. – P. 767–774. DOI: 10.5435/JAAOS-D-18-00038
15. Marjolein W., Lisman J., Hoebeert J. Study on off-label use of medicinal products in the European Union – Report, Publications Office. – European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety. – 2019.

16. Li Q.Y., Lv Y., An Z.Y., Dai N.N., Hong X., Zhang Y., Liang L.J. Ethical review of off-label drugs during the COVID-19 pandemic // *World J Clin Cases.* – 2022. – Vol. 10, No. 17. – P. 5541–5550. DOI: 10.12998/wjcc.v10.i17.5541
17. Tucker K., Günther K.P., Kjaersgaard-Andersen P., Lütznier J., Kretzer J.P., Nelissen R.G.H.H., Lange T., Zagra L. EFORT recommendations for off-label use, mix & match and mismatch in hip and knee arthroplasty // *EFORT Open Rev.* – 2021. – Vol. 6, No. 11. – P. 982–1005. DOI: 10.1302/2058-5241.6.210080
18. Сомова М.Н., Батищева Г.А. Правовые аспекты назначения лекарственных препаратов off-label // *Прикладные информационные аспекты медицины.* – 2016. – Т. 19, № 3. – С. 139–143.
19. Agarwal V. Off-label Medication Use: A Double-edged Sword // *Indian J Crit Care Med.* – 2021. – Vol. 25, No. 8. – P. 845–846. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23951
20. Raut A., Krishna K., Adake U., Sharma A.A., Thomas A., Shah J. Off-label Drug Prescription Pattern and Related Adverse Drug Reactions in the Medical Intensive Care Unit // *Indian J Crit Care Med.* – 2021. – Vol. 25, No. 8. – P. 872–877. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23909
21. Rusz C.M., Ősz B.E., Jitcă G., Miklos A., Bătrînu M.G., Imre S. Off-Label Medication: From a Simple Concept to Complex Practical Aspects // *Int J Environ Res Public Health.* – 2021. – Vol. 18, No. 19. – Art. ID: 10447. DOI: 10.3390/ijerph181910447
22. Wang J., Jiang F., Yang Y., Zhang Y., Liu Z., Qin X., Tao X., Liu T., Liu Y., Tang Y.L., Liu H., Cotes R.O. Off-label use of antipsychotic medications in psychiatric inpatients in China: a national real-world survey // *BMC Psychiatry.* – 2021. – Vol. 21, No. 1. – Art. ID: 375. DOI: 10.1186/s12888-021-03374-0
23. van der Zanden T.M., Mooij M.G., Vet N.J., Neubert A., Rascher W., Lagler F.B., Male C., Grytli H., Halvorsen T., de Hoog M., de Wildt S.N. Benefit-Risk Assessment of Off-Label Drug Use in Children: The Bravo Framework // *Clin Pharmacol Ther.* – 2021. – Vol. 110, No. 4. – P. 952–965. DOI: 10.1002/cpt.2336
24. Ribeiro F., Falcão M.S. Off-Label Use of 0.19 mg Fluocinolone Acetonide Intravitreal Implant: A Systematic Review // *J Ophthalmol.* – 2021. – Vol. 2021. – Art. ID: 6678364. DOI: 10.1155/2021/6678364
25. Tayeb B.O., Winegarden J.A., Alashari R.A., Alasmari M., Winegarden J., Boker F., Halawi A., Lapidow A., Bradshaw Y.S., Carr D.B. Scoping Review of Off-Label Topical Analgesia in Palliative, Hospice and Cancer Care: Towards Flexibility in Evidence-Based Medicine // *J Pain Res.* – 2021. – Vol. 14. – P. 3003–3009. DOI: 10.2147/JPR.S263845
26. Shakeel S., Nesar S., Rehman H., Jamil K., Mallick I.A., Mustafa M.S., Anwar M., Jamshed S. Patterns and Predictors of Off-Label Drug Prescribing in Psychiatric Practice: A Qualitative Study // *Pharmacy (Basel).* – 2021. – Vol. 9, No. 4. – Art. ID: 203. DOI: 10.3390/pharmacy9040203.
27. Кузнецова Е.Ю., Овчинникова П.П., Семёнцева А.С. Проблема применения лекарственных препаратов «off-label» в России // *Международный научно-исследовательский журнал.* – 2020. – Т. 9–1, № 99. – С. 133–138. DOI: 10.23670/IRJ.2020.99.9.022
28. Shoulders B.R., Smithburger P.L., Tchen S., Buckley M., Lat I., Kane-Gill S.L. Characterization of Guideline Evidence for Off-label Medication Use in the Intensive Care Unit // *Ann Pharmacother.* – 2017. – Vol. 51, No. 7. – P. 529–542. DOI: 10.1177/1060028017699635
29. Fung A., Yue X., Wigle P.R., Guo J.J. Off-label medication use in rare pediatric diseases in the United States // *Intractable Rare Dis Res.* – 2021. – Vol. 10, No. 4. – P. 238–245. DOI: 10.5582/irdr.2021.01104
30. Shen N.N., Zhang C., Hang Y., Li Z., Kong L.C., Wang N., Wang J.L., Gu Z.C. Real-World Prevalence of Direct Oral Anticoagulant Off-Label Doses in Atrial Fibrillation: An Epidemiological Meta-Analysis // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 581293. DOI: 10.3389/fphar.2021.581293
31. Gordon N., Goldstein D.A., Tadmor B., Stemmer S.M., Greenberg D. Factors Associated With Off-Label Oncology Prescriptions: The Role of Cost and Financing in a Universal Healthcare System // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 754390. DOI: 10.3389/fphar.2021.754390
32. Saiyed M.M., Ong P.S., Chew L. Off-label drug use in oncology: a systematic review of literature // *J Clin Pharm Ther.* – 2017. – Vol. 42, No. 3. – P. 251–258. DOI: 10.1111/jcpt.12507
33. Тарабукина С.М., Дрёмова Н.Б. Проблема изготовления в больничной аптеке лекарственных препаратов, назначаемых «off-label». Современная организация лекарственного обеспечения. – 2021. – Т. 8, № 1. – С. 106–108. DOI: 10.30809/solo.1.2021.36
34. Gore R., Chugh P.K., Tripathi C.D., Lhamo Y., Gautam S. Pediatric Off-Label and Unlicensed Drug Use and Its Implications // *Curr Clin Pharmacol.* – 2017. – Vol. 12, No. 1. – P. 18–25. DOI: 10.2174/1574884712666170317161935
35. Alyami D., Alyami A.A., Alhossan A., Salah M. Awareness and Views of Pharmacists and Physicians Toward Prescribing of Drugs for Off-Label Use in the Pediatric Population in Saudi Arabia // *Cureus.* – 2022. – Vol. 14, No. 3. – Art. ID: e23082. DOI: 10.7759/cureus.23082
36. Pratico A.D., Longo L., Mansueto S., Gozzo L., Barberi I., Tiralongo V., Salvo V., Falsaperla R., Vitaliti G., La Rosa M., Leonardi S., Rotondo A., Avola N., Sgarlata D., Damiano A., Tirantello M., Anzelmo G., Cipolla D., Rizzo A., Russo A., Ruggieri M., Salomone S., Drago F. Off-Label Use of Drugs and Adverse Drug Reactions in Pediatric Units: A Prospective, Multicenter Study // *Curr Drug Saf.* – 2018. – Vol. 13, No. 3. – P. 200–207. DOI: 10.2174/1574886313666180619120406
37. Прядкина Е.А., Прядкин И.И., Грацианская А.Н., Ермилин А.Е. Исследование назначений off-label в отделении педиатрического дневного стационара гематологического и онкологического профиля. Медицинский алфавит. – 2018. – Т. 1, № 12. – С. 54–54.
38. Neubert A., Dormann H., Weiss J., Egger T., Crieggee-Rieck M., Rascher W., Brune K., Hinz B. The impact of unlicensed and off-label drug use on adverse drug reactions in paediatric patients // *Drug Saf.* – 2004. – Vol. 27, No. 13. – P. 1059–1067. DOI: 10.2165/00002018-200427130-00006
39. Eguale T., Buckeridge D.L., Verma A., Winslade N.E., Benedetti A., Hanley J.A., Tamblyn R. Association of Off-label Drug Use and Adverse Drug Events in an Adult Population // *JAMA Intern Med.* – 2016. – Vol. 176, No. 1. – P. 55–63. DOI: 10.1001/jamainternmed.2015.6058
40. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А. Роль «off-label» назначений как фактора возникновения нежелательных побочных реакций на лекарственные средства в педиатрической практике // *Вопросы практической педиатрии.* – 2018. Т. 13, № 4. – С. 18–24. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-4-18-24

41. Abena P.M., Decloedt E.H., Bottieau E., Suleman F., Adejumo P., Sam-Agudu N.A., Muyembe Tamfum J.J., Seydi M., Eholie S.P., Mills E.J., Kallay O., Zumla A., Nachega J.B. Chloroquine and Hydroxychloroquine for the Prevention or Treatment of COVID-19 in Africa: Caution for Inappropriate Off-label Use in Healthcare Settings // *Am J Trop Med Hyg.* – 2020. – Vol. 102, No. 6. – P. 1184–1188. DOI: 10.4269/ajtmh.20-0290
42. Lanphier E., Fyfe S. Pediatric Off-Label Use of Covid-19 Vaccines: Ethical and Legal Considerations // *Hastings Cent Rep.* – 2021. – Vol. 51, No. 6. – P. 27-32. DOI: 10.1002/hast.1296
43. Ho T.C., Wang Y.H., Chen Y.L., Tsai W.C., Lee C.H., Chuang K.P., Chen Y.A., Yuan C.H., Ho S.Y., Yang M.H., Tyan Y.C. Chloroquine and Hydroxychloroquine: Efficacy in the Treatment of the COVID-19 // *Pathogens.* – 2021 Feb 17. – Vol. 10, No. 2. – Art. ID: 217. DOI: 10.3390/pathogens10020217
44. Weinstein O., Abu Tailakh M., Lifshitz T. Novack V., Levy J. Intravitreal bevacizumab treatment for neovascular age-related macular degeneration and thromboembolic events // *Eur J Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 30, No. 1. – P. 66–71. DOI: 10.1177/1120672118823128
45. Вольская Е. Узкие границы свободы: применение лекарственных препаратов вне инструкции // *Ремедиум.* – 2017. – № 7–8. – С. 6–10. DOI: 10.21518/1561-5936-2017-7-8-6-10
46. Каминская О.Н., Грачева Т.Ю. Юридические аспекты вакцинация off-label // *Медицинское право: теория и практика.* – 2019. – Т. 5, № 2(10). – С. 111–116.
47. Цыганова О.А. Правовые последствия назначения «off-label» терапии. Медицинское право: теория и практика. – 2017. – Т. 3, № 2(6). – С. 341–346.
48. Габай П.Г., Багмет Н.А. Использование лекарственных средств офф-лейбл: ответственность медицинского работника и медицинской организации. Российский следователь. – 2017. – Т. 17. – С. 19–24.
49. Ditsch N., Kümper C., Summerer-Moustaki M., Rückert S., Toth B., Lenhard M., Strauss MA. Off-label use in Germany – a current appraisal of gynecologic university departments // *Eur J Med Res.* – 2011. – Vol. 16, No. 1. – P. 7–12. DOI: 10.1186/2047-783x-16-1-7
50. Гиляревский С.Р. Назначение лекарственных препаратов по показаниям, не указанным в инструкции («off-label»): сложная проблема современной клинической практики. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2020. – Т. 16, № 2. – С. 324–334. DOI: 10.20996/1819-6446-2020-04-14

АВТОРЫ

Русских Сергей Валерьевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела изучения образа жизни и охраны здоровья человека ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко»; доцент кафедры теории и практики государственного управления НИУ «Высшая школа экономики». ORCID ID: 0000-0002-3292-1424. E-mail: srusskikh@hse.ru

Тарасенко Елена Анатольевна – кандидат социологических наук, доцент кафедры управления и экономики здравоохранения НИУ «Высшая школа экономики». ORCID ID: 0000-0001-5070-1735. E-mail: etarasenko@hse.ru

Москвичева Людмила Ивановна – врач-онколог кабинета ультразвуковой диагностики и терапии МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5750-8492. E-mail: ludamed16@mail.ru

Орлов Сергей Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела изучения образа жизни и охраны здоровья человека «Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко»; старший научный сотрудник отдела научно-стратегического развития первичной медико-санитарной помощи ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8749-8504. E-mail: orlovsergio@mail.ru

Трякин Алексей Александрович – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе, заведующий онкологическим отделением лекарственных методов лечения

(химиотерапевтическое) № 2 НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-2245-214X. E-mail: atyakin@mail.ru

Воробьева Анна Владимировна – аспирант 3-го года, младший научный сотрудник ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко». ORCID ID: 0000-0003-4609-5343. E-mail: vorobievaanna2010@yandex.ru

Бенеславская Ольга Александровна – младший научный сотрудник отдела исследований общественного здоровья ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко». ORCID ID: 0000-0003-3757-5062. E-mail: beneslavskaya@yandex.ru

Макарова Вероника Игоревна – младший научный сотрудник отдела исследования общественного здоровья ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко». ORCID ID: 0000-0002-5276-2133. E-mail: veronikka.makarova.8@mail.ru

Путилина Екатерина Александровна – главный врач Российской детской клинической больницы – филиала ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9245-5659. E-mail: eapronina@yandex.ru

Уткин Сергей Александрович – заместитель директора по клинико-экспертной работе Российской детской клинической больницы – филиала ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. ORCID ID: 0009-0007-9278-439X. E-mail: utkinsa@mail.ru

УДК 615.12:615.07(476)



Новая роль экстемпорального изготовления в регулировании доступа лекарственных препаратов на рынок

А.В. Алехин^{1,2}, Т.Н. Эриванцева³, В.В. Ряженев⁴, Н.Б. Лысков³, Н.А. Алехина⁴, М.М. Кузнецова⁴

¹ Министерство промышленности и торговли Российской Федерации,
125039, Россия, г. Москва, Пресненская наб., д. 10, стр. 2 (Башня 2)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана
(национальный исследовательский университет)»,
125039, Россия, г. Москва, Пресненская наб., д. 10, стр. 2

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный институт промышленной собственности»,
125993, Россия г. Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб., д. 30, корп. 1

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет),
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

E-mail: erivantseva@rupto.ru

Получена 15.03.2023

После рецензирования 25.04.2023

Принята к печати 10.05.2023

Цель. Изучение юридических аспектов законодательного регулирования по изготовлению лекарственных препаратов в аптечной организации.

Материалы и методы. В качестве поисковых источников использовали базы данных КонсультантПлюс, Киберленинка, Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA), National Center for Biotechnology Information (NCBI), PubMed, e-library, WIPO Lex. Поиск проводился по следующим ключевым словам и словосочетаниям: intellectual property, pharmacies+invention, patent, medicinal+preparations, extemporal+production, orphan+diseases, а также по их русскоязычным аналогам. Были найдены 133 источника информации, включавшие научные статьи и нормативно-правовые акты; 50 включены в настоящий обзор. Анализ источников информации, опубликованных с 2013 по 2023 гг., определяли особенностями изменения законодательства в указанной сфере.

Результаты. В статье был приведён обзор современной, в т.ч. нормативной практики, аптечного изготовления в Российской Федерации, а также проанализированы преимущества указанной деятельности для медицинского сообщества, пациентов и государства. Одновременно индивидуализация медикаментозного лечения позволила выработать системные решения для отработки методик лекарственной терапии для особых групп пациентов, для которых экономическая целесообразность регистрации и вывода лекарственных препаратов на рынок поставлена под сомнение. Кроме того, аптечное изготовление является доступным инструментом в изучении лекарственных препаратов, назначенных врачом не в соответствии с инструкцией по медицинскому применению («off-label») или в лекарственных формах/дозировках, отсутствующих на рынке. Экстемпоральное изготовление также может быть частью процесса «репозиционирования» лекарственных препаратов на рынке при условии соблюдения требований к аптечному изготовлению и контролю безопасности назначаемых средств. Также возможность аптечного изготовления лекарственных препаратов позволит частично разрешить вопросы, связанные с интеллектуальной собственностью. В результате проведённого анализа была подтверждена гипотеза о том, что законодательные изменения имеют схожую правовую оценку как в России, так и за рубежом и соответствуют правовой практике при разрешении вопросов интеллектуальной собственности применительно к аптечным организациям.

Заключение. Возрождение аптечного производства позволит улучшить доступность лекарственной помощи населению с учётом индивидуальных дозировок и лекарственных форм в различных терапевтических направлениях, а также может стать инструментом «репозиционирования» лекарственных препаратов или клинической апробации новых молекул для редких неизлечимых заболеваний.

Ключевые слова: лекарственные препараты; аптечные организации; экстемпоральное изготовление; орфанные заболевания; патент; изобретение; интеллектуальная собственность

Список сокращений: ЛП – лекарственный препарат; ЛФ – лекарственная форма; ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств; ГК РФ – Гражданский Кодекс Российской Федерации; ЕАПК – Евразийская Патентная Конвенция; ВОИС – Всемирная организация интеллектуальной собственности; ДПА – Закон о патентах Нидерландов.

Для цитирования: А.В. Алехин, Т.Н. Эриванцева, В.В. Ряженев, Н.Б. Лысков, Н.А. Алехина, М.М. Кузнецова. Новая роль экстемпорального изготовления в регулировании доступа лекарственных препаратов на рынок. *Фармация и фармакология*. 2023;11(2):161-172. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-161-172

© А.В. Алехин, Т.Н. Эриванцева, В.В. Ряженев, Н.Б. Лысков, Н.А. Алехина, М.М. Кузнецова, 2023

For citation: A.V. Alekhin, T.N. Erivantseva, V.V. Ryazhenov, N.B. Lyskov, N.A. Alekhina, M.M. Kuznetsova. New role of extemporaneous manufacturing in regulating drug products access onto the market. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):161-172. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-2-161-172

New role of extemporaneous manufacturing in regulating drug products access onto the market

A.V. Alekhin^{1,2}, T.N. Erivantseva³, V.V. Ryazhenov⁴, N.B. Lyskov³, N.A. Alekhina⁴, M.M. Kuznetsova⁴

¹ Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation,
Bld. 2 (Tower 2), 10, Presnenskaya Emb., Moscow, Russia, 125039

² Bauman Moscow State Technical University (National Research University),
Bld. 2, 10, Presnenskaya Emb., Moscow, Russia, 125039

³ Federal Institute of Industrial Property,
Bld. 1, 30, Berezhkovskaya Emb., GSP-3, G-59, Moscow, Russia, 125993

⁴ Sechenov First Moscow State Medical University,
Bldg. 2, 8, Trubetskaya Str., Moscow, Russia, 119991

E-mail: erivantseva@rupto.ru

Received 15 March 2023

After peer review 25 April 2023

Accepted 10 May 2023

The aim of the work was to study the legal aspects of the legislative regulation for manufacturing medicines in a pharmacy organization.

Materials and methods. Databases of ConsultantPlus, Cyberleninka, Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA), National Center for Biotechnology Information (NCBI), PubMed, e-library, WIPO Lex were used as search sources. The search was based on the following keywords and phrases: intellectual property, pharmacies+invention, patent, drugs, extemporal+production, orphan+diseases, as well as their Russian counterparts. 133 sources of information, including scientific articles and regulations, were found out; 50 have been included in this review. The analysis of information sources published from 2013 to 2023, was determined by the peculiarities of legislation changes in this area.

Results. The article provided an overview of modern, including regulatory practice, pharmaceutical manufacturing in the Russian Federation, and also analyzed the benefits of this activity for the medical community, patients and the state. At the same time, the individualization of drug treatment has made it possible to work out systemic solutions for developing drug therapy methods for special groups of patients for whom the economic feasibility of a pharmaceutical registration and launching such drugs onto the market has been brought into challenge. In addition, pharmacy manufacturing is an accessible tool in the study of the drugs prescribed by a doctor not in accordance with the instructions for medical use (off-label) or in the dosage forms/dosages that are not on the market. Extemporaneous manufacturing can be also a part of the process of "repositioning" drugs on the market, subject to compliance with the requirements for pharmacy manufacturing and control of the prescribed drugs safety. The possibility of pharmaceutical drug manufacturing also makes it possible to partially resolve issues related to intellectual property. As a result of the carried out analysis, the following hypothesis was confirmed: the legislative changes have a similar legal assessment both in Russia and abroad and correspond to the legal practice in resolving intellectual property issues in relation to pharmacy organizations.

Conclusion. The renewal of a pharmacy production will improve the availability of the drug care to the population, taking into account individual dosages and dosage forms in various therapeutic areas, and can also become a tool for repositioning drugs or clinical testing of new molecules for rare incurable diseases.

Keywords: drugs; pharmacy organizations; extemporaneous production; orphan diseases; patent; invention; intellectual property

Abbreviations: DF - dosage form; SRMRs – State Register of Medicinal Remedies; CCRF – Civil Code of the Russian Federation; EPC – Eurasian Patent Convention; WIPO – World Intellectual Property Organization; DPA – Dutch Patent Act.

ВВЕДЕНИЕ

В России аптечным организациям на законодательном уровне разрешено заниматься изготовлением лекарственных препаратов (ЛП)¹. Экстемпоральное производство было широко распространено в стране до 1990-х годов, однако практически исчезло на фоне экономического кризиса и развития фармацевтической промышленности в 2000-х годах [1–4].

С сентября 2023 года в Российской Федерации вступают в силу изменения к ст. 56 «Изготовление и

отпуск лекарственных препаратов» федерального закона «Об обращении лекарственных средств»². Внесённые изменения предоставят право аптечным организациям при изготовлении ЛП по рецептам врачей использовать препараты, включённые в Государственные реестры лекарственных средств для медицинского применения, а также Единый реестр зарегистрированных лекарственных средств Евразийского экономического союза в установленном порядке.

Авторы статьи поставили цель изучить юридические аспекты законодательного нововведения по изготовлению ЛП в аптечной организации. Также авторами проведён обзор правового регулирования в части возможности использования промышленно произведённых ЛП

¹ Федеральный закон от 05.12.2022 № 502-ФЗ «О внесении изменений в статью 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств». Вступает в силу с 1 сентября 2023 года. [Принят Государственной Думой 22 ноября 2022 года: одобрен Советом Федерации 30 ноября 2022 года]. – М., 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_433279/.

² Там же.

при индивидуальном изготовлении препаратов без нарушения патентного законодательства [1, 5]. Были изучены вопросы правового регулирования патентного законодательства в Российской Федерации в рамках Евразийской Патентной Конвенции и на международном уровне.

ЦЕЛЬ. Анализ юридических аспектов законодательного регулирования по изготовлению лекарственных препаратов в аптечной организации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали общенаучные методы исследования. Информационный поиск осуществляли в базах данных Национального центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information, NCBI) и научной электронной библиотеки elibrary.ru, также были изучены пристатейные библиографические списки, использовали базы данных КонсультантПлюс, WIPO Lex (World Intellectual Property Organization), Киберленинка, Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA), PubMed. Нормативно-правовую базу составило законодательство Российской Федерации в сфере обращения ЛП, а также зарубежных стран и патентных конвенций. Предпочтение отдавали источникам, описывающим взаимосвязь экстермпорального аптечного изготовления и его нормативного регулирования, в т. ч. в сфере интеллектуальной собственности.

Поиск проводился по следующим ключевым словам и словосочетаниям: intellectual property, pharmacies+invention, patent, drugs, extemporal+production, orphan+diseases, а также по их русскоязычным аналогам. Были найдены 133 источника информации, включающие научные статьи и нормативно-правовые акты; 50 включены в настоящий обзор. Анализ источников информации, опубликованных с 2013 года по 2023 гг., определялся особенностями изменения законодательства в указанной сфере. Ряд найденных источников был удален в связи с отсутствием указанной взаимосвязи и повторами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние производственных аптек в России и его правовое регулирование

В Российской Федерации отсутствует единый реестр аптечных организаций. По данным компании AlphaRM на сентябрь 2021 года³ в стране насчитывалось 70 238 аптечных организаций разной формы собственности, из которых 2017 по данным Росздравнадзора имели право на изготовление ЛП. При этом реально работали только 460 производственных аптек. Практика аптечного изготовления была широко распространена в

стране, однако с 2007 года наметилась тенденция к сокращению внутриаптечного изготовления ЛП и уменьшению количества производственных аптек [5–7]. Одновременно это совпало с ростом фармацевтической промышленности в 2000-х годах. Аптечные организации стали получать меньше рецептов, выписанных врачами. Этому способствовал возросший импорт готовых лекарственных форм (ЛФ) в РФ, становление оптового и розничного звеньев [3, 7].

Особую роль сыграла государственная политика в сфере упорядочивания и стандартизации подходов к оказанию медицинской помощи, что в итоге привело к формализации назначений врачей. На законодательном уровне были закреплены государственные гарантии по оказанию медицинской помощи, которые распространяются исключительно на перечень ЛП промышленного производства⁴, что автоматически ограничило возможность врачей использовать все возможные опции лекарственной терапии. В то же время сохранилась необходимость в удовлетворении потребностей здравоохранения в ЛП, которые не выпускаются в промышленных масштабах [8–12], необходимость обеспечения пациентов препаратами с индивидуальным дозированием [13–15], изготовления ЛП и ЛФ для гериатрической [16] и детской популяции [17–20], пациентам с редкими заболеваниями [21, 22].

Сегодня аптечное изготовление призвано решить ряд проблем, связанных с предоставлением населению редких ЛП [23–26], что позволит обеспечить врачей и пациентов индивидуальными дозировками в индивидуальных ЛФ в различных терапевтических направлениях [27–29]. Это создает необходимость разработки правовых норм для регулирования экстермпорального производства [30–34], лекарственного обеспечения индивидуализированной терапии и социальных гарантий тем пациентам, которые в них нуждаются [35–38].

В 2022 году благодаря принятию поправок в законодательство⁵, производственные аптечные организации с 1 сентября 2023 года получают возможность при изготовлении препаратов, помимо фармацевтических субстанций (как это предусмотрено существующим порядком), использовать препараты, включённые в Государственные реестры лекарственных средств (ГРЛС). Указанное изменение в законодательстве открывает массу дополнительных преимуществ для аптечных организаций, врачей и пациентов [39]. В случае с использованием

³ Калиновская Е. Сколько производственных аптек осталось в России // Фармацевтический вестник. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmvestnik.ru/content/articles/Skolko-proizvodstvennyh-aptek-ostal-os-los-v-Rossii.html>

⁴ О Программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2023 год и на плановый период 2024 и 2025 годов: Постановление Правительства РФ от 29.12.2022 № 2497 // Официальный сайт Правительства Российской Федерации. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://static.government.ru/media/files/FQATIOfojXIUyX8cwI2X7ugk eKRrRGjb.pdf>

⁵ Федеральный закон от 05.12.2022 № 502-ФЗ «О внесении изменений в статью 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств».

готовых ЛФ заводского производства для изготовления препаратов по индивидуальному назначению, основным преимуществом станет возможность индивидуальной фасовки готовых ЛФ [40]. Это позволит улучшить контроль за приёмом препарата для пациента, снизить риски ошибок в его применении амбулаторно, а также уменьшить стоимость для пациента если назначенное количество доз существенно меньше минимального количества в зарегистрированной упаковке [41].

Кроме того, назначение препарата по индивидуальному рецепту врача, который будет перефасовываться аптечной организацией, фактически меняет юридический статус указанного ЛП. В случае если в инструкции по применению ЛП не содержится какого-либо показания, но в то же время в медицинской практике указанное действующее вещество показано для лечения иного заболевания, то назначение такого препарата может быть оплачено государством для льготной категории граждан⁶. Это в особенности важно и для исследователей лекарственных средств, которые могут таким образом изучить действие ЛП для ограниченной когорты пациентов, что может в дальнейшем стать основой для проведения клинических исследований с целью расширения показаний в инструкции. Такой процесс часто именуют «репозиционированием» ЛП в случае, если показание кардинально отличается от того, в отношении которого были проведены первичные клинические исследования [43].

В случае с изготовлением ЛП из разрешённых к выпуску в гражданский оборот фармацевтических субстанций преимущество изготовления индивидуальных ЛФ требует отдельного обсуждения. Во-первых, современные технологические возможности аптечных организаций позволяют перевести твёрдую форму в жидкую, однако здесь необходимо учитывать физико-химические свойства действующего вещества. К примеру, фармацевтическая субстанция дигоксин является нерастворимой в воде, что приводит к формированию осадка в водном растворе. Вместе с тем дигоксин может быть растворён в спирте этиловом, однако многие врачи в неонатологической практике видят серьёзные риски в назначении новорождённым спиртосодержащих препаратов [44]. В этой связи существует возможность использования суспензионной основы для получения равномерного распределения вещества и требуемых свойств. Во-вторых, доступность фармацевтических субстанций позволяет комбинировать различные действующие вещества для обеспечения удобства применения, что

открывает возможности для формирования новых комбинированных форм. Это в особенности важно в тех случаях, где необходимо учитывать воздействие разных веществ на различные мутации одного и того же генетического заболевания, или где требуется объединить несколько действующих веществ в одну ЛФ для обеспечения удобства применения. На основе данных, собранных от пациентов по применению таких ЛФ (серии случаев), можно обосновать проведение дальнейшего исследования ЛП [42]. В-третьих, при наличии фармацевтической субстанции (ввезённой или произведённой самостоятельно) возможно возобновить фармакотерапию популяции пациентов, для которой препарат ранее назначался, но по каким-то причинам его производство и/или поставки прекратились. Аналогичная ситуация прослеживается и с рядом орфанных ЛП, которые в настоящее время не поставляются в Российскую Федерацию. В-четвертых, доступность сырья решает вопрос быстрого доступа ЛП на рынок, поскольку они не подлежат государственной регистрации [45]. Соответственно сокращается время прохождения регистрационных процедур. К примеру, для редкого заболевания гипераммониемия (при котором наблюдается нарушение цикла образования мочевины) в составе комплексной терапии используется натрия бензоат. Данное вещество содержится в составе комбинированного препарата микстуры от кашля и никак не используется в широкой медицинской практике. Однако наличие фармацевтической субстанции позволило разработать экстемпоральную форму для орфанных пациентов и обеспечить их в кратчайшие сроки данным препаратом [13]. Указанный аспект важен для регулирования, поскольку это может позволить снять социальную напряжённость в случае отсутствия какого-либо препарата на рынке. В-пятых, аптечное изготовление может принести существенную выгоду для бюджета, если изготовленные ЛП по индивидуальным рецептам обеспечивают существенную экономию бюджетных средств, что в особенности актуально для ультрадорогостоящих препаратов, применяемых в терапии орфанных заболеваний [46]. Собственный синтез фармацевтических субстанций и изготовление ЛП из указанных субстанций в аптечной организации может обеспечить существенное число пациентов жизненно необходимыми препаратами [47].

Вне зависимости от цели применения экстемпорально изготовленного ЛП, разработчики, врачи и государство должны быть уверены, что такая практика не противоречит действующему международному и национальному законодательству в сфере защиты прав интеллектуальной собственности, поскольку изготовление ЛП осуществляется как в научных, так и в терапевтических целях, а также с коммерческой выгодой для аптечной организации [48].

Существующая нормативно-правовая база запрещает аптечным организациям, имеющим лицензию на осуществление фармацевтической

⁶ Федеральный закон от 30 декабря 2021 г. № 482-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». [Принят Государственной Думой 22 декабря 2022 года: одобрен Советом Федерации 24 декабря 2022 года]. – М., 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_405472/

деятельности, производить фармацевтические субстанции, т.к. законодательством РФ разграничена фармацевтическая и производственная деятельность. В настоящий момент аптечные организации могут изготавливать ЛП только из фармацевтических субстанций, которые входят в ГРЛС. Включение в ГРЛС предусматривает наличие заявителя, которым является как производитель лекарственных средств, так и его законный представитель.

С точки зрения используемой в национальном законодательстве терминологии, в т. ч. в отраслевом федеральном законе⁷, дано четкое разъяснение того, что является лекарственным средством, а что является фармацевтической субстанцией. Таким образом:

- «лекарственные средства – вещества или их комбинации, вступающие в контакт с организмом человека или животного, проникающие в органы, ткани организма человека или животного, применяемые для профилактики, диагностики (за исключением веществ или их комбинаций, не контактирующих с организмом человека или животного), лечения заболевания, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности и полученные из крови, плазмы крови, из органов, тканей организма человека или животного, растений, минералов методами синтеза или с применением биологических технологий. К лекарственным средствам относятся фармацевтические субстанции и лекарственные препараты».

- «лекарственные препараты – лекарственные средства в виде лекарственных форм, применяемые для профилактики, диагностики, лечения заболевания, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности».

Таким образом, в рамках реализации ст. 56 отраслевого федерального закона⁸, аптечные организации изготавливают ЛП, поскольку в соответствии с федеральным законом⁹ врачом назначаются пациенту именно ЛП, а не фармацевтические субстанции.

Интеллектуальная собственность и аптеки

Обращение и производство лекарственных средств может быть дополнительно ограничено законодательством Российской Федерации в области интеллектуальной собственности.

Патент на изобретение, относящийся к лекарственному средству, может затрагивать как фармацевтическую субстанцию – непосредственно

действующее вещество, так и распространять своё действие на лекарственное средство в целом – систему активных и вспомогательных компонентов [49].

В тоже время, для ограничения возможности крупных фармацевтических компаний реализовывать т.н. «стратегию обновления» [50], законодательство разных стран содержит меры антимонопольного ограничения в отношении изготовления ЛП аптечными организациями. Должны соблюдаться два основных положения: аптечное изготовление должно отвечать интересам охраны здоровья населения, а также предотвращать ситуации, когда индивидуальное лечение оказывается невозможным.

Сходные положения реализованы в рамках российского законодательства. В соответствии с подпунктом 5 ст. 1359 Гражданского кодекса Российской Федерации (ГК РФ)¹⁰, разовое изготовление лекарственного препарата аптечной организацией по рецепту врача не нарушает исключительного права на изобретение, полезную модель или промышленный образец. Условно норму данного подпункта 5 можно представить в схематичном виде, где производство в аптеке предполагает разовый характер по индивидуальному рецепту лечащего врача (Рис. 1).

Одновременно упомянутая формулировка свидетельствует о распространении действия указанной статьи на понятие лекарственное средство, что предполагает более широкую трактовку и действие указанной статьи не по отраслевому признаку, а в отношении сущности применяемого предмета регулирования, которым является ЛП, и содержащаяся в нём фармацевтическая субстанция.

Евразийское законодательство не затрагивает регулирование изготовления лекарственных средств в условиях аптечной организации. Таким образом, в законодательстве Российской Федерации присутствуют предпосылки и юридическая основа для формирования практики широкого использования возможностей производственных аптек.

В отношении действующих изобретений на территории Российской Федерации, относящихся к ЕАПК, можно отметить, что оно сходно с отечественным. Согласно правилу 19 Патентной инструкции к ЕАПК¹¹, не признаются нарушением евразийского патента действия, связанные с разовым изготовлением лекарств в аптеках по рецептам врача.

⁷ Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 № 61-ФЗ (последняя редакция). [Принят Государственной Думой 24 марта 2010 года; одобрен Советом Федерации 31 марта 2010 года]. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/.

⁸ Там же.

⁹ Федеральный закон от 05.12.2022 № 502-ФЗ «О внесении изменений в статью 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств».

¹⁰ Гражданский кодекс Российской Федерации. Часть четвертая: Федеральный закон от 18.12.2006 г. № 230-ФЗ: с изм. и доп. [Принят Государственной Думой 24 ноября 2006 года; Одобрен Советом Федерации 8 декабря 2006 года]. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64629/.

¹¹ Патентная инструкция к Евразийской патентной конвенции, которая [Утверждена Административным советом Евразийской патентной организации на втором (первом очередном) заседании 1 декабря 1995 г., с изм. и доп., в действующей редакции]. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.eapo.org/ru/documents/norm/instr2022-p1.html>

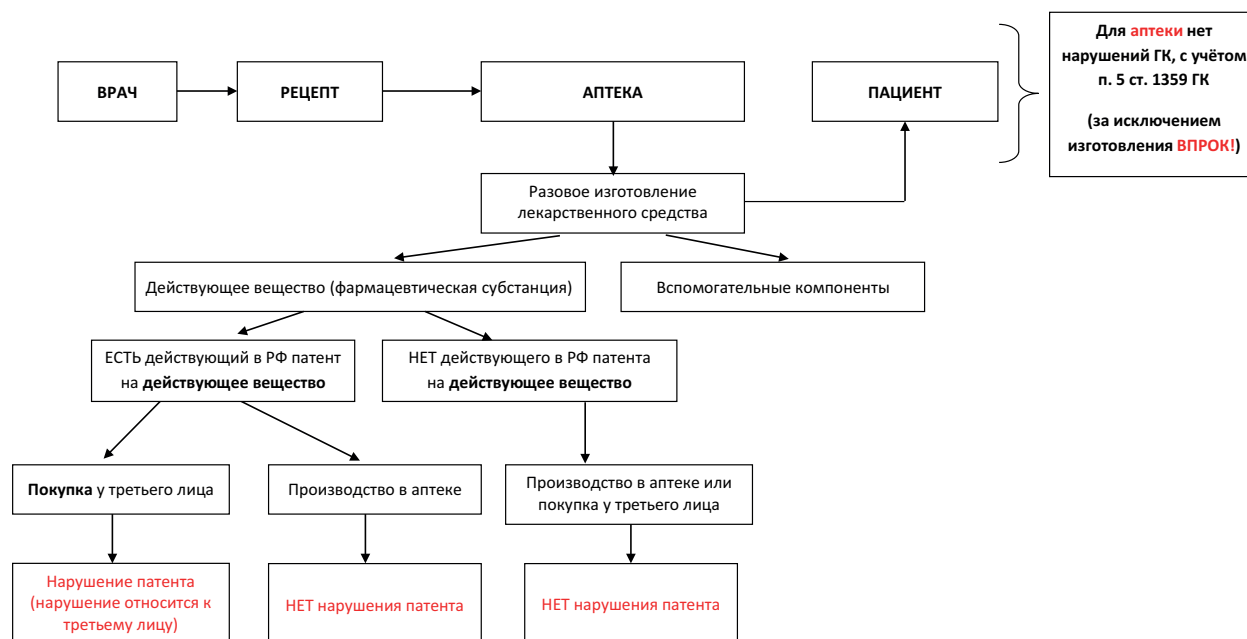


Рисунок 1 – Разовое изготовление лекарственных препаратов по рецепту врача в аптечной организации

Регулирование данного положения стран, входящих в Евразийский экономический союз (ЕАЭС), также можно признать сходным.

Статья 10 Закона Республики Беларусь от 16 декабря 2002 года № 160-З «О патентах на изобретения, полезные модели, промышленные образцы»¹², указывает на то, что не признаются нарушением исключительного права патентообладателя: разовое изготовление лекарственных средств в аптеках по рецепту врача с применением защищённого патентом изобретения. Аналогичные положения содержатся и в ст. 12 Патентного закона Казахстана (использовано понятие «в экстренных случаях»)¹³, ст. 17 подпункт 1 закона Армении «Об изобретениях, полезных моделях и промышленных образцах»¹⁴. В тоже время положения патентного законодательства Кыргызской Республики такой нормы не содержат.

В отношении международной позиции стран, относящихся к «дальнему зарубежью», возможно привести следующую консолидированную позицию, которая отражает подходы ряда иностранных государств к указанной проблеме: в 2014 году Всемирная организация интеллектуальной собственности (ВОИС) провела опрос стран в отношении предоставления обсуждаемых

исключений, результатом которого стала заполненная Анкета¹⁵ и Документ Секретариата постоянного комитета ВОИС по патентному праву по результатам 20-й сессии (Женева, 27–31 января 2014 года) «Ограничения и исключения из патентных прав: разовое приготовление лекарственных средств» (Документ)¹⁶. Документ включает информацию, предоставленную 39 государствами и патентными организациями-участниками, касательно законодательных аспектов по ограничению использования экстермпоральных ЛФ. Свою позицию представили: Албания, Армения, Азербайджан, Босния и Герцеговина, Бразилия, Болгария, Хорватия, Кипр, Чешская Республика, Корейская Народно-Демократическая Республика, Дания, Финляндия, Франция, Германия, Греция, Гонконг (Китай), Венгрия, Италия, Япония, Латвия, Литва, Марокко, Норвегия, Филиппины, Польша, Португалия, Республика Корея, Республика Молдова, Российская Федерация, Сербия, Словакия, Испания, Швеция, Таджикистан, Таиланд, Турция, Соединенное Королевство, Вьетнам и Евразийская патентная организация (ЕАПО).

Учитывая подробное изложение позиций, авторами рассмотрены некоторые аспекты:

1. Что касается цели регулирования, то позиция Бразилии предусматривает необходимость учитывать как интересы правообладателя, так и мнение пользователей соответствующих прав, а также вопросы социальной справедливости с помощью применения ограниченных исключений из исключительных прав, которые предоставляются

¹² Закон Республики Беларусь от 16.12.2002 г. № 160-З «О патентах на изобретения, полезные модели, промышленные образцы» (с изменениями, внесенными в соответствии с Федеральным конституционным законом № 275-З от 18.12.2019 г. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/21279>.

¹³ Патентный закон Республики Казахстан № 427 от 16.07.1999 г. (с изменениями, внесенными в соответствии с Законом Республики Казахстан № 268-VI от 28.10.2019 г. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/text/539217>.

¹⁴ Закон «Об изобретениях, полезных моделях и промышленных образцах» от 10.06.2008 г. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/5496>.

¹⁵ Questionnaire on Exceptions and Limitations to Patent Rights // WIPO. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.wipo.int/scp/en/exceptions/>.

¹⁶ Постоянный комитет по патентному праву (SCP/20/5). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.wipo.int/edocs/mdocs/patent_policy/ru/scp_20/scp_20_5.pdf

патентным законодательством. Однако, только при том условии, что подобные исключения не вступают в критическое противоречие с его применением и не ведут к неоправданному ущербу для законных интересов патентообладателя, а также интересов третьих лиц (сторон). Соответственно, предполагается, что указанные исключения способствуют доступу инновационных технологий, с учётом взаимной выгоды производителей и пользователей инноваций, с целью соблюдения социального и экономического благосостояния при соблюдении баланса прав и обязанностей.

Республика Кипр и Франция придерживаются постулата о том, что предоставление исключений базируется на принципах общественной справедливости и должно отвечать интересам охраны здоровья граждан.

Позиция Польши состоит в том, что исключения приемлемы в случаях, когда необходимо «индивидуальное» лечение пациента с целью предотвращения ситуации, когда оно окажется невозможным.

В Республике Молдова регулирующие органы настаивают на необходимости исключений с целью повышения доступности лекарственных средств.

Представители Португалии считают важным не ограничивать возможности доступа к лечению пациента и не нарушать коммуникацию врача и пациента.

Доктрина Испании заключается в том, чтобы расширить доступ пациентов к экстермпоральным лекарственным средствам. Таким образом, пациенты могут получать индивидуальную лекарственную помощь, одновременно не нанося ущерб объекту патентных прав.

Регуляторы Германии и Италии также считают, что цель исключений – дать возможность врачам в отдельных случаях прописывать пациентам лекарственные средства, изготавливаемые в производственных аптеках вне зависимости от наличия патентных прав, поскольку патенты не должны ограничивать возможности врача в лечении больного.

Швеция и Соединенное Королевство настаивают на том, что «специалисты фармацевтического профиля должны иметь возможность изготавливать индивидуально ЛП по рецепту врача без риска нарушения патентного права».

Венгерские представители озвучивают цель государственного регулирования исключений как возможность обеспечивать пациентов недорогими и качественными экстермпоральными лекарственными средствами и снизить финансовые расходы в государственной системе здравоохранения.

Швеция выражает сходное мнение: цель государственного регулирования – оказание качественной медицинской и фармацевтической помощи. В то же время, применение исключений используется для незначительного количества пациентов и не наносит ущерб держателю патента.

Норвегия придерживается того, что «изготовление экстермпоральных ЛФ в аптечных учреждениях легитимно, поскольку они готовятся по рецептам врача».

Япония и Республика Корея чётко указывают на факт, что аптечное изготовление – это социально-значимая миссия государства с целью помощи пациентам в восстановлении их здоровья, соответственно, процедуры по экстермпоральному производству не могут рассматриваться с точки зрения патентного права.

Позиция Сербии обусловлена этическими и медицинскими аспектами: при персонификации лечения наличие патента не должно препятствовать изготовлению лекарства в условиях аптеки.

В ответе Латвийской Республики указано, что основной целью исключения является гармонизация патентного законодательства страны с нормативно-правовыми актами государств-членов Евросоюза.

2. Что касается законодательных аспектов регулирования, то анализ приведённого Документа и Анкеты дополнительно иллюстрирует то, как указанная норма об исключении аптечного производства реализована в законодательстве ряда стран.

Во Франции патентное законодательство не распространяется на «разовое или несистематическое» изготовление экстермпоральных лекарственных средств по рецептам врачей (ст. L613-5 Кодекса интеллектуальной собственности Франции)¹⁷.

В ст. 23 Закона о патентах Азербайджана указано: «эпизодический» характер изготовления лекарств в аптечных учреждениях позволяет избежать нарушения исключительных прав патентообладателя.

В соответствии с законодательством Таиланда нарушение действия патентного права не происходит при «изготовлении конкретного лекарственного средства по рецепту врача» (Раздел 36 Закона о патентах Таиланда)¹⁸.

В Турции «право патентообладателя не распространяются на изготовление экстермпоральных ЛФ, поскольку не предполагается их промышленное производство, и данная процедура реализуется в рамках исполнения конкретного рецепта врача» (ст. 85(3) Указа о патентах Турции)¹⁹.

В соответствии с итальянским законодательством «исключение не распространяется на использование активных ингредиентов, изготавливаемых

¹⁷ Кодекс интеллектуальной собственности Франции (версия от 01.09.2012 года). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/11987>.

¹⁸ Закон Таиланда «О патентах» 1979 года (2522) (с поправками, внесенными Законом о патентах (№ 3) ВЕ 2542 (1999)). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/3807>.

¹⁹ Закон Турции № 6769 от 22 декабря 2016 г. «О промышленной собственности». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/16609>.

промышленным способом» (ст. 68.1(c) Кодекса промышленной собственности Италии)²⁰.

Патентное законодательство Сербии декларирует легитимность исключений, однако оговаривает, что исключение не распространяется на изготовление экстемпоральных ЛФ с целью хранения, а лишь изготовления в аптечных условиях для конкретных медицинских предписаний, для конкретного пациента по рецепту врача (ст. 21, п. 3 Закона о патентах Сербии)²¹.

В то же время категоризация сторон, в чьих интересах используется вышеупомянутое исключение, обычно в соответствующих законодательных актах государств-членов не указывается. Следует отметить, что в большинстве государств нормативно-правовая документация оговаривает не практику применения исключений, а локацию, где могут быть изготовлены лекарственные средства по рецепту врача (например, аптеки или аккредитованные лаборатории).

Основная масса ответов стран-членов указывает на то, что исключение регламентирует право «фармацевтического специалиста» по изготовлению таких ЛП.

Норвежское законодательство гласит, что исключение касается «уполномоченного персонала» аптек, в то время как в ответе Швеции упоминается «персонал аптек» в целом.

В ответах Франции, Германии и Кипра упоминаются как фармацевтические работники, так и врачи, выписывающие рецепты.

Профильные нормативно-правовые акты Таиланда содержат информацию о «профессиональных фармацевтических и/или медицинских работниках».

В Италии право пользования исключением принадлежит «провизорам».

В Португалии исключение релевантно для «любого лица, имеющего легитимное право на изготовление в условиях аптечной организации» (ст. 102 Кодекса промышленной собственности Португалии)²².

Ст. 43 Закона о промышленной собственности Бразилии²³ указывает адресатом исключения, «квалифицированного специалиста».

Законодательство Филиппин дает возможность «профессиональному медицинскому работнику»

воспользоваться своим правом на использование исключения вне зависимости от позиции патентообладателя.

В Таиланде основным требованием к практике исключения является профессиональный статус: «профессиональный фармацевтический работник» или «медицинский работник».

В законодательство отдельных стран-участников включены только общие положения, но некоторые государства-члены устанавливают дополнительные требования в отношении лиц, имеющих право на аптечное изготовление и выписку рецептов.

Патентное законодательство Гонконга гласит, что лекарственное средство должно быть изготовлено по рецепту врача, который имеет соответствующий сертификат (Раздел 75(c) Указа о патентах Гонконга, Китай)²⁴.

В Японии нормативно-правовые акты в области охраны изобретений фармацевтики не препятствуют аптечному изготовлению лекарств, прописанных в рецепте врачом или стоматологом (ст. 69 (3) Закона о патентах Японии)²⁵.

В Соединенном Королевстве профильное законодательство гласит, что только сертифицированный врач или стоматолог имеет право на выписку рецепта (Раздел 60(5)(c) Закона о патентах Соединенного Королевства)²⁶.

3. Что касается объемов экстемпорального производства при использовании исключения, то в большинстве государств законодательство прямо не регламентирует предельное количество единиц лекарственного средства, которое может быть изготовлено в рамках исключения. Тем не менее, в отдельных ответах указано, что исключение применимо в случае «разового» (РФ и Республика Молдова), «несистематического» (Франция, Швеция и ЕАПО) или «штучного» (Франция), «индивидуального» (Финляндия, Венгрия, Италия и Сербия) изготовления лекарственных средств в аптечных условиях.

Таким образом все государства в рамках Документа высказались положительно на вопрос о том, является ли достаточной нормативно-правовая база применения исключений, связанная с патентными правами, касающаяся аптек, для достижения заявленных целей и задач. Важным моментом является то, что все государства отметили отсутствие каких-либо трудностей при практической реализации указанного исключения.

Однако необходимо отметить, что в странах

²⁰ Кодекс промышленной собственности Италии (Законодательный декрет № 30 от 10.02.2005 г.). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/21556>.

²¹ Law on Patents (Official Gazette of the Republic of Serbia No. 99/2011, 113/2017, 95/2018 and 66/2019). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/19365>.

²² Código da Propriedade Industrial (alterado pelo Lei n. 46/2011, de 24/06). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/text/420570>.

²³ Закон Бразилии № 9.279 от 14.05.1996 г. (Закон «О промышленной собственности» с поправками, внесенными Законом № 14.200 от 02.09.2021 г. и предшествующими ему законами). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/21166>.

²⁴ Patents Ordinance (Chapter 514), Китай, Гонконг. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/2049>.

²⁵ Закон «О патентах» Японии (Закон № 121 от 13.04.1959 г. с последними изменениями, внесенными Законом № 63 от 13.05.2011 г.). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/legislation/details/13137>.

²⁶ Patents Act 1977, Соединенное Королевство (Chapter 37, updated up to March 27, 2014). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.wipo.int/wipolex/ru/text/330537>.

северной Европы (Дания, Норвегия и Швеция) такое исключение не является принятой практикой, поскольку аптечное изготовление лекарств не распространенная процедура.

С учётом приведённых мнений, интересным представляется правоприменительная практика использования указанной нормы в Нидерландах, поскольку развернувшаяся дискуссия показала те трудности, с которыми можно столкнуться при её практической реализации.

С 1 февраля 2019 года в Закон о патентах Нидерландов (DPA) были внесены поправки, включающие ограничение исключительного права владельца патента на лекарственное средство. Действие исключительного права теперь содержит важный момент в ст. 53(3) DPA²⁷ «Исключительное право не распространяется на приготовление лекарств для немедленного применения физическими лицами на основании врачебного рецепта в аптеках, а также акты, касающиеся приготовленных таким образом лекарств». Эта часть ст. 53(3) DPA позволяет фармацевтам изготавливать запатентованные лекарства в вышеуказанных обстоятельствах для немедленного использования физическими лицами на основании медицинского рецепта.

Общественный интерес к решению проблемы чрезмерно высоких цен на лекарства в Нидерландах побудил законодательный орган сделать это положение официальным. По словам министра здравоохранения и спорта г-на Брюинса, «отмена ответственности за нарушение патентных прав в некоторых случаях изготовления лекарств экстремально могла бы стать разумной альтернативой дорогим лекарствам». В своем Пояснительном меморандуме о введении в действие положения об импровизации министр экономики г-н Вибес заявил, что «для предотвращения злоупотребления экстремальным приготовлением лекарств исключение должно применяться только к редким случаям, когда фармацевт сам готовит лекарство; случаям по назначению врача; приготовление лекарств для отдельных пациентов»²⁸.

Учёные в Нидерландах согласны с тем, что эта формулировка не позволяет производить запатентованные лекарства на широкой основе. Недавно принятое исключение в DPA следует толковать ограничительно. Общественное мнение в Нидерландах поддерживает немедленное приготовление лекарств как альтернативу дорогим лекарствам. Очевидно, против широкого толкования нового закона будут выступать такие заинтересованные стороны, как патентовладельцы и фармацевтическая промышленность.

²⁷ Rijkswet van 15 december 1994. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://wetten.overheid.nl/BWBR0007118/2021-08-01>.

²⁸ Radboud Ribbert, Amendment to Dutch Patents Act (Rijkssoctrooiwet) Allows for Extemporaneous Preparation of Medicine in Certain Circumstances, March 14.2019. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.gtlaw.com/en/insights/2019/3/amendment-to-dutch-patents-act-rijkssoctrooiwet-allows-for-extemporaneous-preparation-of-medicine>.

ОБСУЖДЕНИЕ

В статье приведён обзор современной практики аптечного изготовления в Российской Федерации, а также проанализированы преимущества указанной деятельности для медицинского сообщества, пациентов и государства. Одним из важнейших преимуществ аптечного изготовления является индивидуальный подход к лекарственной терапии. Одновременно индивидуализация медикаментозного лечения позволяет выработать системное решение для отработки методик лекарственной терапии для особых групп пациентов, для которых экономическая целесообразность регистрации и вывода ЛП на рынок поставлена под сомнение. Обеспечение доступности лекарственной терапии тем не менее отвечает необходимости соблюдения прав граждан.

Кроме того, аптечное изготовление является доступным инструментом в изучении ЛП, назначенных врачом не в соответствии с инструкцией по медицинскому применению (off-label) или в лекарственных формах/дозировках, отсутствующих на рынке.

Экстемпоральное изготовление также может быть частью процесса «репозиционирования» ЛП на рынке при условии соблюдения требований к аптечному изготовлению и контролю безопасности назначаемых ЛП.

Обзор зарубежного патентного законодательства, в том числе стран ЕАЭС, в отношении ЛП, изготавливаемых в аптечных организациях, показывает, что обсуждаемая законодательная норма в целом не является новшеством, характерным исключительно для Российской Федерации, а законодательно закреплена во многих странах, входящих в ВОИС, в качестве нормы, касающейся исключений, связанных с патентными правами применительно к аптечному производству.

Важно отметить, что, по сути, данная норма концептуально сформулирована примерно одинаково более чем в 30 государствах-членах ВОИС, включая Францию, Испанию, Германию, Италию, Швецию, Соединенное Королевство и многих других. Норма гласит, что именно аптечные работники должны иметь возможность готовить ЛП в индивидуальном случае в соответствии с рецептом врача, не подвергаясь риску, связанному с нарушением патентных прав.

В Российской Федерации в качестве одного из механизмов, позволяющих использовать ЛП без разрешения правообладателя, является реализация положений подпункта 5 ст. 1359 ГК РФ²⁹. Иными словами, разовое аптечное изготовление по индивидуальному рецепту не может быть расценено как нарушение патента. Прежде всего, это касается таких изобретений, которые относятся к способам получения лекарственных средств или ЛП как таковых, поскольку данные технические решения

²⁹ Гражданский кодекс Российской Федерации. Часть четвертая: Федеральный закон от 18.12.2006 г. № 230-ФЗ: с изм. и доп.

используют либо промышленные технологические способы получения соединений или композиций, входящих в состав лекарственных средств, которые не используются в аптеках, либо относятся к способам применения ЛП, область правоприменения которых сосредоточена на пациентах.

Что касается самих композиций, как объектов изобретения, то признаком разового изготовления является индивидуальный заказ или индивидуальный рецепт, выписанный конкретному физическому лицу в определённый период времени, имеющий иные признаки разового характера – индивидуальный номер и дату выписки, ограниченный срок годности, индивидуально подобранная ЛФ, дозировка и т.д.

Противопоставление термину «разовый» может быть термин «серийный». Следовательно, разовое изготовление лекарственного средства само по себе не должно иметь признаки серийности, т.е. иметь отличия от других рецептов (или заказов) и признаки индивидуальности.

Однако основной проблемой при изготовлении ЛП в аптеке является наличие патента на изобретение, которое относится непосредственно к соединению, т.е. к фармацевтической субстанции. Это связано с тем, что реализация фармацевтической субстанции (отчуждение прав собственности с целью получения коммерческой выгоды), в отношении которой на территории Российской Федерации распространяется исключительные права интеллектуальной собственности, является нарушением прав патентообладателя. При этом, в соответствии со ст. 56 отраслевого федерального закона при изготовлении лекарственных препаратов аптечными организациями, ветеринарными аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность, используются фармацевтические субстанции, включённые соответственно в государственный реестр лекарственных средств для медицинского применения и государственный реестр лекарственных средств для ветеринарного

применения в установленном порядке». Соответственно фармацевтическая субстанция, включённая производителем или поставщиком, в ГРЛС, может быть использована для аптечного изготовления в организации, имеющей лицензию.

В тоже время производственная аптека не может самостоятельно производить запатентованные фармацевтические субстанции, и поэтому необходимо разъяснение или введение аналогичной или дополнения текущей статьи, положениями, распространяющимися на производителей фармацевтических субстанций, где разовое производство фармацевтических субстанций не будет признаваться нарушением исключительного права на изобретение, полезную модель или промышленный образец.

Совокупность технологических возможностей российских разработчиков лекарственных средств и получения права на аптечное изготовление может открыть новый путь к «репозиционированию» существующих ЛП или стать основой для создания препаратов орфанных заболеваний, назначаемых в качестве единственной возможной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, новые регуляторные изменения в сфере обращения лекарственных средств, в условиях меняющегося политико-экономического ландшафта и санкционных мер по отношению к Российской Федерации, послужат повышению доступности лекарственного обеспечения и персонализированной лекарственной помощи населению страны.

Возрождение аптечного производства позволит не только улучшить доступность лекарственной помощи населению с учётом индивидуальных дозировок и ЛФ в различных терапевтических направлениях, но и может стать инструментом репозиционирования ЛП или клинической апробации новых молекул для редких неизлечимых заболеваний.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.В. Алехин – постановка задач, концепция, написание и редактирование статьи, финальное утверждение рукописи; Т.Н. Эриванцева – критический анализ научной литературы и нормативно-правовой документации, написание текста рукописи; В.В. Ряженев – анализ научной и методической литературы, внесение замечаний интеллектуального содержания; Н.Б. Лысков – сбор материала, критический анализ литературных источников, написание текста рукописи; Н.А. Алехина – сбор материала, критический анализ литературных источников, написание текста рукописи; М.М. Кузнецова – анализ научной и методической литературы, редактирование и оформление текста рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Беляцкая А.В., Краснюк И.И., Краснюк И.И., Степанова О.И., Король Л.А., Растопчина О.В. Использование готовых лекарственных препаратов при экстремальном изготовлении порошков // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 1. – С. 82–85.
2. Родионова И.А., Овчаров Е.Г. Фармацевтическая промышленность Российской Федерации // Вестник РУДН. Серия: Экономика. – 2001. – № 1 (7). – С. 70–79.
3. Затравкин С.Н., Вишленкова Е.А., Игнатьев В.Г. Российская фармацевтическая отрасль в 1990-е годы. Сообщение 1. От советского к рыночному // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2022. – Т. 30, № 1. – С. 160–166. DOI: 10.32687/0869-866X-2022-30-1-160-166
4. Раднаева С.Э., Мацкевич И.В., Ухакинова Е.М. Фармацевтическая отрасль в России: анализ и экономические аспекты развития // Вестник Бурятского государственного университета. Экономика и менеджмент. – 2020. – № 3. – С. 31–40. DOI: 10.18101/2304-4446-2020-3-31-40
5. Мороз Т.Л., Рыжова О.А. Проблемы лекарственного обеспечения лечебно-профилактических учреждений в связи с сокращением внутриаптечного изготовления лекарственных препаратов // Ремедиум. – 2015. – № 1–2. – С. 43–46.
6. Мороз Т.Л., Рыжова О.А. Проблема доступности лекарственных препаратов внутриаптечного изготовления (на примере Иркутской области) // Ремедиум. – 2020. – № 10. – С. 54–57.
7. Лин А.А., Соколов Б.И., Слепнев Д.М. Фармацевтический рынок: производство лекарственных средств в России // Проблемы современной экономики. – 2013. – № 1(45). – С. 191–195.
8. Ватанская О.А., Жидкова Ю.Ю., Еникеева Р.А. Практическая значимость экстремальной рецептуры в современной фармацевтической практике // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39, № 53-4. – С. 23–27.
9. Киселева Л.Г. Проблемы и перспективы внутриаптечного изготовления лекарственных препаратов // Ростовский научный вестник. – 2021. – № 5. – С. 46–48.
10. Егорова С.Н. Может ли медицинская организация обойтись без экстремальных лекарственных препаратов? // Современная организация лекарственного обеспечения. – 2021. – Т. 8, № 1. – С. 42–46. DOI: 10.30809/solo.1.2021.11
11. Абросимова Н.В., Крюкова И.В. Обеспечение населения Дальневосточного федерального округа лекарственными препаратами аптечного изготовления: проблемы и тенденции // Здравоохранение Дальнего Востока. – 2022. – № 3(93). – С. 44–48. DOI: 10.33454/1728-1261-2022-3-44-48
12. Рябова Е.И., Гусева О.Л., Рябова Е.В. Об актуальности изготовления экстремальных лекарственных форм в аптеке многопрофильного стационара // Современная организация лекарственного обеспечения. – 2021. – Т. 8, № 1. – С. 80–82. DOI: 10.30809/solo.1.2021.26
13. Смехова И.Е., Ладутько Ю.М., Калинина О.В. Экстремальное изготовление лекарственных препаратов: проблемы и решения // Вестник фармации. – 2021. – № 1(91). – С. 48–52. DOI: 10.52540/2074-9457.2021.1.48
14. Наркевич И.А., Нематых О.Д., Медведева Д.М., Смехова И.Е., Ладутько Ю.М., Стрелков С.В. Организационно-фармацевтические аспекты совершенствования лекарственного обеспечения детей (на примере Санкт-Петербурга) // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2020. – № 1. – С. 31–43. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-1-31-43
15. Егорова С.Н., Кондаков С.Э., Гордеев В.В., Белецкий С.О., Хаятов А.Р., Ихалайнен Е.С. Современные проблемы дозирования лекарственных средств для детей в Российской Федерации // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т. 18, № 4. – С. 220–228.
16. Король Л.А., Егорова С.Н., Кудлай Д.А., Краснюк И.И., Сологова С.С., Король В.А., Смолячук Е.А., Садковский И.А., Мандрик М.А. Современная экстремальная рецептура в системе гериатрической медицины: текущие возможности и будущие задачи. Обзор литературы // Терапевтический архив. – 2022. – Т. 94, № 8. – С. 1020–1027. DOI: 10.26442/00403660.2022.08.201805
17. Тарабукина С.М., Дремова Н.Б. Проблема изготовления в больничной аптеке лекарственных препаратов, назначаемых «off-label» // Современная организация лекарственного обеспечения. – 2021. – Т. 8, № 1. – С. 106–108. DOI: 10.30809/solo.1.2021.36
18. Егорова С.Н., Хаятов А.Р., Шавалиев Р.Ф. Перспективы перевода в промышленное производство экстремальной детской рецептуры // Фармация. – 2014. – № 2. – С. 28–31.
19. Brion F., Nunn A.J., Rieutord A. Extemporaneous (magistral) preparation of oral medicines for children in European hospitals // Acta Paediatr. – 2003. – Vol. 92, No. 4. – P. 486–490. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2003.tb00583.x
20. Saito J., Akabane M., Ishikawa Y., Iwahashi K., Nakamura H., Yamatani A. Retrospective survey of compounded medications for children in Japan // Eur J Pharm Biopharm. – 2020. – Vol. 155. – P. 122–127. DOI: 10.1016/j.ejpb.2020.08.016
21. Doms M. Pharmacists are initiators in palliative care for patients with rare diseases // Orphanet J Rare Dis. – 2023. – Vol. 18, No. 1. – Art. ID: 141. DOI: 10.1186/s13023-023-02765-8
22. Polak Y., Jacobs B.A.W., Kemper E.M. Pharmacy Compounded Medicines for Patients With Rare Diseases: Lessons Learned From Chenodeoxycholic Acid and Cholic Acid // Front Pharmacol. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 758210. DOI: 10.3389/fphar.2021.758210
23. Haznar-Garbach D., Garbacz G., Weitschies W. Development of oral foams for topical treatment of inflammatory bowel disease // Journal of Drug Delivery Science and Technology. – 2019. – No. 50. – P. 87–292. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.01.022
24. Hendrickx K., Doms M. Orphan Drugs, Compounded Medication and Pharmaceutical Commons // Front Pharmacol. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 738458. DOI: 10.3389/fphar.2021.738458
25. Мальченкова С.С., Голяк Н.С. Современное состояние средств в Федеративной Республике Германия // Вестник фармации. – 2022. – № 3(97). – С. 44–56. DOI: 10.52540/2074-9457.2022.3.44
26. Оборин М.С. Проблемы и перспективы импортозамещения в фармацевтической отрасли региона // Научный вестник: финансы, банки, инвестиции. – 2020. – Т. 3, № 52. – С. 185–194.
27. Saleniece I., Korcagina L., Kriger K., Vrublevska R., Muceniece R. Studies on extemporaneous drug storage and expiration dates // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2007. – Vol. 32, No. 1. – P. 24–25. DOI: 10.1016/j.ejps.2007.05.0515
28. Кугач В.В. Аптечное изготовление и контроль качества лекарственных средств за рубежом // Вестник фармации. – 2021. – № 2(92). – С. 64–79. DOI: 10.52540/2074-9457.2021.2.64
29. Петров А.Ю., Айро И.Н., Бережная Е.С., Кинев М.Ю., Гончарова Ю.М. Проблемы экстремального изготовления лекарственных форм в аптечных организациях как формы персонализированной фармации в Российской Федерации и за рубежом // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2022. – № 6. – С. 77–84.
30. MacArthur R.B., Ashworth L.D., Zhan K., Parrish R.H. 2nd. How Compounding Pharmacies Fill Critical Gaps in Pediatric Drug Development Processes: Suggested Regulatory Changes to Meet Future Challenges // Children (Basel). – 2022. – Vol. 9, No. 12. – Art. ID: 1885. DOI: 10.3390/children9121885

31. Timko R.J., Crooker P.E. Pharmaceutical compounding or pharmaceutical manufacturing? A regulatory perspective // *Int J Pharm Compd.* – 2014. – Vol. 18, No. 2. – P. 101–111.
32. Minghetti P., Pantano D., Gennari C.G., Casiraghi A. Regulatory framework of pharmaceutical compounding and actual developments of legislation in Europe // *Health Policy.* – 2014. – Vol. 117, No. 3. – P. 328–333. DOI: 10.1016/j.healthpol.2014.07.010
33. Uriel M., Marro D., Gómez Rincón C. An Adequate Pharmaceutical Quality System for Personalized Preparation // *Pharmaceutics.* – 2023. – Vol. 15, No. 3. – Art. ID: 800. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030800
34. Блинова М.П., Ильина Т.Ю., Котова Н.И., Криштанова Н.А., Подушкин В.Ю. Контроль качества лекарственных средств аптечного изготовления – современное состояние и перспективы развития // *Инновации в здоровье нации: сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 10–11 ноября 2015 года.* – Санкт-Петербург: ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России, 2015. – С. 12–15.
35. Carvalho M., Almeida I.F. The Role of Pharmaceutical Compounding in Promoting Medication Adherence // *Pharmaceutics (Basel).* – 2022. – Vol. 15, No. 9. – Art. ID: 1091. DOI: 10.3390/ph15091091
36. Vanhoorne V., Peeters E., Van Tongelen I., Boussery K., Wynendaele E., De Spiegeleer B., Remon J.P., Vervaeke C. Pharmaceutical compounding of orphan active ingredients in Belgium: how community and hospital pharmacists can address the needs of patients with rare diseases // *Orphanet J Rare Dis.* – 2019. – Vol. 14, No. 1. – Art. ID: 186. DOI: 10.1186/s13023-019-1154-x
37. Rosenberg N., van den Berg S., Stolkwijk N.N., Jacobs B.A.W., Post H.C., Pasmooij A.M.G., de Visser S.J., Hollak C.E.M. Access to medicines for rare diseases: A European regulatory roadmap for academia // *Front Pharmacol.* – 2023. – Vol. 14. – Art. ID: 1142351. DOI: 10.3389/fphar.2023.1142351
38. Watson C.J., Whitley J.D., Siani A.M., Burns M.M. Pharmaceutical Compounding: a History, Regulatory Overview, and Systematic Review of Compounding Errors // *J Med Toxicol.* – 2021. – Vol. 17, No. 2. – P. 197–217. DOI: 10.1007/s13181-020-00814-3
39. Наркевич И.А., Голант З.М., Юрочкин Д.С., Лешкевич А.А., Эрдни-Гаряев С.Э. Разработка предложений по совершенствованию процессов обращения экстермпоральных лекарственных препаратов и регулирования рецептурно-производственной деятельности аптечных организаций в Российской Федерации // *РЕМЕДИУМ.* – 2021. – № 4. – С. 14–29. DOI: 10.32687/1561-5936-2021-25-4-14-29
40. Тарасова Е.Н., Колков М.А. Использование готовых лекарственных форм при изготовлении экстермпоральных лекарственных средств // *Сандеровские чтения: Сборник материалов конференции, посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 года.* – Санкт-Петербург: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, 2023. – С. 82–86.
41. Кузьмина А.В., Асеева И.Л., Поливанов В.А., Зырянов С.К. Медицинские ошибки при применении антибактериальных препаратов группы карбапенемов. *Качественная Клиническая Практика.* 2016;(4):48-53.
42. Padhy B.M., Gupta Y.K. Drug repositioning: re-investigating existing drugs for new therapeutic indications // *J Postgrad Med.* – 2011. – Vol. 57, No. 2. – P. 153–160. DOI: 10.4103/0022-3859.81870
43. Пелюшкевич А.В., Синева Т.Д., Алексеева Г.М., Караваева А.В. Экстермпоральные лекарственные формы для детей: перспективы и пути совершенствования // *Медицина: теория и практика.* – 2019. – Т. 4, № 5. – С. 420–421.
44. Тельнова Е., Загоруйченко А. Фармацевтические субстанции для промышленности и производственных аптек. Проблемы и перспективы решения // *Новая аптека.* – 2021. – № 5. – С. 34–41.
45. Александрович Ю.С., Пшениснев К.В., Фелькер Е.Ю., Абрамова Н.Н., Габрусская Т.В. Нарушения цикла синтеза мочевины как причина острой церебральной недостаточности у детей: случай из практики // *Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова.* – 2017. – № 1. – С. 74–80. DOI: 10.21320/1818-474X-2017-1-74-80
46. Moloney K. The New Role of the Patented Medicine Prices Review Board (PMPRB) // *McGill Journal of Law and Health.* – 2023. – 2 Blog.
47. Кусмаева Г.И. Анализ правового регулирования рекламы экстермпоральных лекарственных препаратов // *Дневник науки.* – 2021. – № 8(56). – С. 1–6.
48. Галковская В.Г., Лысков Н.Б., Полякова А.А., Криворучко Т.Е. Заявки на изобретения, относящиеся к производным известных веществ: новый взгляд // *Патенты и лицензии. Интеллектуальные права.* – 2019. – № 8. – С. 24–37.
49. Гаврилова Е.Б., Лысков Н.Б. Патентование лекарственных средств // *Патенты и лицензии. Интеллектуальные права.* – 2019. – № 3. – С. 13–20.
50. Кузнецова Е.Ю., Овчинникова П.П., Семёнова А.С. Проблема применения лекарственных препаратов «off-label» в России // *Международный научно-исследовательский журнал.* – 2020. – № 9 (99). – С. 133–138. DOI: 10.23670/IRJ.2020.99.9.022

АВТОРЫ

Алехин Алексей Викторович – Советник Министра, Министерство промышленности и торговли Российской Федерации; ассистент кафедры БМТ-3 ФГБОУ ВО МГТУ им. Н.Э. Баумана. ORCID ID: 0009-0003-5882-8994. E-mail: alekhinav@minprom.gov.ru

Эриванцева Татьяна Николаевна – кандидат медицинских наук, заместитель директора ФГБУ ФИПС. ORCID ID: 000-002-7891-9776. E-mail: erivantseva@rupto.ru

Ряженев Василий Вячеславович – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой регуляторных отношений в области обращения лекарственных препаратов и медицинских изделий, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0002-1278-5883. E-mail: ryazhenov_v_v_2@staff.sechenov.ru

Лысков Николай Борисович – начальник Центра химии, биотехнологии и медицины ФГБУ ФИПС). ORCID ID: 0000-0003-4655-9275. E-mail: otd1463@rupto.ru

Алехина Наталья Андреевна – кандидат экономических наук, доцент кафедры регуляторных отношений в области обращения лекарственных средств и медицинских изделий ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0002-0356-9275. E-mail: romakinan@gmail.com

Кузнецова Мария Максимовна – студентка 5-го курса Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). ORCID ID: 0000-0001-9411-9472. E-mail: mariakuznetcova01@gmail.com

