

2020 Том / Volume VIII

№ 4

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

Краткие сообщения
Brief Reports

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

Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 8, Выпуск 4, 2020

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

Воронков Андрей Владиславович доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, 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 профессор, MD, PhD, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

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

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Краткие сообщения / 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

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-т Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ 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 «Амирит», 410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2020
© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, 2020
© Авторы, 2020

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Volume VIII, Issue 4, 2020

The mass media registration certificate:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov Academian RAS, PhD (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov PhD (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Andrew V. Voronkov PhD (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin PhD (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov PhD (Pharmacy), Professor of the RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan PhD (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 PhD (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet MD, PhD Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino Professor, MD, PhD, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich PhD (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, 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., PhD (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., PhD (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 "Amirit" in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

© Volgograd State Medical University, 2020

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2020

©Authors, 2020

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS**Обзоры, лекции / Reviews, Lectures**

<i>В.И. Петров, А.С. Герасименко, В.С. Горбатенко, О.В. Шаталова</i>	<i>V.I. Petrov, A.S. Gerasimenko, V.S. Gorbatenko, O.V. Shatalova</i>
ФАРМАКОДИНАМИКА ОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ У БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА.....222	PHARMACODYNAMICS OF ORAL ANTICOAGULANTS IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION IN THE ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE222

Оригинальные статьи / Research Article**Фармацевтическая технология и биотехнология / Pharmaceutical Technology and Biotechnology**

<i>М.В. Чиркова, Д.К. Гуляев, М.П. Чугунова, В.Д. Белоногова</i>	<i>M.V. Chirkova, D.K. Gulyaev, M.P. Chugunova, V.D. Belonogova</i>
РАЗРАБОТКА ТВЕРДОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С АДсорбЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ233	DEVELOPMENT OF A SOLID DOSAGE FORM WITH ADSORPTION ACTIVITY233

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

<i>Т.А. Гендугов, А.А. Глушко, А.А. Озеров, Л.И. Щербак ова</i>	<i>T.A. Gendugov, A.A. Glushko, A.A. Ozerov, L.I. Shcherbakova</i>
ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СУБСТАНЦИИ 3-[2-(4-ФЕНИЛ-1-ПИПЕРАЗИНО)-2-ОКСОЭТИЛ] ХИНАЗОЛИН-4(3H)-ОНА В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ.....242	STUDY OF THE STABILITY OF THE SUBSTANCE 3-[2-(4-PHENYL-1-PIPERAZINO)-2-OXOETHYL] QUINAZOLINE-4(3H)-ONE UNDER STRESSFUL CONDITIONS242

Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology

<i>В.М. Покровский, Е.А. Патраханов, П.Р. Лебедев, А.В. Белашова, А.Ю. Карагодина, А.А. Шабалин, А.В. Нестеров, В.А. Марковская, М.В. Покровский</i>	<i>V.M. Pokrovsky, E.A. Patrakhanov, P.R. Lebedev, A.V. Belashova, A.Yu. Karagodina, A.A. Shabalin, A.V. Nesterov, V.A. Markovskaya, M.V. Pokrovsky</i>
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГРУППОВОЙ ГОРМОН-РЕГУЛИРУЮЩЕЙ СИНХРОНИЗАЦИИ ОВУЛЯЦИИ У САМОК МЫШЕЙ259	ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF HORMONE-REGULATING SYNCHRONIZATION OF OVULATION IN FEMALE MICE259
<i>Р.Ф. Череватенко, О.В. Анциферов, С.Я. Скачилова, М.В. Покровский, В.В. Гуреев, И.И. Банчук, А.Ю. Банчук, М.И. Голубинская, А.А. Сыромьятникова, И.С. Рожков, А.А. Мостовых</i>	<i>R.F. Cherevatenko, O.V. Antsiferov, S.Y. Skachilova, M.V. Pokrovsky, V.V. Gureev, I.I. Banchuk, A.Y. Banchuk, M.I. Golubinskaya, A.A. Syromyatnikova, I.S. Rozhkov, A.A. Mostovykh</i>
ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РЯДУ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЭТИЛТИАДИАЗОЛА263	THE SEARCH FOR NEUROPROTECTIVE COMPOUNDS AMONG NEW ETHYLTHIADIAZOLE DERIVATIVES263

Организация и экономика фармацевтического дела / Organization and Economy of Pharmacy

<i>И.К. Петрухина, Р.И. Ягудина, Т.К. Рязанова, В.А. Куркин, С.В. Первушкин, А.В. Егорова, Л.В. Логинова, А.И. Хусаинова, П.Р. Блинкова</i>	<i>I.K. Petrukhina, R.I. Yagudina, T.K. Ryazanova T.K., V.A. Kurkin, S.V. Pervushkin, A.V. Egorova, L.V. Loginova, A.I. Khusainova, P.R. Blinkova</i>
АНАЛИЗ РЕАЛИЗАЦИИ ФЕДЕРАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НЕОБХОДИМЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В СУБЪЕКТАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ273	ANALYSIS OF THE IMPLEMENTATION OF THE FEDERAL ASSURANCE PROGRAM OF SUPPORTING BENEFICIARIES WITH INDISPENSABLE MEDICINAL PREPARATIONS IN THE SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION273

УДК 615.015



ФАРМАКОДИНАМИКА ОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ У БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

В.И. Петров, А.С. Герасименко, В.С. Горбатенко, О.В. Шаталова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации
400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

E-mail: brain@sprintnet.ru

Получено 01.10.2020

Рецензия (1) 11.10.2020

Рецензия (2) 20.10.2020

Принята к печати 25.10.2020

Введение. Каждый пятый ишемический инсульт обусловлен наличием у пациента в анамнезе фибрилляции предсердий. Для предотвращения тромбоэмболических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий в настоящее время широко применяются прямые и непрямые пероральные антикоагулянты. Однако, несмотря на назначение данной группы препаратов, ежегодно у 1–2% пациентов с фибрилляцией предсердий возникает ишемический инсульт. В данной ситуации встает ряд вопросов: возможно ли проведение тромболитической терапии у больных, принимавших антикоагулянты, стоит ли возобновлять антикоагулянтную терапию после перенесенного инсульта, когда именно это нужно делать и какие препараты для этого использовать.

Цель. Целью написания данного обзора было резюмировать имеющиеся клинические рекомендации и результаты исследований, посвященные изучению особенностей антикоагулянтной терапии у пациентов с фибрилляцией предсердий, перенесших ишемический инсульт.

Материалы и методы. Для обзора использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников за период 1997–2020 гг., размещенных в электронных базах данных: PubMed, Scopus, Web of Science Core Collection, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov; Elibrary, Киберленинка, Google-академия. Поисковые запросы – «ишемический инсульт+фибрилляция предсердий+антикоагулянты»; «ишемический инсульт+фибрилляция предсердий+прямые оральные коагулянты» и «фибрилляция предсердий+ишемический инсульт+варфарин» как в русском, так и английском эквиваленте.

Результаты и заключение. Проблема применения антикоагулянтов для профилактики повторных тромбоэмболических осложнений у пациентов с ФП в остром периоде инсульта в настоящее время изучена недостаточно. Сложности вызывает проведение ТЛТ у пациентов, принимавших ПОАК, в первую очередь, из-за невозможности точной оценки состояния гемостаза в виду недоступности рутинного проведения специфических тестов, во вторую очередь, отсутствие зарегистрированных антидотов для большинства препаратов и их высокая стоимость. Также отсутствуют РКИ, посвященные изучению оптимального времени для возобновления или инициации антикоагулянтной терапии в остром периоде ИИ и оптимальных препаратов для данной группы пациентов. Большинство существующих рекомендаций по этим аспектам основаны на согласованном мнении экспертов, что говорит о необходимости дальнейших исследований в данной области.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, ишемический инсульт, оральные антикоагулянты

Список сокращений: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ДИ – доверительный интервал, ИИ – ишемический инсульт, МНО – международное нормализованное отношение, ОР – относительный риск, ПОАК – прямые оральные антикоагулянты, РКИ – рандомизированное контролируемое исследование, ТВ – тромбинспецифическое время, ТИА – транзиторная ишемическая атака, ТЛТ – тромболитическая терапия, ФП – фибрилляция предсердий, ЭВС – экариновое время свертывания.

Для цитирования: В.И. Петров, А.С. Герасименко, В.С. Горбатенко, О.В. Шаталова. Фармакодинамика оральных антикоагулянтов у больных с фибрилляцией предсердий в остром периоде ишемического инсульта. *Фармация и фармакология.* 2020;8(4):222-232. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-222-232

© В.И. Петров, А.С. Герасименко, В.С. Горбатенко, О.В. Шаталова, 2020

For citation: V.I. Petrov, A.S. Gerasimenko, V.S. Gorbatenko, O.V. Shatalova. Pharmacodynamics of oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation in the acute period of ischemic stroke. *Pharmacy & Pharmacology.* 2020;8(4):222-232. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-222-232

PHARMACODYNAMICS OF ORAL ANTICOAGULANTS IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION IN THE ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE

V.I. Petrov, A.S. Gerasimenko, V.S. Gorbatenko, O.V. Shatalova

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

E-mail: brain@sprintnet.ru

Received 01 October 2020

Review (1) 11 October 2020

Review (2) 20 October 2020

Accepted 25 October 2020

Background. Every fifth ischemic stroke is caused by a patient's history of atrial fibrillation. Nowadays, direct and indirect oral anticoagulants are widely used to prevent thromboembolic complications in patients with atrial fibrillation. However, despite the prescription of this group of drugs, every year 1–2% of patients with atrial fibrillation have an ischemic stroke. In this situation, a number of questions take rise: if it is possible to carry out thrombolytic therapy in the patients who have been taking anticoagulants; if it is worth resuming anticoagulant therapy after a stroke; when exactly this should be done; and what drugs should be used to prevent another stroke.

The aim of this review was to summarize the available clinical guidelines and research results on the study of the anticoagulant therapy characteristics in patients with atrial fibrillation after an ischemic stroke.

Materials and methods. For this review, the information presented in the scientific literature from open and available sources, has been used. The information had been placed in the following electronic databases: PubMed, Scopus, Web of Science Core Collection, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov; Elibrary, Cyberleninka, Google Academy. The covering period was 1997–2020.

The search queries were: “ischemic stroke + atrial fibrillation + anticoagulants”; “ischemic stroke + atrial fibrillation + direct oral coagulants” and “atrial fibrillation + ischemic stroke + warfarin” in both Russian and English equivalents.

Results and conclusion. Currently, the problem of the use of anticoagulants for the prevention of recurrent thromboembolic complications in patients with AF in the acute period of a stroke, is studied insufficiently. The difficulties are caused by the delivery of TLT in the patients who have been taking DOACs, first of all, due to the impossibility of an accurate assessment of the hemostasis state because of the unavailability of routine specific tests; and second, as a result of the lack of registered antidotes for most drugs, and their high costs. Besides, there are no RCTs dedicated to the study of the optimal time for the resumption or initiation of anticoagulant therapy in the acute period of an IS, and the optimal drugs for this group of patients. Most of the existing recommendations on these aspects, are based on the consensus of experts, and this fact indicates the need for further research in the area under review.

Keywords: atrial fibrillation, ischemic stroke, oral anticoagulants

Abbreviations: PTT – partial thromboplastin time; CI – confidence interval; IS – ischaemic stroke; INR – international normalized ratio; RR – risk ratio; DOAC – direct oral anticoagulant; RCT – randomized clinical trial; TT – thrombin time; TIA – transient ischaemic attack; TLT – thrombolytic therapy; AF – atrial fibrillation; ECT – ecarin clotting time.

ВВЕДЕНИЕ

Фибрилляция предсердий (ФП) представляет собой наиболее распространенную сердечную аритмию, самым тяжелым осложнением которой является кардиоэмболический инсульт. От 20 до 30% ишемических инсультов (ИИ) ассоциированы с ФП. ИИ у пациентов с ФП характеризуется более высоким риском смерти и чаще приводит к инвалидизации по сравнению с инсультами другой этиологии [1].

В ряде случаев ИИ оказывается первым признаком ФП, учитывая частый бессимптомный характер течения аритмии. При более раннем выявлении ФП всем пациентам с высоким риском тромбоэмболических осложнений показана антикоагулянтная терапия.

В настоящее время в арсенале врачей имеется целый ряд препаратов с доказанной эффективностью в отношении профилактики инсульта и других системных эмболий, включающий прямые (дабига-

тран, ривароксабан, апиксабан, эдоксабан) и непрямые (варфарин) оральные антикоагулянты.

Несмотря на успехи, достигнутые в профилактике тромбоэмболических осложнений ФП, частота ИИ у пациентов, принимающих антикоагулянты, составляет 1–2% в год [2]. У таких пациентов должны оцениваться приверженность к терапии, а также альтернативные причины инсульта.

Эффективным методом лечения острого ИИ в течение 4,5 часов от момента появления симптомов является проведение системного тромболитического рекомбинантным тканевым активатором плазминогена [3]. Однако вызывает сложность применение тромболитического у пациентов, получающих терапию оральными антикоагулянтами, ввиду высокого риска развития кровотечения. Также спорным остается вопрос о сроках возобновления антикоагулянтной терапии после перенесенного ИИ.

ЦЕЛЮ написания данного обзора было резюмировать имеющиеся клинические рекомендации и результаты исследований, посвященные изучению особенностей антикоагулянтной терапии у пациентов с фибрилляцией предсердий, перенесших ишемический инсульт.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для обзора использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников за период 1997–2020 гг., размещенных в электронных базах данных: PubMed, Scopus, Web of Science Core Collection, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov; Elibrary, Киберленинка, Google-академия. Поисковые запросы – «ишемический инсульт+фибрилляция предсердий+антикоагулянты»; «ишемический инсульт+фибрилляция предсердий+прямые оральные коагулянты» и «фибрилляция предсердий+ишемический инсульт+варфарин» как в русском, так и английском эквиваленте.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Системный тромболизис у пациентов, принимающих антикоагулянты

Системный тромболизис противопоказан пациентам, получающим антикоагулянты, при условии эффективной гипокоагуляции [4, 5]. Рекомбинантный тканевой активатор плазминогена может быть введен пациентам, принимающим варфарин, у которых значение международного нормализованного отношения (МНО) ниже 1,7. В данной ситуации проведение тромболитической терапии (ТЛТ) не приводило к существенному увеличению риска геморрагических осложнений [6, 7]. Однако стандартные тесты, такие как МНО, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время, не подходят для оценки коагуляции при использовании прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК) [8].

Плазменные концентрации дабигатрана, вызывающие значительный антикоагулянтный эффект, не приводили к существенным изменениям протромбинового времени и МНО. Показатель АЧТВ может изменяться под действием препарата, но соотношение между концентрацией дабигатрана в плазме и АЧТВ не является линейным [5]. Для оценки действия дабигатрана лучше всего подходят определения тромбинспецифического времени (ТВ) и экаринового времени свертывания (ЭВС), но особенно высокочувствительным к действию препарата является разбавленное время образования тромбина, которое дает количественную оценку действия дабигатрана, – Hemoclot (Nurphen BioMed, «Neuville-sur-Oise», Франция) [9].

Хотя протромбиновое время и АЧТВ могут удлиняться под действием прямых ингибиторов Ха фактора (ривароксабан, апиксабан, эдоксабан), данные анализы не дают количественной оценки антикоагу-

лянтным эффектам препаратов. Результаты протромбинового времени и АЧТВ также могут зависеть от используемого реагента и должны быть прокалиброваны в каждой лаборатории для определения эффекта конкретного препарата [5]. Наиболее достоверно концентрацию ингибиторов Ха фактора в плазме отражал хромогенный анализ анти-Ха активности [10, 11].

Приведенные данные подтверждаются в реальной клинической практике на примере немецкого регистра RASUNOA (Registry of Acute Stroke Under New Oral Anticoagulants), включавшего 290 пациентов, получающих терапию ПОАК, которые были госпитализированы с диагнозом острого ИИ с 2012 по 2015 гг. в неврологические отделения по всей Германии [2]. У пациентов анализировались показатели коагуляции путем проведения неспецифических (МНО, АЧТВ, ТВ, ЭВС) и специфических (анализ на анти-фактор Ха или гемоклот) тестов.

Согласно полученным данным слегка повышенный уровень МНО имело около половины (56,2%) пациентов, получавших дабигатран. Напротив, ТВ было выше верхнего предела у большинства (94%) пациентов на дабигатране и только у 14% пациентов, принимавших ингибиторы Ха фактора (ривароксабан, апиксабан). АЧТВ также чаще пролонгировалось на дабигатране (65%), чем на ривароксабане (32%) и апиксабане (13%). Было выявлено значительное количество ложноотрицательных результатов (11–44%) МНО и АЧТВ даже при превышении пиковых уровней концентрации ПОАК.

Специфические тесты проводились менее чем у половины пациентов, получавших ПОАК. Уровни концентрации препаратов сильно варьировали при поступлении, даже если были отмечены аналогичные интервалы от момента последнего приема (со слов пациентов). У 58% пациентов концентрация препаратов в крови находилась в пределах ожидаемого диапазона. У 25% испытуемых концентрация препарата, напротив, была ниже минимального уровня. Интересно, что 17% пациентов перенесли инсульт, хотя уровень антикоагулянта в крови превышал пиковый диапазон.

На основании выполненных тестов только у 9% пациентов был проведен системный тромболизис. Количество пациентов, теоретически подходящих для проведения тромболизиса, исходя из параметров коагуляции, сильно зависело от того, какими именно параметрами решили бы руководствоваться врачи. Например, если бы решение о ТЛТ в группе пациентов, получавших ривароксабан, принималось бы на основании нормальных значений анти-Ха, то подходящими кандидатами оказались бы только 12% исследуемых. В то время как, если бы решение врачей основывалось на нормальных значениях АЧТВ и ТВ, число подходящих пациентов увеличилось бы до 24%. Это подчеркивает низкую чувствительность не-

специфических тестов для определения концентрации ривароксабана.

Становится очевидным, что стандартные тесты на коагуляцию не надежны в прогнозировании фактического уровня ПОАК в крови. С другой стороны, возможность проведения специфических тестов имеется далеко не во всех медицинских учреждениях, даже в крупных сосудистых центрах. Таким образом, применение ПОАК для профилактики тромбоэмболических осложнений при ФП является барьером для проведения ТЛТ в случае возникновения у пациентов инсульта.

Согласно практическому руководству Европейской Ассоциации Сердечного Ритма по применению ПОАК при ФП тромболизис не может быть выполнен в течение 24 часов после последнего приема препарата из-за длительности периода полувыведения, который может также пролонгироваться при почечной недостаточности и у пожилых пациентов [12]. Оценка функции почек необходима для всех пациентов, получающих в качестве антитромботической терапии ПОАК, ввиду наличия у данных препаратов в той или иной степени (27–80%) почечного пути выведения. Причем для расчета клиренса креатинина предпочтительно пользоваться формулой Кокрофта-Голта, так как именно по этой формуле оценивали функцию почек во всех рандомизированных контролируемых исследованиях (РКИ) III фазы по изучению эффективности и безопасности ПОАК [13].

Помимо оценки почечной функции перед проведением ТЛТ необходима оценка системы гемостаза. В соответствии с Согласительным документом междисциплинарной группы экспертов по оказанию экстренной и неотложной медицинской помощи пациентам, получающим ПОАК, для качественной оценки остаточного антикоагулянтного эффекта дабигатрана достаточно определения АЧТВ и ТВ, в то время, как для прямых ингибиторов Ха фактора рекомендован к применению только хромогенный метод определения анти-Ха активности [14].

На основании мнения экспертов Европейской Ассоциации Сердечного Ритма допускается применение рекомбинантного тканевого активатора плазминогена у пациентов, получавших терапию ингибиторами Ха фактора свертывания, если по данным специфических тестов, проведенных без значительной задержки, их концентрация составляет менее 30 нг/мл (при измерении более чем через 4 часа после введения препарата) [12].

Согласно Европейским и Российским клиническим рекомендациям по лечению ФП, допускается проведение системного тромболизиса пациентам с нормальным АЧТВ, получавшим терапию дабигатраном, если с момента последнего приема препарата прошло более 48 часов (на основании консенсуса экспертов) [1, 15].

Также проведение ТЛТ у пациентов, принимав-

ших дабигатран, допускается при наличии специфического ингибитора – идаруцизумаба [16]. Идаруцизумаб представляет собой фрагмент человеческого моноклонального антитела, связывающийся с дабигатраном с высокой аффинностью, превосходящей связывающую способность дабигатрана к тромбину примерно в 300 раз [17]. Непосредственно после введения препарата концентрация несвязанного дабигатрана в плазме снижается более чем на 99%, что сопровождается быстрой нормализацией показателей, отражающих антикоагулянтную активность дабигатрана (ТВ, АЧТВ, ЭВС, разведенное тромбиновое время). Данный эффект сохраняется на протяжении по меньшей мере 24 часов. Сам по себе идаруцизумаб прокоагулянтного эффекта не оказывает.

Наиболее крупным проспективным исследованием, изучавшим эффективность препарата для нейтрализации действия дабигатрана у пациентов с кровотечениями или перед срочным оперативным вмешательством, является исследование REVERSEAD, однако в нем не участвовали пациенты, которым планировалось проведение тромболизиса [18]. Но существуют ретроспективные исследования, демонстрирующие эффективность и безопасность применения идаруцизумаба у данной категории больных [19, 20]. Также в 2018 году был опубликован систематический обзор серии случаев проведения ТЛТ после реверсии действия дабигатрана [21]. В нем представлены 55 случаев возникновения ИИ у пациентов, принимавших дабигатран, у которых при поступлении было зарегистрировано удлинение АЧТВ и тромбинового времени. Проведение тромболизиса после применения идаруцизумаба было успешно в 81,9% случаев. Неблагоприятные исходы (смерть/инвалидизация) были зарегистрированы у 10,9% больных. В России в настоящее время опубликовано описание одного успешного случая применения идаруцизумаба для реверсии действия дабигатрана перед проведением тромболизиса [22].

Несмотря на то, что в официальной инструкции проведение ТЛТ не является показанием к назначению идаруцизумаба, использование препарата в данной клинической ситуации регламентируется Протоколом реперфузионной терапии острого ишемического инсульта от 2019 года [16]. В соответствии с инструкцией по медицинскому применению рекомендуемая доза идаруцизумаба составляет 5 г (2 флакона по 2,5 г). Препарат вводится внутривенно в виде двух последовательных инфузий (по 2,5 г каждая) длительностью не более 5–10 мин каждая или в виде болюса.

В виду того, что для ингибиторов Ха фактора специфический антидот, андексанет альфа, не зарегистрирован на территории Российской Федерации, при отсутствии возможности определения анти-Ха-активности проведение тромболизиса противопоказано.

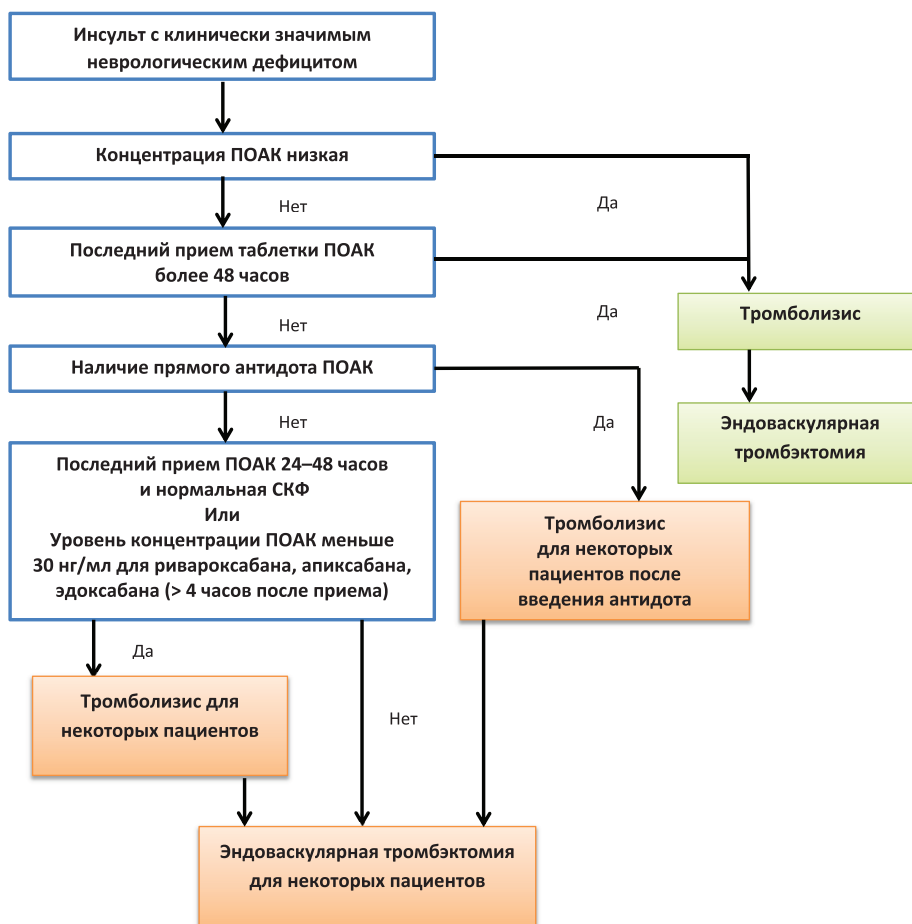


Рисунок 1 – Тактика лечения пациента, принимающего ПОАК, в остром периоде ишемического инсульта (адаптировано по данным J. Steffeletal, 2018 [12])

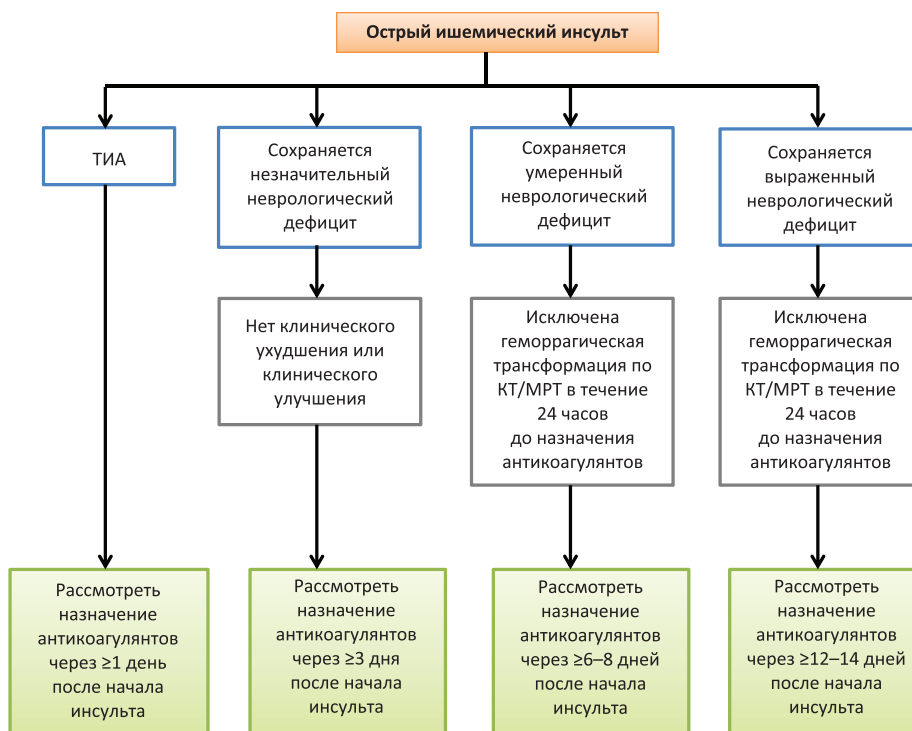


Рисунок 2 – Инициация/возобновление антикоагулянтной терапии после транзиторной ишемической атаки/ишемического инсульта (адаптировано по данным J. Steffeletal, 2018 [12])

Доказана польза от проведения эндоваскулярной тромбэктомии в интервале вплоть до 7,3 часов после начала инсульта у пациентов с дистальной окклюзией внутренней сонной артерии или проксимальной окклюзией средней мозговой артерии, не получавших антикоагулянты [12]. В рекомендациях Европейской Ассоциации Инсульта эндоваскулярная тромбэктомия упоминается в качестве терапии первой линии у больных с противопоказаниями к системному тромболизису [23]. Хотя испытания, лежащие в основе этих рекомендаций, включали лишь несколько пациентов, принимающих антикоагулянты, небольшое количество доступных данных говорит о том, что эндоваскулярная тромбэктомия может быть безопасной и у этих людей [12].

Тактика лечения пациента, принимающего ПОАК, в остром периоде ишемического инсульта отражена в рисунке 1.

Возобновление приема антикоагулянтов после транзиторной ишемической атаки или ишемического инсульта

У пациентов с ФП, перенесших кардиоэмболический инсульт, риск повторного инсульта в течение первых двух недель выше, чем у пациентов с ИИ другой этиологии, и частота его варьирует от 0,1 до 1,3% в день [24]. С другой стороны, наличие большого ишемического очага является предрасполагающим фактором к развитию геморрагической трансформации [25]. Шкалы CHA₂DS₂-VASc и HAS-BLED, которые широко применяются для оценки рисков тромбоэмболических и геморрагических осложнений при ФП для принятия решения о назначении антикоагулянтов, не подходят для использования в остром периоде инсульта [26]. Таким образом, вопрос о назначении антикоагулянтов после перенесенного ИИ является весьма непростым.

В метаанализе Paciaroni M. и соавторов [24], включавшем семь РКИ с участием 4624 пациентов с острым кардиоэмболическим инсультом, оценивалось назначение нефракционированного и низкомолекулярного гепарина в течение 48 часов от момента инсульта. Было показано, что назначение парентеральных антикоагулянтов в течение 7–14 дней после инсульта способствует незначительному снижению риска повторного ИИ (относительный риск (ОР) 0,68, 95% доверительный интервал (ДИ) 0,44–1,06), при этом отмечается значительное увеличение вероятности внутричерепного кровоизлияния (ОР 2,89, 95% ДИ 1,19–7,01).

В 2015 году были опубликованы результаты международного проспективного исследования RAF [27], которое включало 1037 пациентов с ФП из 29 инсультных отделений по всей Европе и Азии. Участвовавшие в исследовании пациенты наблюдались в течение 90 дней с момента возникновения ИИ на предмет развития повторного инсульта либо транзи-

торной ишемической атаки (ТИА), а также кровотечения (как внутричерепного, так и экстракраниального). Из 1029 человек, включенных в анализ (8 человек было исключено по причине недостатка данных), 766 получали терапию антикоагулянтами: 113 (14,7%) пациентам был назначен низкомолекулярный гепарин, 284 (37,1%) – антагонисты витамина К, 93 (12,1%) принимали ПОАК, 276 человек получали низкомолекулярный гепарин с последующим переходом на антагонисты витамина К. Из 263 пациентов, которые не получали антикоагулянты, 231 человек принимали антиагреганты, 32 человека не получали никакой антитромботической терапии.

Было установлено, что пациенты, которые получали только пероральные антикоагулянты, имели значительно более низкий риск возникновения кровотечения по сравнению с пациентами, получавшими низкомолекулярный гепарин с последующим переходом на пероральные антикоагулянты либо только низкомолекулярный гепарин (этот режим был ассоциирован с самым высоким риском кровотечений). Пациенты, принимавшие только ПОАК, имели низкий риск как внутричерепного кровотечения (2,1%), так и повторного ишемического события (4,3%). Кроме того, в исследовании определялся наиболее оптимальный срок для начала лечения антикоагулянтами. Было показано, что назначение антикоагулянтной терапии с 4 по 14 день от момента развития ИИ является одновременно безопасным и эффективным по сравнению с началом лечения до или после этого периода.

Однако исследование RAF имело некоторые ограничения, связанные с отсутствием рандомизации и, как следствие, влиянием на отбор: пациенты с меньшим очагом поражения головного мозга и с более благоприятным течением заболевания, вероятно, начали получать антикоагулянтную терапию в более ранние сроки, чем пациенты с тяжелыми инсультами. Также назначение только низкомолекулярного гепарина в раннем постинсультном периоде могло быть связано с развитием дисфагии и, вероятно, более тяжелым течением заболевания у таких пациентов.

Несколько проспективных обсервационных исследований изучали потенциальные риски и преимущества раннего назначения ПОАК пациентам, перенесшим ИИ, связанный с ФП. Три исследования включали пациентов, недавно перенесших кардиоэмболический инсульт, которые наблюдались в течение не менее 3 месяцев до клинических исходов (рецидивирующий ИИ и внутричерепное кровотечение) [28–30]. Во всех трех исследованиях значительная доля пациентов принимали ПОАК: NOACISP – 155 (75%), SAMRUAI-NVAF – 475 (41%), RAF-NOAC – 1127 (100%). Средний возраст их составил 76–79 лет, тяжесть инсульта оценивалась с помощью шкалы инсульта Национального института здоровья – NIHSS и составила от 3 до 8 баллов. Начало приема

антикоагулянтов приходилось в среднем на 5 день от перенесенного острого события. Годовой риск рецидивирующего ИИ был примерно равным во всех исследованиях и составил 7,7% в NOACISP, 8,5% в SAMRUIA-NVAF и 7,8% в RAF-NOAC. Риск внутрисердечных кровотечений был низким в исследованиях NOACISP и SAMRUIA-NVAF (1,3% и 1,2% в год соответственно), тогда как в исследовании RAF-NOAC он составил 6,4% в год. Большинство внутрисердечных кровотечений в RAF-NOAC были ассоциированы с более поздним началом антикоагулянтной терапии.

В двух небольших РКИ изучалось раннее назначение ПОАК после нетяжелого инсульта. Одно из исследований, проводившееся в 14 академических медицинских центрах Южной Кореи, включало 183 пациента, которым спустя 5 дней после перенесенного кардиоэмболического ИИ (тяжесть в среднем 2 балла по шкале NIHSS) назначалась антикоагулянтная терапия [31]. Участники были рандомизированы в две группы: первая группа принимала ривароксабан 10 мг в сутки в течение 5 дней, затем 15 или 20 мг в сутки; вторая – варфарина с целевым МНО 2,0–3,0. Первичной конечной точкой было сочетание нового ишемического поражения или нового внутрисердечного кровоизлияния, наблюдаемое по результатам магнитно-резонансной томографии через 4 недели. Группа ривароксабана ($n = 95$) и группа варфарина ($n = 88$) не показали различий в первичной конечной точке (47 [49,5%] против 48 [54,5%]; ОР 0,91; 95% ДИ 0,69–1,20) или в ее отдельных компонентах (новое ишемическое поражение: 28 [29,5%] против 31 из 87 [35,6%]; ОР 0,83; 95% ДИ 0,54–1,26; новое внутрисердечное кровоизлияние: 30 [31,6%] против 25 из 87 [28,7%], ОР 1,10; 95% ДИ 0,70–1,71).

В исследовании DATAS II дабигатран сравнивали с аспирином у 301 пациента с ТИА или нетяжелым инсультом (до 9 баллов по шкале NIHSS), но без подтвержденной ФП [32]. Прием препаратов начинался в течение 72 часов с момента развития острого события и продолжался в течение 30 дней. Магнитно-резонансная томография выполнялась до рандомизации и повторялась на 30 день. Первичной конечной точкой была симптомная геморрагическая трансформация. Симптомы геморрагической трансформации не проявились ни в одной из групп. Бессимптомная петехиальная геморрагическая трансформация развилась у 11/142 (7,8%) пациентов, которым назначали дабигатран, и у 5/142 (3,5%) пациентов, которым назначали аспирин (ОР 2,301; ДИ 95%, 0,778–6,802). Таким образом, дабигатран имеет аналогичный аспирину риск геморрагической трансформации при остром нетяжелом некардиоэмболическом ИИ или ТИА. Хотя полученные данные нельзя экстраполировать на пациентов с ИИ, обусловленным ФП, исследовании DATAS II дает некоторую уверенность в безопасности раннего начала антикоагулянтной терапии у таких пациентов.

В настоящее время продолжают четыре РКИ (ELAN, Швейцария; TIMING, Швеция; OPTIMAS, Великобритания; START, США) с участием в общей сложности до 9000 человек, перенесших ИИ на фоне ФП [26]. Участникам исследований назначают ПОАК в остром периоде инсульта. Конечными точками во всех РКИ являются наступление ишемических или геморрагических событий, три из них также включают сердечно-сосудистую смертность или смертность от всех причин. Результаты исследований ожидаются в 2021 году.

В 2013 году Европейская Ассоциация Сердечного Ритма от Европейского Общества Кардиологов предложила пользоваться правилом «1–3–6–12 дней», согласно которому начало приема антикоагулянта зависит от тяжести перенесенного инсульта [33]. Наиболее ранняя инициация или возобновление антикоагулянтной терапии рекомендованы пациентам с ТИА – на следующий день после острого события, и легким инсультом (NIHSS < 8) – через 3 дня после острого события. У пациентов с инсультом средней тяжести (NIHSS 8–15) и тяжелым инсультом (NIHSS ≥ 16) рекомендовано воздержаться от назначения антикоагулянтов после острого события на 6 и 12 дней соответственно.

Данная стратегия по вторичной профилактике ИИ сохраняется и в последующей редакции рекомендаций от 2016 года [34]. Аналогичный подход находит отражение и в Российских клинических рекомендациях «Диагностика и лечение фибрилляции предсердий» 2017 года [15]. Однако оба документа основывают свои рекомендации на согласованном мнении экспертов, ввиду отсутствия достаточного количества проспективных исследований.

В 2019 году были опубликованы рекомендации Европейской Организации Инсульта по вторичной профилактике инсульта у пациентов с ФП [35]. Авторы документа также указывают на необходимость проведения дополнительных исследований для определения оптимального времени начала антикоагулянтной терапии. В отсутствие таковых предложено возобновлять прием антикоагулянтов через 3–4 дня после легкого инсульта, через 7 дней после умеренного и не ранее, чем через 14 дней после тяжелого. Кроме того, в течение 48 после ИИ до начала антикоагулянтной терапии рекомендовано назначение аспирина в дозировке 100–300 мг для профилактики тромбоэмболических осложнений. Данные рекомендации основаны на двух больших РКИ без ослепления (IST и CAST), которые продемонстрировали, что при назначении аспирина в течение 48 часов после острого события смертность и частота рецидива инсульта минимальны [36, 37].

Руководство Американской Кардиологической Ассоциации и Американской Ассоциации Инсульта 2018 года по раннему ведению пациентов с ИИ рекомендуют назначать оральные антикоагулянты через

4–14 дней после развития неврологической симптоматики, основываясь на результатах исследования RAF [38].

Таким образом, большинство руководств по лечению пациентов с ФП и ИИ, рекомендуют начинать антикоагулянтную терапию в первые 14 дней от развития острой симптоматики, ориентируясь на тяжесть течения заболевания и размеры очага поражения (алгоритм назначения антикоагулянтов после ТИА или ИИ представлен на рис. 2). Данные рекомендации основываются на консенсусе экспертов и нескольких проспективных исследованиях, имеющих в настоящее время. Для определения более точной тактики ведения таких пациентов требуется больше данных, полученных на основании крупных РКИ.

В настоящее время мы также не располагаем исчерпывающими данными относительно того, каким препаратам следует отдавать предпочтение в остром периоде ИИ. Пациенты с острым инсультом не были включены в РКИ 3 фазы, изучавшие эффективность ПОАК. Однако в этих исследованиях выделялась subgroup больных, когда-либо ранее переносивших ИИ или ТИА. Так, в исследовании RE-LY, в котором изучалась эффективность двух дозировок дабигатрана 110 мг или 150 мг 2 раза/сут в сравнении с варфарином, subgroup пациентов, перенесших инсульт, составила 2428 человек с медианой наблюдения равной 2 годам [39]. В исследовании ROCKET AF с ривароксabanом в дозе 20 мг или 15 мг (при клиренсе креатинина 30–49 мл/мин) однократно 7468 участников с предшествующими ИИ или ТИА наблюдались в течение 1,85 лет [40]. В РКИ с аписабаном (ARISTOTLE) в дозе 5 мг или 2,5 мг (для пациентов с двумя или более из следующих: возраст ≥ 80 лет, масса тела ≤ 60 кг, креатинин сыворотки ≥ 133 мкмоль/л) 2 раза/день количество пациентов с предшествующим инсультом составило 3436 человек со средней продолжительностью наблюдения 1,8 лет [41]. В исследовании ENGAGE AF-TIMI 48, сравнивавшем эффективность эдоксабана при однократном приеме в режиме высоких (60/30 мг) или низких (30/15 мг) доз с варфарином, subgroup из 5973 человек с предшествующими

ИИ или ТИА наблюдалась в течение 2,8 лет [42]. При объединенном анализе результатов этих исследований выявлено, что прием ПОАК был ассоциирован со значительным снижением геморрагического инсульта (ОР 0,43; 95% ДИ 0,29–0,64) и смерти от любой причины (ОР 0,87; 95% ДИ 0,80–0,95) по сравнению с варфарином. Однако не было существенной разницы в риске развития тромбоэмболических осложнений (ОР 0,91; 95% ДИ 0,81–1,02) или повторного ишемического инсульта (ОР 1,15; 95% ДИ 0,84–1,57) [35]. Следует отметить, что наблюдалось значительное снижение тромбоэмболических осложнений и инсульта в пользу ПОАК, когда были включены схемы более высоких доз дабигатрана и эдоксабана, в то время как снижение геморрагического инсульта оставалось сходным. Таким образом, на основании рекомендаций Европейской Организации Инсульта ПОАК следует отдавать предпочтение в отношении вторичной профилактики ИИ в сравнении с варфарином по причине их большей безопасности (низкий риск развития внутричерепного кровотечения).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя все выше сказанное, можно заметить, что проблема применения антикоагулянтов для профилактики повторных тромбоэмболических осложнений у пациентов с ФП в остром периоде инсульта в настоящее время изучена недостаточно. Сложности вызывает проведение ТЛТ у пациентов, принимавших ПОАК, в первую очередь, из-за невозможности точной оценки состояния гемостаза в виду недоступности рутинного проведения специфических тестов, во вторую очередь, отсутствие зарегистрированных антидотов для большинства препаратов и их высокая стоимость. Также отсутствуют РКИ, посвященные изучению оптимального времени для возобновления или инициации антикоагулянтной терапии в остром периоде ИИ и оптимальных препаратов для данной группы пациентов. Большинство существующих рекомендаций по этим аспектам основаны на согласованном мнении экспертов, что говорит о необходимости дальнейших исследований в данной области.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данный обзор не имел финансирования от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

В.И. Петров – планирование и редактирование обзора; А.С. Герасименко – написание обзора; В.С. Горбатенко – сбор материала для обзора; О.В. Шаталова – сбор материала обзора.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kirchhof P., Benussi S., Kotecha D., Ahlsson A., Atar D., Casadei B., Castella M., Diener H., Heidbuchel H., Hendriks J., Hindricks G., Manolis A.S., Oldgren J., Popescu B.A., Schotten U., Van Putte B., Vardas P. 2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with eacts // Russian Journal of Cardiology. – 2017. – V. 7. – P. 77–86. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-7-7-86>
2. Purrucker J.C., Haas K., Rizos T., Khan S., Poli S., Kraft P.,

- Kleinschnitz C., Dziewas R., Binder A., Palm F., Jander S., Soda H., Heuschmann P.U., Veltkamp R. RASUNOA Investigators (Registry of Acute Stroke Under New Oral Anticoagulants). Coagulation Testing in Acute Ischemic Stroke Patients Taking Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants // *Stroke*. – 2017. V. 1. – P. 152–158. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.014963
3. Emberson J., Lees K.R., Lyden P., Blackwell L., Albers G., Bluhmki E., Brott T., Cohen G., Davis S., Donnan G., Grotta J., Howard G., Kaste M., Koga M., von Kummer R., Lansberg M., Lindley R.I., Murray G., Olivot J.M., Parsons M., Tilley B., Toni D., Toyoda K., Wahlgren N., Wardlaw J., Whiteley W., del Zoppo G.J., Baigent C., Sandercock P., Hacke W. Stroke Thrombolysis Trialists' Collaborative Group. Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from randomised trials // *Lancet*. 2014. – V. 384, N 9958. – P. 1929–1935. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60584-5
 4. Diener H.C., Stanford S., Abdul-Rahim A., Christensen L., Hougaard K.D., Bakhai A., Veltkamp R., Worthmann H. Anti-thrombotic therapy in patients with atrial fibrillation and intracranial hemorrhage // *Expert Rev Neurother*. – 2014. – V. 14, N 9. – P. 1019–1028. DOI: 10.1586/14737175.2014.945435
 5. Hankey GJ, Norrving B, Hacke W, Steiner T. Management of acute stroke in patients taking novel oral anticoagulants // *Int J Stroke*. – 2014. – V. 9, N 5. – P. 627–632. DOI: 10.1111/ijvs.12295
 6. Xian Y., Liang L., Smith E.E., Schwamm L.H., Reeves M.J., Olson D.M., Hernandez A.F., Fonarow G.C., Peterson E.D. Risks of intracranial hemorrhage among patients with acute ischemic stroke receiving warfarin and treated with intravenous tissue plasminogen activator // *JAMA*. – 2012. – V. 307. – P. 2600–2608. DOI: 10.1001/jama.2012.6756.
 7. Veltkamp R, Rizos T. Stroke: is thrombolysis safe in anticoagulated ischaemic stroke? // *Nat Rev Neurol*. – 2013. – V. 9. – P. 492–493. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.159
 8. Мелкумян А.Л., Берковский А.Л., Кишинец Р.С., Козлов А.А. Мониторинг эффективности применения прямых антикоагулянтов // *Гематология и трансфузиология*. – 2013. – Т. 58, №1. – С. 32–38.
 9. Van Ryn J., Stangier J., Haertter S., Liesenfeld K.H., Wiene W., Feuring M., Clemens A. Dabigatran etexilate—a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity // *Thromb Haemost*. – 2010. – V. 103, N 6. – P. 1116–1127. DOI: 10.1160/TH09-11-0758
 10. Lindhoff-Last E., Samama M.M., Ortel T.L., Weitz J.I., Spiro T.E. Assays for measuring rivaroxaban: their suitability and limitations // *Ther Drug Monit*. – 2010. – V. 32, N 6. – P. 673–679. DOI: 10.1097/FTD.0b013e3181f2f264
 11. Hillarp A., Gustafsson K.M., Faxälv L., Strandberg K., Baghaei F., Fagerberg Blixter I., Berndtsson M., Lindahl T.L. Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor apixaban on routine coagulation assays and anti-FXa assays // *J Thromb Haemost*. – 2014. – V. 12, N 9. – P. 1545–53. DOI: 10.1111/jth.12649
 12. Tefel J., Verhamme P., Potpara T.S., Albaladejo P., Antz M., Desteghe L., Haeusler K.G., Oldgren J., Reinecke H., Roldan-Schilling V., Rowell N., Sinnaeve P., Collins R., Camm A.J., Heidbüchel H. ESC Scientific Document Group. The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation // *Eur Heart J*. – 2018. – V. 39. – P. 1330–1393. DOI:10.1093/eurheartj/ehy136
 13. Петров В.И., Шаталова О.В., Герасименко А.С., Горбатенко В.С. Безопасность применения прямых оральных антикоагулянтов у пациентов с фибрилляцией предсердий и хронической болезнью почек. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2019. – Т. 15, №4. – С. 530–537. DOI: 10.20996/1819-6446-2019-15-4-530-537
 14. Ревিশвили А.Ш., Шляхто Е.В., Замятин М.Н., Баранова Е.И., Божкова С.А., Вавилова Т.В., Голухова Е.З., Драпкина О.М., Жибурт Е.Б., Журавлева М.В., Загородний Н.В., Затейщиков Д.А., Золотухин И.А., Иванова Г.Е., Кобалава Ж.Д., Лебединский К.М., Михайлов Е.Н., Напалков Д.А., Новикова Н.А., Новикова Т.Н., Сапелков С.В., Стойко Ю.М., Хасанова Д.Р., Шамалов Н.А., Явелов И.С., Янишевский С.Н. Особенности оказания экстренной и неотложной медицинской помощи пациентам, получающим прямые оральные антикоагулянты: согласительный документ междисциплинарной группы экспертов // *Вестник аритмологии*. – 2018. – V. 92. – P. 59–72.
 15. Ревিশвили А.Ш., Шляхто Е.В., Сулимов В.А., Рзаев Ф.Г., Горев М.В., Нардая Ш.Г., Шпектор А.В., Голицын С.П., Попов С.В., Шубик Ю.В., Яшин С.М., Михайлов Е.Н., Покушалов Е.А., Гиляров М.Ю., Лебедев Д.С., Андреев Д.А., Баталов Р.Е., Пиданов О.Ю., Медведев М.М., Новикова Н.А. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Клинические рекомендации. – М.: Всероссийское научное общество специалистов по клинической электрофизиологии, аритмологии и кардиостимуляции, 2017. – 211 с.
 16. Реперфузионная терапия ишемического инсульта. Клинический протокол. – Москва: Изд-во Медпресс, 2019. – 80 с.
 17. Праксбайнд. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения. [Электронный ресурс]: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=8666bf48-05a5-4dc2-b2cf-1c2d7aee7543&t=. (дата обращения 30.04.2020)
 18. Pollack C.V. Jr, Reilly P.A., van Ryn J., Eikelboom J.W., Glund S., Bernstein R.A., Dubiel R., Huisman M.V., Hylek E.M., Kam C.W., Kamphuisen P.W., Kreuzer J., Levy J.H., Royle G., Sellke F.W., Stangier J., Steiner T., Verhamme P., Wang B., Young L., Weitz J.I. Idarucizumab for dabigatran reversal - full cohort analysis // *N Engl J Med*. – 2017. – V. 377. – P. 431–441. DOI: 10.1056 / NEJMoa1707278
 19. Tse D.M., Young L., Ranta A., Barber P.A. Intravenous alteplase and endovascular clot retrieval following reversal of dabigatran with idarucizumab // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2018. – V. 89, N 5. – P. 549–550. DOI: 10.1136/jnnp-2017-316449.
 20. Kermer P., Eschenfelder C.C., Diener H.C., Grond M., Abdalla Y., Althaus K., Berrouschot J., Cangür H., Daffertshofer M., Edelbusch S., Gröschel K., Haase C.G., Harloff A., Held V., Kauter A., Kraft P., Lenz A., Müllges W., Obermann M., Partowi S., Purrucker J., Ringleb P.A., Röther J., Rossi R., Schäfer N., Schneider A., Schuppner R., Seitz R.J., Szabo K., Wruck R. Antagonizing dabigatran by idarucizumab in cases of ischemic stroke or intracranial hemorrhage in Germany // *A national case collection. Int J Stroke*. – 2017. V. 12, N 4. – P. 383–391. DOI: 10.1177/1747493017701944

21. Giannandrea D., Caponi C., Mengoni A., Romoli M., Marando C., Gallina A., Marsili E., Sacchini E., Mastrocola S., Padiglioni C., Mazzoli T., Cenciarelli S., Ricci S. Intravenous thrombolysis in stroke after dabigatran reversal with idarucizumab: case series and systematic review // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2019. – V. 90, N 5. – P. 619–623. doi:10.1136/jnnp-2018-318658
22. Пудов Е.В., Сухачева Н.Н., Петелина И.С. Первый опыт тромболитической терапии инфаркта мозга в Российской Федерации после применения идаруцизумаба // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. – 2020. – Т. 12, №1. – С. 68–71. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2020-1-68-71>
23. Wahlgren N., Moreira T., Michel P., Steiner T., Jansen O., Cognard C., Mattle H.P., van Zwam W., Holmin S., Tatlisumak T., Petersson J., Caso V., Hacke W., Mazighi M., Arnold M., Fischer U., Szikora I., Pierot L., Fiehler J., Gralla J., Fazekas F., Lees K.R.; ESO-KSU, ESO, ESMINT, ESNR and EAN. Mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke: Consensus statement by ESO-Karolinska Stroke Update 2014/2015, supported by ESO, ESMINT, ESNR and EAN // *Int J Stroke*. – 2016. – V. 11, N 1. – P. 134–147. DOI: 10.1177/1747493015609778.
24. Paciaroni M., Agnelli G., Micheli S., Caso V. Efficacy and safety of anticoagulant treatment in acute cardioembolic stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials // *Stroke*. – 2007. – V. 38, N 2. – P. 423–30. DOI: 10.1161/01.STR.0000254600.92975.1f
25. Paciaroni M., Agnelli G., Corea F., Ageno W., Alberti A., Lanari A., Caso V., Micheli S., Bertolani L., Venti M., Palmerini F., Biagini S., Comi G., Previdi P., Silvestrelli G. Early hemorrhagic transformation of brain infarction: rate, predictive factors, and influence on clinical outcome: results of a prospective multicenter study // *Stroke*. – 2008. – V. 39. – P. 2249–2256. DOI: 10.1161 / STROKEAHA.107.510321
26. Seiffge D.J., Werring D.J., Paciaroni M., Dawson J., Warach S., Milling T.J., Engelter S.T., Fischer U., Norrving B. Timing of anticoagulation after recent ischaemic stroke in patients with atrial fibrillation // *Lancet Neurol*. – 2019. – V. 18. – P. 117–126. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30356-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30356-9)
27. Paciaroni M., Agnelli G., Falocci N., et al. Early recurrence and cerebral bleeding in patients with acute ischemic stroke and atrial fibrillation: effect of anticoagulation and its timing: The RAF study // *Stroke*. – 2015. – V. 46, N 8. – P. 2175–2182. DOI: 10.1161/STROKEAHA
28. Seiffge D.J., Traenka C., Polymeris A., Hert L., Peters N., Lyrer P., Engelter S.T., Bonati L.H., De Marchis G.M. Early start of DOAC after ischemic stroke: Risk of intracranial hemorrhage and recurrent events // *Neurology*. – 2016. – V. 87, N 18. – P. 1856–1862. DOI: 10.1212/WNL.00000000000003283
29. Arihiro S., Todo K., Koga M., et al. Three-month risk-benefit profile of anticoagulation after stroke with atrial fibrillation: the SAMURAI-Nonvalvular Atrial Fibrillation (NVAf) study // *Int J Stroke*. – 2016. – V. 11. – P. 565–574. DOI: 10.1177/1747493016632239
30. Paciaroni M., Agnelli G., Falocci N., et al. Early recurrence and major bleeding in patients with acute ischemic stroke and atrial fibrillation treated with non-vitamin-K oral anticoagulants (RAF-NOACs) study // *J Am Heart Assoc*. – 2017. – V. 6. – e007034. DOI: 10.1161/JAHA.117.007034
31. Hong K.S., Kwon S.U., Lee S.H., Lee J.S., Kim Y.J., Song T.J., Kim Y.D., Park M.S., Kim E.G., Cha J.K., Sung S.M., Yoon B.W., Bang O.Y., Seo W.K., Hwang Y.H., Ahn S.H., Kang D.W., Kang H.G., Yu K.H. Phase 2 exploratory clinical study to assess the effects of xarelto (rivaroxaban) versus warfarin on ischemia, bleeding, and hospital stay in acute cerebral infarction patients with non-valvular atrial fibrillation (triple axel) study group. rivaroxaban vs warfarin sodium in the ultra-early period after atrial fibrillation-related mild ischemic stroke: a randomized clinical trial // *JAMA Neurol*. – 2017. – V. 74, N 10. – P. 1206–1215. DOI: 10.1001/jamaneurol.2017.2161
32. Ng K.H., Sharma M., Benavente O., et al. Dabigatran following acute transient ischemic attack and minor stroke II (DATAS II) // *Int J Stroke*. – 2017. – V. 12. – P. 910–914. DOI: 10.1177/1747493017711947
33. Heidebuchel H., Verhamme P., Alings M., Antz M., Hacke W., Oldgren J., Sinnaeve P., Camm A.J., Kirchhof P. EHRA practical guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation: executive summary. // *Eur Heart J*. – 2013. – V. 34. – P. 2094–106. DOI: 10.1093/eurheartj/eh134
34. Kirchhof P., Benussi S., Kotecha D., Ahlsson A., Atar D., Casadei B., Castella M., Diener H.C., Heidebuchel H., Hendriks J., Hindricks G., Manolis A.S., Oldgren J., Popescu B.A., Schotten U., Van Putte B., Vardas P. ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS // *Eur Heart J*. – 2016. – V. 37. – P. 2893–2962. DOI:10.1093/eurheartj/ehw210
35. Klijn C.J., Paciaroni M., Berge E., et al. Antithrombotic treatment for secondary prevention of stroke and other thromboembolic events in patients with stroke or transient ischemic attack and non-valvular atrial fibrillation: A European Stroke Organisation guideline // *Eur Stroke J*. – 2019. – V. 4, N 3. – P. 198–223. DOI: 10.1177/2396987319841187
36. 36. The International Stroke Trial (IST): a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19435 patients with acute ischaemic stroke // *International Stroke Trial Collaborative Group. Lancet*. – 1997. – V. 349. – P. 1569–1581.
37. CAST: randomised placebo-controlled trial of early aspirin use in 20,000 patients with acute ischaemic stroke // *CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group. Lancet*. – 1997. – V. 349. – P. 1641–1649.
38. Powers W.J., Rabinstein A.A., Ackerson T., et al. 2018 Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association // *Stroke*. – 2018. – V. 49. – P. 46–110. DOI: 10.1161/STR.0000000000000158
39. Diener H.C., Connolly S.J., Ezekowitz M.D., et al. Dabigatran compared with warfarin in patients with atrial fibrillation and previous transient ischaemic attack or stroke: a subgroup analysis of the RE-LY trial // *Lancet Neurol*. – 2010. – V. 9. – P. 1157–1163. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70274-X
40. Hankey G.J., Patel M.R., Stevens S.R., et al. Rivaroxaban compared with warfarin in patients with atrial fibrillation and previous stroke or transient ischaemic attack: a subgroup analysis of ROCKET AF // *Lancet Neurol*. – 2012. – V. 11. – P. 315–322. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70042-X

41. Easton J.D., Lopes R.D., Bahit M.C., Wojdyla D.M., Granger C.B., Wallentin L., Alings M., Goto S., Lewis B.S., Rosenqvist M., Hanna M., Mohan P., Alexander J.H., Diener H.C.; ARISTOTLE Committees and Investigators. Apixaban compared with warfarin in patients with atrial fibrillation and previous stroke or transient ischaemic attack: a subgroup analysis of the ARISTOTLE trial // *Lancet Neurol.* – 2012. – V. 11. – P. 503–511. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70092-3
42. Rost N.S., Giugliano R.P., Ruff C.T., Murphy S.A., Crompton A.E., Norden A.D., Silverman S., Singhal A.B., Nicolau J.C., SomaRaju B., Mercuri M.F., Antman E.M., Braunwald E.; ENGAGE AF-TIMI 48 Investigators. Outcomes With Edoxaban Versus Warfarin in Patients With Previous Cerebrovascular Events: Findings From ENGAGE AF-TIMI 48 (Effective Anticoagulation With Factor Xa Next Generation in Atrial Fibrillation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 48) // *Stroke.* – 2016. – V. 47. – P. 2075–2082. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013540.

АВТОРЫ

Петров Владимир Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии ВолгГМУ, главный внештатный специалист - клинический фармаколог Министерства Здравоохранения Российской Федерации, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ. ORCID ID: 0000-0002-0258-4092. E-mail: brain@sprintnet.ru

Герасименко Анастасия Сергеевна – ассистент кафедры клинической фармакологии и интенсивной

терапии ВолгГМУ. ORCID ID: 0000-0002-7957-3770. E-mail: 16any_61@mail.ru

Горбатенко Владислав Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ВолгГМУ. ORCID ID: 0000-0002-6565-2566. E-mail: vsgorbatenko@volgmed.ru

Шаталова Ольга Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ВолгГМУ. ORCID ID: 0000-0002-7311-4549. E-mail: ovshatalova@volgmed.ru

УДК 615.453.42



РАЗРАБОТКА ТВЕРДОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С АДсорбЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

М.В. Чиркова, Д.К. Гуляев, М.П. Чугунова, В.Д. Белоногова

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации
614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

E-mail: dkg2014@mail.ru

Получено 19.03.2020

Рецензия (1) 15.05.2020

Рецензия (2) 06.08.2020

Принята к печати 05.09.2020

Энтеросорбенты выпускаются в различных лекарственных формах – порошки, таблетки, пасты и др., также некоторые наименования встречаются в виде капсул. Из шишек ели обыкновенной получен водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПК), проявляющий выраженную адсорбционную активность, что обуславливает перспективы разработки лекарственных форм сорбентов.

Цель работы – разработка твердой лекарственной формы с адсорбционной активностью на основе водорастворимого полисахаридного комплекса ели обыкновенной шишек.

Материалы и методы. В качестве растительного сырья использовали образцы ели обыкновенной шишек, собранные на территории Ильинского района Пермского края. Из сырья был получен водорастворимый полисахаридный комплекс. С целью улучшения технологических свойств субстанции ВРПК были получены грануляты ВРПК. Грануляты получали вручную, путем влажного гранулирования. Адсорбционную активность, полученных гранулятов, определяли по способности связывать метиленовый синий.

Результаты. В результате эксперимента установлено, что субстанция ВРПК шишек ели нуждается в улучшении технологических свойств. Гранулирование субстанции привело к улучшению технологических свойств и увеличению адсорбционной активности у большинства выбранных составов. Так же показано, что при повышенной влажности гранулята понижается его адсорбционная активность. Выявлена прямая зависимость адсорбционной активности от концентрации гранулирующей жидкости, за исключением некоторых гранулятов, но существенного влияния размера частиц гранулята на проявление адсорбционного действия, не было выявлено. По результатам исследования предложена лекарственная форма «Капсулы» для составов, показавших наилучшие результаты адсорбционной активности, и проведена их биофармацевтическая оценка по тесту «Распадаемость».

Заключение. Таким образом, была получена твердая лекарственная форма с адсорбционной активностью. Проведенное исследование показывает перспективность дальнейших исследований по получению лекарственного средства с адсорбционной активностью на основе водорастворимого полисахаридного комплекса шишек ели.

Ключевые слова: сорбенты, капсулы, водорастворимый полисахаридный комплекс, шишки ели обыкновенной, адсорбционная активность, грануляция

DEVELOPMENT OF A SOLID DOSAGE FORM WITH ADSORPTION ACTIVITY

M.V. Chirkova, D.K. Gulyaev, M.P. Chugunova, V.D. Belonogova

Perm State Pharmaceutical Academy
2, Poleyava St., Perm, Russia 2614990

E-mail: dkg2014@mail.ru

Received 19 March 2020

Review (1) 15 May 2020

Review (2) 06 July 2020

Accepted 05 September 2020

Для цитирования: М.В. Чиркова, Д.К. Гуляев, М.П. Чугунова, В.Д. Белоногова. Разработка твердой лекарственной формы с адсорбционной активностью. *Фармация и фармакология*. 2020;8(4):233-241. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-233-241

© М.В. Чиркова, Д.К. Гуляев, М.П. Чугунова, В.Д. Белоногова

For citation: M.V. Chirkova, D.K. Gulyaev, M.P. Chugunova, V.D. Belonogova. Development of a solid dosage form with adsorption activity. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(4):233-241. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-233-241

Enterosorbents are produced in various dosage forms - powders, tablets, pastes, etc., some of them are also manufactured in the form of capsules. A water-soluble polysaccharide complex (WSPC) manifesting a pronounced adsorption activity, which determines the prospects for the development of dosage forms of sorbents, was obtained from the cones of European Spruce (*Picea abies*).

The aim of the work is to develop a solid dosage form with an adsorption activity based on a water-soluble polysaccharide complex from the cones of European Spruce (*Picea abies*).

Materials and methods. The samples of European Spruce (*Picea abies*) cones were collected on the territory of Ilyinsky district of the Perm Krai and used as plant raw materials. A water-soluble polysaccharide complex was obtained from the raw materials. In order to improve the technological properties of the substance, (WSPC) granulates were obtained. The granulates were hand-made by wet granulation. The adsorption activity of the obtained granules was determined by the ability to bind methylene blue.

Results. As a result of the experiment it has been established, that the WSPC substance of European Spruce (*Picea abies*) cones needs to be improved in its technological properties. Granulation of the substance led to an improvement in technological properties and an increase in the adsorption activity in most of the selected compositions. It has also been shown that increased moisture content of granulate decreases its adsorption activity. A direct dependence of the adsorption activity on the concentration of the granulating liquid (with the exception of some granulates) has been revealed, but no significant effect of the size of the granulate particles on the manifestation of the adsorption effect has been reported. According to the results of the study, a dosage form "Capsules" has been proposed for the compositions that showed the best results of the adsorption activity, and their biopharmaceutical evaluation was carried out according to the disintegration test.

Conclusion. Thus, a solid dosage form with an adsorption activity has been obtained. The study shows the prospects for further research on the preparation of the drug with an adsorption activity based on the water-soluble polysaccharide complex of European Spruce (*Picea abies*) cones.

Keywords: sorbents, capsules, water-soluble polysaccharide complex, European Spruce (*Picea abies*) cones, adsorption activity, granulation

ВВЕДЕНИЕ

Энтеросорбенты – лекарственные средства различной структуры, которые связывают и выводят экзо- и эндогенные вещества в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) путем адсорбции, абсорбции, ионообмена, комплексообразования [1].

Растительные полисахариды обладают массой полезных свойств, в том числе адсорбционных [2–4]. Несмотря на растворимость в воде, они способны «связывать» тяжёлые металлы, некоторые группы вторичных метаболитов. Эти взаимодействия имеют сложный характер и описываются не только адсорбционными, но и межмолекулярными взаимодействиями или способностью к комплексообразованию. Кроме того, использование термина «водорастворимые полисахариды – ВРПС» часто критикуется, поскольку понятно, что вода извлекает комплекс веществ, при экстракции растительного сырья. Поэтому использование этого термина, скорее дань традиции, чем описание конкретных физико-химических взаимодействий [2–5]. Показано, что водные растворы пектиновых полисахаридов плодов рябины обыкновенной проявляют выраженную антиоксидантную и антирадикальную активность [6, 7]. Полисахариды водного растения *Brasenia schreberi* J.F.Gmel. проявляют выраженную антирадикальную активность [8]. Изучаются сорбционные свойства растительных полисахаридов: пектиновых веществ персика и персиковой камеди [9–11], яблок и корзинок подсолнечника [9]; растительных полисахаридных комплексов из расторопши, плодов шиповника, семян тыквы, арбуза, косточек винограда, грецкого ореха [13]. Полисахариды донника желтого, про-

являют противовоспалительное [13], иммунокорректирующее [14, 15], антианемическое и адаптогенное действие [16]. Полисахариды *Stipa parviflora* в экспериментах *in vivo* проявляют гепатопротекторную активность [17]. Полисахариды листьев *Psidium guajava* проявляют гипогликемическую активность на модели диабета, вызванного стрептозотоцином [18].

Сорбенты на растительной основе, в частности полисахаридные, попадая в тонкий кишечник, полностью или частично ферментируются под воздействием микрофлоры. Известно, что некоторые источники пребиотических волокон, такие как инулин, резистентные крахмалы и некоторые олигосахариды, действуют в качестве селективного субстрата для бактерий, которые продуцируют специфические короткоцепочечные жирные кислоты и могут снижать pH в кишечнике. Короткоцепочечные жирные кислоты стимулируют пролиферацию клеток эпителия, что обеспечивает заживление поврежденного участка стенки толстой кишки [19]. Благодаря образованию короткоцепочечных жирных кислот, полисахариды способствуют росту полезной микрофлоры *Bifidobacteria* и *Lactobacilli*, а также угнетают рост патогенных микроорганизмов [2, 20]. В этом заключается преимущество сорбентов на основе полисахаридов по сравнению с другими сорбентами, получаемыми не из растительного сырья.

В Пермской государственной фармацевтической академии на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники из сырья ели обыкновенной шишек был получен водорастворимый полисахаридный комплекс, обладающий адсорбционной активностью. ВРПК

шишек ели в эксперименте проявлял выраженную адсорбционную активность по способности связывать метиленовый синий, являющийся маркером для большинства медицинских сорбентов. Адсорбционная активность ВРПК шишек ели ($232,88 \pm 4,17$), оказалась выше активности препаратов сравнения – угля активированного ($230,9 \pm 1,12$) и диоксида ($211,5 \pm 1,42$) кремния коллоидного [21]. Водорастворимый полисахаридный комплекс шишек ели проявляет выраженную противовоспалительную активность, на модели острого каррагенинового отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 1% раствора каррагенина. Водорастворимый полисахаридный комплекс шишек ели достоверно в сравнении с контролем тормозил нарастание воспалительного отека на 65%, что сопоставимо с активностью препарата сравнения диклофенака натрия (68,3% торможения воспалительной реакции) [22]. Установлено, что ВРПК шишек ели обладает антиоксидантной активностью. Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ). Величина IC_{50} (концентрация вещества, способная связать половинную концентрацию радикала ДФПГ) для ВРПК шишек ели составляет 19,56 мкг/мл, та же величина для вещества сравнения (аскорбиновая кислота) составляет 9 мкг/мл, что свидетельствует о присутствии антиоксидантной активности у исследуемого вещества [23].

Учитывая этот факт, являются актуальными исследования по разработке лекарственной формы для полученного комплекса.

ЦЕЛЬ работы – разработка твердой лекарственной формы в виде капсул с адсорбционной активностью на основе водорастворимого полисахаридного комплекса шишек ели обыкновенной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали водорастворимый полисахаридный комплекс, представляющий собой тонкодисперсный аморфный порошок светло-коричневого цвета с характерным запахом. ВРПК из шишек ели получали по стандартной методике, описанной Н.К. Кочетковым [24]. Навеску воздушно-сухого сырья измельчали до размера частиц диаметром 2 мм. Водорастворимый полисахаридный комплекс шишек ели получали экстрагированием водой очищенной в соотношении 1:10 при температуре 80°C в течение 1,5 часов. Полученные экстракты упаривали под вакуумом и осаждали ВРПК добавлением трехкратного количества спирта 95%. При добавлении спирта, полисахариды выпадали в осадок, далее осадок отфильтровывали и очищали многократным промыванием спиртом этиловым 95%. Высушивали в суховоздушном шкафу при температуре 60°C, измельчали.

Образцы ели обыкновенной шишек для полу-

чения полисахаридного комплекса собирали до созревания семян в июле 2017 года, на территории Ильинского района Пермского края в ельнике зеленомошном. Сушка образцов сырья проводилась естественным воздушно-теневым способом. Заготовленное и высушенное сырье соответствовало требованиям Государственной Фармакопеи XIV издания по показателям: содержание эфирного масла, содержание дубильных веществ и содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой [24].

С целью улучшения технологических свойств субстанции ВРПК были получены грануляты ВРПК. Грануляты ВРПК шишек ели получали влажным гранулированием. Влажное гранулирование проводили вручную по следующей: навеску порошка ВРПК отвешивали на аналитических весах в ступку, необходимое количество гранулирующей жидкости отвешивали мерным цилиндром. Овлажняли порошок путем постепенного добавления гранулирующей жидкости и смешиванием с порошком. Затем массу протирали через плетеное сито с отверстиями 1 мм и 0,5 мм. Полученные гранулы рассыпали тонким слоем на бумагу в металлический поднос и сушили в сушильном шкафу при температуре 60° в течение 2 часов.

Определение технологических параметров субстанции и полученных гранулятов проводили согласно методикам, изложенным в Государственной Фармакопее Российской Федерации XIV издания [25]: сыпучесть, насыпная плотность (масса), прессуемость, влажность.

Для выбора необходимого рационального состава было использовано математическое планирование методом латинского квадрата [26]. В качестве факторов, которые повлияют на адсорбционную активность, были взяты: водные гранулирующие жидкости (фактор А): A_1 – раствор агар-агара; A_2 – раствор альгината натрия; A_3 – раствор метилцеллюлозы; A_4 – раствор пектина; концентрация гранулирующей жидкости (фактор В): B_1 – 1%; B_2 – 5%; влажность полученного гранулята (фактор С): C_1 – от 6% до 8%; C_2 – свыше 8%, размер частиц гранулята (фактор D): D_1 – 1 мм; D_2 – 0,5 мм, наполнитель в гранулируемой смеси (фактор E): E_1 – без наполнителя; E_2 – с наполнителем (лактозой).

Сорбционную активность определяли по способности вещества связывать метиленовый синий по методике В.И. Решетникова [27]. Около 0,2 г полисахаридов или гранулятов (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляли 50 мл 0,15% раствора метиленового синего, и перемешивали на лабораторном шейкере с числом колебаний 140 в минуту в течение 1 часа. Отделение равновесного раствора после сорбции проводили путем центрифугирования при 8000 оборотов в минуту. Один миллилитр надосадочной жидкости переносили в мерную колбу объемом 500 мл, и доводили до метки водой очищенной. Далее измеряли опти-

ческую плотность на спектрофотометре СФ 2000 при 664 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную. Расчет показателя сорбционной активности проводили по общепринятой формуле:

$$X = \frac{(A_0 - A) \times a \times 50}{A_0 \times b \times (1 - 0,01 \times W)}$$

где A_0 – оптическая плотность раствора РСО метиленового синего; A – оптическая плотность испытуемого раствора; a – фактическая концентрация раствора РСО метиленового синего мг/мл; b – навеска вещества в граммах; 50 – объем раствора РСО альбумина, мл; W – влажность вещества в процентах.

Испытание на распадаемость проводили по методике [24] на приборе «Качающаяся корзинка» ERWEKA ZT 223. Отбирали 18 образцов наполненных капсул и помещали по одному образцу в каждую из 6 трубок. Далее опускали корзинку в сосуд с водой температуры 36°C, включали прибор и засекали время. По истечении 30 мин корзинку вынимали и исследовали состояние капсул. Все образцы должны распасться. Не менее 16 из 18 образцов должны полностью распасться.

Для некоторых образцов применяли методику с использованием дисков – в этих случаях перед началом определения на каждый из шести образцов помещался диск. В остальном методика идентична.

Образец считался полностью распавшимся, когда кроме фрагментов нерастворимой оболочки капсулы, находящихся на сетке или прилипших к нижней поверхности диска, нет никакого остатка или остаток представляет собой мягкую массу, которая разрушается при легком прикосновении стеклянной палочки.

Все измерения проводили минимум в семи повторениях. Статистическую обработку проводили согласно ОФС.1.1.0013.15 ГФ XIV изд. «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Расчет граничных значений доверительного интервала проводили по критерию Стьюдента в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки возможности использования субстанции в твердой лекарственной форме (капсулы) были исследованы технологические свойства и получены следующие характеристики, представленные в таблице 1.

Наиболее важным показателем при капсулировании порошкованных масс является сыпучесть, так как наполнении твердых желатиновых капсул дозирование осуществляется объемным методом. Как показано в таблице 1, у субстанции ВРПК отсутствует способность свободно высыпаться из воронки под воздействием силы тяжести (свободная сыпучесть). Воздействие вибрации не оказало значительного

улучшения показателя (индекс Карра = 22,78%, индекс Хауснера = 1,30). Величина угла естественного откоса исследуемой субстанции также оказалась выше рекомендованного значения (36–45°). При определении насыпной плотности установлено, что значения данного показателя находятся ниже пределов нормы. Таким образом, проведенные исследования показали, что субстанция ВРПК имеет неудовлетворительные технологические характеристики: сыпучесть (с вибрацией и без вибрации), угол естественного откоса, насыпная плотность. В связи с этим в дальнейшем при разработке состава и технологии капсулированной лекарственной формы с субстанцией ВРПК необходимо будет улучшать технологические характеристики данной субстанции путем добавления вспомогательных веществ и использования различных технологических приемов (например, влажного гранулирования).

Известно, что превращение порошкообразного материала в частицы определенной величины (гранулирование) оказывает выраженное положительное влияние на показатели сыпучести. Классическим способом гранулирования является скрепление частиц материала раствором связующего вещества (раствор агар-агара, раствор альгината натрия, раствор метилцеллюлозы, раствор пектина) с последующей сушкой (влажное гранулирование). С целью улучшения сыпучести субстанции ВРПК был получен ряд гранулятов в комбинациях с различными вспомогательными веществами.

Также известно, что одним из важнейших показателей качества для сухих препаратов из лекарственного растительного сырья является влажность. Данный параметр оказывает выраженное влияние на самые различные показатели: стабильность препарата, его количественное содержание, технологические характеристики, такие как сыпучесть и насыпная плотность, адсорбционная активность. Значительное количество влаги на поверхности и внутри материала может заметно снижать его адсорбционную активность. Поэтому у каждого изготовленного гранулята были изучены технологические характеристики, определена влажность и адсорбционная активность.

Результаты изучения влажности полученных гранулятов и адсорбционной активности представлены в таблице 2.

В результате проведенных исследований установлено, что грануляция способом влажного гранулирования привела к увеличению адсорбционной активности у большинства выбранных составов, за исключением составов №1 и №3. Наибольшую адсорбционную активность среди составов № 1-8 показал гранулят №8. При изучении полученных данных из таблицы 2, было подтверждено влияние влажности гранулята на его адсорбционную активность. При повышенной влажности гранулята понижается его адсорбционная активность, что может быть объясне-

но уменьшением сорбционной емкости материала вследствие связывания с молекулами воды. Учитывая полученные данные, следующие грануляты были получены с влажностью не более 8% (фактор С).

Также выявлена прямая зависимость адсорбционной активности от концентрации гранулирующей жидкости (фактор В), за исключением гранулятов №4 и №5. По результатам таблицы 2, были выбраны для дальнейшего исследования гранулирующие жидкости – растворы альгината натрия, метилцеллюлозы и пектина в концентрации 5%. Смеси, гранулируемые раствором агар-агара, были исключены из дальнейшего анализа в виду низкой адсорбционной активности (1% раствор) и затрудненного процесса гранулирования (5% раствор).

Для дальнейшего исследования с целью оптимальной корректировки технологических характеристик в гранулируемую смесь ВРПК была добавлена лактоза. Лактоза является известным вспомогательным веществом группы дисахаридов, широко применяемым в технологии твердых лекарственных форм. После проведенных предварительных исследований технологических характеристик смеси гранулятов ВРПК с лактозой в различных соотношениях, было предложено оптимальное соотношение 9:1 (ВРПК : лактоза) [27]. Были изучены технологические характеристики составов и их адсорбционная активность.

Изучалось влияние факторов А (вид гранулирующей жидкости), В (концентрация гранулирующей жидкости), D (размер частиц гранулята), Е (наличие или отсутствие лактозы) на адсорбционную активность гранулятов. Показатели адсорбционной активности оценивали в сравнении с исходной субстанцией ВРПК и порошком угля активированного. Активированный уголь использовали в качестве препарата сравнения как известный адсорбционный препарат с широким спектром действия.

Результаты исследований влияния гранулирующей жидкости, влажности и размера частиц на технологические характеристики гранулятов ВРПК с лактозой представлены в таблице 3.

По результатам проведенных исследований установлено, что все исследуемые грануляты (№9 – №11) имеют следующие технологические характеристики: удовлетворительную сыпучесть с приемлемым углом естественного откоса (индекс Хауснера 1,09–1,19; индекс Карра 8,94–16,49%) и достаточно высокую насыпную плотность.

При анализе полученных результатов, представленных в таблице 3, было отмечено следующее: уменьшение размера частиц до 0,5 мм (№ 10 и № 12) привело к незначительным изменениям технологических характеристик, по сравнению с гранулятами с размером частиц 1 мм (№ 9, № 11, № 13) и практически не оказало влияние на исходные технологические характеристики субстанции ВРПК. Таким образом, сделан вывод, что размер частиц гранулята в интерва-

ле от 0,5 до 1,0 мм не оказывает существенного влияния на его технологические характеристики.

Также установлено, что вид гранулирующей жидкости и наличие в гранулятах лактозы не изменяют технологические характеристики исследуемых гранулятов.

При изучении адсорбционной активности исследуемых гранулятов (№9 – №11) был установлен ряд выводов. Из полученных результатов, приведенных в таблице 4, следует, что при добавлении лактозы в гранулируемую смесь увеличивается адсорбционная активность гранулята, за исключением гранулятов состава №11, №12. Изменение размера частиц не выявило зависимости, т.к. адсорбционная активность гранулятов №13, №14, №11, №12 уменьшается при уменьшении размера частиц, а адсорбционная активность гранулятов № 9, №10 увеличивается при уменьшении частиц. Для установления зависимости адсорбционной активности от размера частиц необходимо в дальнейшем провести дополнительные исследования.

Для разработки твердой дозированной лекарственной формы с адсорбционной активностью были учтены литературные данные. Известно, что существуют ряд проблем при разработке твердых дозированных лекарственных форм с высокой адсорбционной активностью. В случае применения сорбентов отсутствуют высвобождение и всасывание какого-либо активного начала в биологические среды. Другой особенностью сорбентов является возможность частичной или полной инактивации фармакологически активного ингредиента в процессе приготовления лекарственной формы от ряда факторов: нагревание или контакт со вспомогательными веществами и растворителями, механические воздействия, обезвоживание, создание защитных покрытий и т.д. [28]. Учитывая выше сказанное, при разработке твердой дозированной лекарственной формы, были выбраны твердые желатиновые капсулы. Преимуществом капсул перед другими твердыми лекарственными формами (например, таблетки) является уменьшение технологических стадий, т.к. отсутствует стадия таблетирования (прессования), где необходимы механические воздействия, часто приводящие к снижению адсорбционной активности вещества.

Для наполнения были выбраны желатиновые капсулы STANDARD типоразмера 0 с объемом заполнения 0,68 мл [29]. Большой типоразмер капсул был выбран с учетом предполагаемой дозировки субстанции ВРПК.

Капсулы наполняли гранулятами №9, №10, №11, №12, №13, №14 объемным способом и проводили определение распадаемости полученной лекарственной формы, согласно ГФ [25]. Тест проводили в приборе «Качающаяся корзинка» с использованием дисков и без них. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 1 – Технологические характеристики субстанции ВРПК

Объект	Влажность, %	Сыпучесть, г/с		Угол естественного откоса, °	Насыпная плотность, кг/м ³		Индекс Хауснера	Индекс Карра
		Без вибрации	С вибрацией		До уплотнения (неупл)	После уплотнения (упл)		
ВРПК	8,2	Отсутствует	2,74 ± 0,2	51	569,69±3,56	737,83±2,26*	1,30	22,78
Нормы	–		3,06,5	36–45	> 600	> 600	1,19–1,25	16–20
Соответствие нормам	–	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Не соотв.	Не соотв.

Примечание: * $p \geq 0,001$ – по сравнению с образцом до уплотнения

Таблица 2 – Влияние гранулирующей жидкости, ее концентрации и влажности на адсорбционную активность гранулятов

№ п/п	Объект	Влажность, %	Адсорбционная активность, мг/г	
			\bar{x}	$\pm \Delta x$
1	ВРПК	8,2	180,03	± 0,88
2	Порошок угля активированного	7,8	232,64	± 0,51
3	№1 – A ₁ B ₁ C ₁ D ₁ E ₁	8,5	112,28	± 0,54
4	№2 – A ₁ B ₂ C ₁ D ₁ E ₁	9,7	195,91	± 0,85**
5	№3 – A ₁ B ₂ C ₂ D ₁ E ₁	18,3	94,13	± 0,52
6	№4 – A ₂ B ₁ C ₁ D ₁ E ₁	7,3	221,91	± 0,51**
7	№5 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₁ E ₁	7,5	192,25	± 0,91**
8	№6 – A ₃ B ₁ C ₁ D ₁ E ₁	6,6	191,41	± 0,41**
9	№7 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₁ E ₁	7,2	215,44	± 0,76**
10	№8 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₁ E ₁	7,7	266,95	± 0,83*

Примечание: * – достоверно при доверительном интервале $p \geq 0,001$ по сравнению с порошком активированного угля; ** – $p \geq 0,001$ по сравнению с ВРПК

Таблица 3 – Влияние гранулирующей жидкости, влажности и размера частиц на технологические характеристики гранулятов ВРПК с лактозой (9:1)

№ п/п	Объект	Размер частиц, мм	Влажность, %	Сыпучесть при вибрации, г/с	Угол естественного откоса, °	Насыпная плотность, кг/м ³		Индекс Хауснера	Индекс Карра, %
						До уплотнения (неупл)	После уплотнения (упл)		
1	ВРПК	1,0	8,2	2,74 ± 0,2	51	569,69±3,56	737,83±2,26	1,30	22,78
2	№9 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1,0	7,3	8,47 ± 0,82*	35	537,72±2,89	590,54±2,34	1,09	8,94
3	№10 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	7,3	7,44 ± 0,39*	40	575,16±3,04***	662,30±2,58***	1,15	13,16
4	№11 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1,0	6,8	6,02 ± 0,30*	60	458,45±3,25	529,80±2,19	1,16	13,47
5	№12 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	7,4	5,03 ± 0,79**	40	488,24±2,97***	578,14±2,47***	1,18	15,50
6	№13 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1,0	6	7,16 ± 0,54*	38	481,60±3,16	542,38±2,32	1,12	11,20
7	№14 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	6	6,10 ± 0,42*	40	511,50±3,05***	612,54±2,28***	1,19	16,49
8	Нормы	–	–	3,0-6,5	36–45	> 600	> 600	1,19–1,25	16–20

Примечание: * – достоверно при доверительном интервале $p \geq 0,001$ по сравнению с ВРПК; ** – $p \geq 0,05$ по сравнению с ВРПК; *** – $p \geq 0,001$ по сравнению с размером частиц 1 мм

Таблица 4 – Влияние гранулирующей жидкости, влажности и размера частиц на адсорбционную активность гранулятов ВРПК с лактозой (9:1)

№ п/п	Объект	Размер частиц, мм	Влажность, %	Адсорбционная активность, мг/г
				$\bar{x} \pm \Delta x$
1	ВРПК	1	8,2	180,03 ± 0,88
2	Порошок угля активированного	1	7,8	232,64 ± 3,12
3	№9 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1	7,3	215,73 ± 0,43*
4	№10 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	7,3	271,54 ± 0,10**
5	№11 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1	6,8	150,80 ± 0,84
6	№12 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	7,4	115,66 ± 0,74**
7	№13 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1	6,0	250,58 ± 0,95*/***
8	№14 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	6,0	232,70 ± 0,94*

Примечание: * – достоверно при доверительном интервале $p \geq 0,001$ по сравнению с ВРПК; ** – $p \geq 0,001$ по сравнению с размером частиц 1 мм; *** – $p \geq 0,001$ по сравнению с размером частиц 0,5 мм; A₂ – раствор альгината натрия; A₃ – раствор метилцеллюлозы; A₄ – раствор пектина

Таблица 5 – Результаты теста «Распадаемость» капсул, наполненных гранулятами ВРПК с лактозой (9:1)

№ п/п	Объект	Размер частиц, мм	Распадаемость, мин.	
			Без дисков	С дисками
1	№13 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1	> 30	–
2	№14 – A ₂ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	> 30	–
3	№11 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1	> 30	–
4	№12 – A ₃ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	25	18
5	№9 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₁ E ₂	1	> 30	–
6	№10 – A ₄ B ₂ C ₁ D ₂ E ₂	0,5	> 30	27

В ходе исследований было установлено, что факторы А (гранулирующая жидкость) и D (размер частиц гранулята) оказывают прямое влияние на способность капсулы распадаться за регламентированное время (не более 30 минут). Из результатов, представленных в таблице 5, видно, что капсулы, наполненные гранулятом № 12, распались за 25 минут по методике без дисков, капсулы с гранулятами №13, №14, №11, №9, №10 – более чем за 30 минут. Для улучшения показателей теста «Распадаемость» была применена методика с использованием дисков. По методике с дисками капсулы с гранулятом № 12 распались за 18 минут, с гранулятом № 10 – за 27 минут, что соответствует регламентированному времени. В дальнейших исследованиях возможно применение методики с использованием дисков.

Таким образом, наилучшие результаты теста Распадаемость были получены с использованием гранулирующей жидкости – раствора метилцеллюлозы при размере частиц гранулята 0,5 мм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В лабораторных условиях получена субстанция ВРПК шишек ели и определены ее технологические характеристики (сыпучесть с вибрацией и без вибрации, угол естественного откоса, насыпная масса до и

после уплотнения, индекс Карра и индекс Хауснера).

В лабораторных условиях получены грануляты ВРПК шишек ели и смеси ВРПК шишек ели с лактозой (9:1) с гранулирующими жидкостями: растворы агар-агара, альгината натрия, метилцеллюлозы, пектина в различных концентрациях с размерами частиц 1 мм и 0,5 мм и влажностью от 6% и выше. Всего было получено 14 гранулятов. Определены технологические характеристики (сыпучесть, угол естественного откоса, насыпная масса до и после уплотнения, индекс Карра и индекс Хауснера) и адсорбционная активность полученных гранулятов и зависимость данных показателей от факторов процесса грануляции.

В лабораторных условиях получены капсулы с гранулятами смеси ВРПК шишек ели с лактозой (9:1) и проведен тест «Распадаемость» полученной лекарственной формы. По методике с дисками капсулы с гранулятом двух составов показали удовлетворительный результат.

При исследовании фактора А перспективной гранулирующей жидкостью из выбранных нами оказался раствор пектина.

Таким образом, после проведенных исследований и статистической обработки полученных результатов был выбран оптимальный состав для капсулирования в твердые желатиновые капсулы STANDARD

типоразмера 0: субстанция ВРПК шишек ели с наполнителем лактозой в соотношении 9 : 1, связующей жидкостью раствором пектина 5% при влажности не выше 8% и размере частиц 0,5 мм, который можно

использовать для дальнейших исследований в рамках разработки создания нового лекарственного препарата природного происхождения с высокой адсорбционной активностью.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа не имела финансирования от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Новокшенов А.А., Соколова Н.В. Метод энтеросорбции и его клиническая эффективность в комплексной терапии ОКИ у детей // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, №1. – С. 140–147.
- Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и др. Фармакология некрахмальных полисахаридов // Вестник ДВО РАН. 2005. № 1. С. 72–82.
- Куличенко Е.О., Мыкоц Л.П., Туховская Н.А., Лигаи Л.В., Андреева О.А., Оганесян Э.Т. Изучение адсорбционных и кинетических характеристик природных сорбентов по отношению к катионам свинца (II) // Химия растительного сырья. – 2019. – №. 3. – С. 335–344.
- Оводов Ю.С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорганическая химия. – 1998. – Т. 24, № 7. – С. 483–501.
- Sakagami, H. Antitumor, antiviral and immunopotentiating activities of Pine cone extracts: potential medicinal efficacy of natural and synthetic lignin-related materials / H. Sakagami, Y. Kawazoe, N. Komatsu, A. Simpson // Anticancer research. – 1991. – P. 881–888.
- Лаксаева, Е. А., Сычев И. А. Влияние полисахарида ирги обыкновенной на физическую работоспособность животных // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2010. – №4. С. 148–152.
- Злобин А.А., Мартинсон Е.А., Литвинец С.Г., Овечкина И.А., Дурнев Е.А., Оводова Р.Г. Пектиновые полисахариды рябины обыкновенной *Sorbus aucuparia* L // Химия растительного сырья. – 2011. – №1. С. 39–44.
- Huiwen Xiao, Xueru Cai, Yijun Fan, Aoxue Luo. Antioxidant Activity of Water-soluble Polysaccharides from *Brasenia schreberi* // Pharmacognosy magazine. – 2016. – N12. P. 193–197. DOI: 10.4103/0973-1296.186343
- Халиков Д.Х., Мирзоева Р.С., Бободжинова Г.Н. О сорбционной активности пектиновых полисахаридов по отношению к ионам металлов // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. – 2017. – Т.60, №7–8. – С. 333–341.
- Bo Huang, Meice Lu, Dali Wang, Yiheng Song, Li Zhou. Versatile magnetic gel from peach gum polysaccharide for efficient adsorption of Pb²⁺ and Cd²⁺ ions and catalysis // Carbohydrate Polymers. – 2018. – V. 181. – P. 785–792. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.077>
- Jisuan Tan, Yiheng Song, Xiaohua Huang, Li Zhou* Facile Functionalization of Natural Peach Gum Polysaccharide with Multiple Amine Groups for Highly Efficient Removal of Toxic Hexavalent Chromium (Cr(VI)) Ions from Water // ACS Omega. – 2018. – №12. – P. 17309–17318. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02599>
- Глаголева Л.Э., Корнеева О.С., Родинова Н.С., Шуваева Г.П. Определение сорбционных характеристик растительных полисахаридных комплексов в различных технологических средах // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 1. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=5542>
- Сычев И.А. Механизм противовоспалительного действия полисахаридов донника желтого // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2008. – №2. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/mechanizm-protivovospalitelnogo-deystviya-polisaharidov-donnika-zhelтого>
- Huijun Wang, Guodong Wei, Fei Liu, Gautam Banerjee, Manoj Joshi, Annie Bligh, Songshan Shi, Hui Lian, Hongwei Fan, Xuelan Gu, Shunchun Wang. Characterization of Two Homogalacturonan Pectins with Immunomodulatory Activity from Green Tea // International journal of molecular sciences. – 2014. – №15. – P. 9963–9978. <https://doi.org/10.3390/ijms15069963>
- Popov S.V., Ovodov Yu.S. Polypotency of the immunomodulatory effect of pectins // Biochemistry. – 2013. – Vol. 78. – №7. P. 1053–1067.
- Сычев И.А., Подкозлин В.И., Донцов В.И., Кобелева Г.Ю., Харченко О.Н. Иммунокорректирующее, антианемическое и адаптогенное действие полисахаридов из донника лекарственного // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1996. – № 6. – С. 661–663.
- Bargougui K., Athmouni K., Chaieb M. Optimization, characterization and hepatoprotective effect of polysaccharides isolated from *Stipa parviflora* Desf. against CCl₄ induced liver injury in rats using surface response methodology (RSM) // International Journal of Biological Macromolecules. – 2019. – №132. – P. 524–533. DOI: 10.1016/j.ijbiomac
- You Luo, Bin Peng, Weiqian Wei, Xiaofei Tian and Zhenqiang Wu. Antioxidant and Anti-Diabetic Activities of Polysaccharides from Guava Leaves // Molecules. – 2019. – №24. – P. 1343. doi:10.3390/molecules24071343.
- Otles S., Ozgos S. Health effects of dietary fiber // Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. – 2014. – V. 12. – P. 191–202.
- Han Su, Jinghao Chen, Song Miao, Kaibo Deng, Jiawen Liu, Shaoxiao Zeng, Baodong Zheng, Xu Lu Lotus seed oligosaccharides at various dosages with prebiotic activity

- regulate gut microbiota and relieve constipation in mice // *Food and Chemical Toxicology*. – 2019. – V. 134. DOI: [10.1016/j.fct.2019.110838](https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110838).
21. Гуляев Д.К., Белоногова В.Д., Лялина Н.В. Изучение сорбционных свойств полисахаридов древесной зелени и шишек ели обыкновенной // Сборник научных работ XIV Международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований». – 2015. – № 5. – С. 64–65.
 22. Гуляев Д.К., Лялина Н.В., Рудакова И.П., Белоногова В.Д. Изучение противовоспалительной активности полисахаридных фракций древесной зелени и шишек ели обыкновенной // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1–2. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=19958>
 23. Гуляев, Д.К. Антиоксидантная активность полисахаридов древесной зелени и шишек ели обыкновенной (*Picea abies* (L.) H.Karst) / Д.К. Гуляев, Д.О. Семакин // Вестник ПГФА. – 2017. – №20. – С. 161–164.
 24. Кочетков, Н.К. Химия углеводов. – М.: Изд-во «Химия», 1967. – 672 с.
 25. Государственная фармакопея XIV издания. Том 2. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2018. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
 26. Коноров М.Р. Клиническая фармакология энтеросорбентов нового поколения // Вестник фармации. – 2013. – №4. – С. 79–85.
 27. Решетников, В.И. Принципы разработки лекарственных форм сорбентов: монография. – Пермь: ГОУ ВПО ПГФА Росздора, 2008. – 196 с.
 28. Ахназарова С.Л., Кафаров В.В. Методы оптимизации эксперимента в химической технологии. – М.: Высш. шк., 1985. – 327 с.
 29. Василова Р.А., Чиркова М.В., Гуляев Д.К., Чугунова М.П. Исследование технологических характеристик полисахаридного комплекса шишек ели обыкновенной // Сборник научно-практической конф. – Вестник ПГФА, Пермь, №21. – 2018. – С. 168–169.

АВТОРЫ

Чиркова Мария Владимировна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. E-mail: m.v._majka@inbox.ru

Гуляев Дмитрий Константинович – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. ORCID: 0000-0001-9464-1869. E-mail: dkg2014@mail.ru

Чугунова Мария Петровна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. E-mail: chmp@mail.ru

Белоногова Валентина Дмитриевна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. E-mail: belonogova@pfa.ru

УДК 615.07



ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СУБСТАНЦИИ 3-[2-(4-ФЕНИЛ-1-ПИПЕРАЗИНО)-2-ОКСОЭТИЛ]ХИНАЗОЛИН-4(3H)-ОНА В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

Т.А. Гендугов¹, А.А. Глушко¹, А.А. Озеров², Л.И. Щербакова¹

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России
357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

² ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России
400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, 1

E-mail: timbirlei2008@rambler.ru

Получено 14.01.2020

Рецензия (1) 16.04.2020

Рецензия (2) 26.06.2020

Принята к печати 05.08.2020

Цель работы – изучение стабильности новой фармацевтической субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-она под воздействием стресс-условий.

Материалы и методы. Исследование выполнено в соответствии с рекомендациями руководства ICH. Объектом исследования было ранее не изученное производное хиназолин-4(3H)-она: 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он, синтезированное в Волгоградском государственном медицинском университете. Было использовано лабораторное оборудование: ВЭЖХ-хроматограф, ВЭЖХ-МС, центрифуга, электронные весы, pH-метр, термостат, лабораторные фильтры. Вычислительный эксперимент проводился на компьютере с процессором Intel Xeon E3-1230 с использованием программ ORCA 4.1. и GROMACS 2019.

Результаты. Изучено и определено влияние неблагоприятных факторов внешней среды, таких как: высокая температура, свет, действие окислителей, гидролиза в кислой и щелочной среде на стабильность исследуемого вещества. Результаты компьютерного прогнозирования стабильности были подтверждены с помощью ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС, а также определены продукты деструкции субстанции в стрессовых условиях. Проведенные исследования показали, что исследуемое вещество стабильно к воздействию УФ-облучения при длине волны 365 нм, повышенной температуры (80°C), действию окислителей и нестабильно к гидролизу: в щелочной среде натрия гидроксида 1M происходит разрыв по амидной группе с образованием 2-(4-оксохиназолин-3-ил)уксусной кислоты и 1-фенилпиперазина; а в кислой среде кислоты хлористоводородной 1M также происходит деструкция, но она значительно снижается, предположительно, за счет протонирования и стабилизации третичных атомов азота в молекуле.

Заключение. Проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что исследуемая субстанция 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он стабильна к агрессивным факторам внешней среды, за исключением гидролиза в щелочной среде, что в дальнейшем будет учитываться при составлении нормативной документации этой фармацевтической субстанции.

Ключевые слова: производное хиназолин-4(3H)-она, фармацевтическая субстанция, стресс-тестирование, моделирование стресс-тестов, термолиз, фотолиз, гидролиз, высокоэффективная жидкостная хроматография, фотостабильность, термостабильность, GROMACS, ORCA

Список сокращений: Государственная фармакопея (ГФ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС), ультрафиолетовое излучение (УФ-излучение).

STUDY OF THE STABILITY OF THE SUBSTANCE 3-[2-(4-PHENYL-1-PIPERAZINO)-2-OXOETHYL]QUINAZOLINE-4(3H)-ONE UNDER STRESSFUL CONDITIONS

Т.А. Gendugov¹, А.А. Glushko¹, А.А. Ozerov², L.I. Shcherbakova¹

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia 357532

² Volgograd State Medical University
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia 400131

E-mail: timbirlei2008@rambler.ru

Received 14 January 2020

Review (1) 16 April 2020

Review (2) 26 June 2020

Accepted 05 August 2020

Для цитирования: Т.А. Гендугов, А.А. Глушко, А.А. Озеров, Л.И. Щербакова. Изучение стабильности субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-она в стрессовых условиях. *Фармация и фармакология*. 2020;8(4):242-254. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-242-254

© Т.А. Гендугов, А.А. Глушко, А.А. Озеров, Л.И. Щербакова, 2020

For citation: T.A. Gendugov, A.A. Glushko, A.A. Ozerov, L.I. Shcherbakova. Study of the stability of the substance 3-[2-(4-phenyl-1-piperazino)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one under stressful conditions. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(4):242-254. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-242-254

The aim of the research was to study the stability of a new pharmaceutical substance 3-[2-(4-phenyl-1-piperazino)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one under stress conditions.

Materials and methods. The study was conducted in accordance with the recommendations of the ICH guidelines. The object of the study was a previously unknown derivative of quinazoline-4(3H)-one: 3-[2-(4-phenyl-1-piperazino)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one synthesized in Volgograd state medical university. The following laboratory equipment was used: HPLC chromatograph, HPLC-MS, centrifuge, electronic scales, pH meter, thermostat, laboratory filters.

The computational experiment was conducted on a computer with an Intel Xeon E3-1230 processor using the programs ORCA 4.1. and GROMACS 2019.

Results. The influence of the most unfavorable environmental factors, such as high temperature, light, oxidants, hydrolysis in acidic and alkaline environments, affect the stability of the test substance. The results of the computer-based stability prediction were confirmed by HPLC and HPLC-MS, and the degradation products of the substance under stressful conditions were determined. The conducted studies showed that the test substance is stable to UV radiation at the wavelength of 365 nm, at the elevated temperature (80°C), to the action of oxidants. But it is unstable to hydrolysis: in an alkaline medium of sodium hydroxide 1M, a break in the amide group occurs with the formation of 2-(4-oxoquinazoline-3-yl)acetic acid and 1-phenylpiperazine. And in an acidic environment, hydrochloric acid 1M is also destroyed, but it is significantly reduced, presumably due to the protonation and stabilization of tertiary nitrogen atoms in the molecule.

Conclusion. The conducted research makes it possible to conclude that the test substance 3-[2-(4-phenyl-1-piperazino)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one is stable to aggressive environmental factors, with the exception of hydrolysis in an alkaline environment that will be further considered in the preparation of regulatory documents for this pharmaceutical substance.

Keywords: quinazoline-4(3H)-one derivative, pharmaceutical substance, stress testing, stress test modeling, thermolysis, photolysis, hydrolysis, high-performance liquid chromatography, photostability, thermal stability, GROMACS, ORCA

Abbreviations: State Pharmacopoeia (SF), high performance liquid chromatography (HPLC), high performance liquid chromatography with mass spectrometry (HPLC-MS), ultraviolet radiation (UV radiation).

ВВЕДЕНИЕ

Стрессовые испытания лекарственных средств представляют собой искусственно воссозданные неблагоприятные условия окружающей среды с целью установления продуктов их деградации (деструкции). Используют различные факторы, ускоряющие скорость химических реакций: высокие температуры, свет (в ультрафиолетовой и видимой области спектра), повышенная влажность, изменение показателей кислотности/щелочности среды, воздействие различных окислителей и других компонентов воздуха. Изучение и анализ продуктов деструкции и полураспада лекарственных средств при стресс-тестировании необходимо учитывать при разработке методик определения посторонних примесей, количественного определения, производства, хранения, транспортировки и других разрабатываемых нормативных документов на то или иное лекарственное средство [1].

Результаты стресс-тестов также позволяют оценить влияние кратковременных отклонений от заявленных условий хранения и различные пути деструкции исследуемых веществ, установить наиболее неблагоприятный фактор внешней среды, к которому более чувствительно исследуемое вещество. Данные о стабильности лекарственных субстанций к воздействию компонентов воздуха также позволяют более рационально подойти к вопросу о выборе ее первичной упаковки [2–4].

В частности, ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания указывает на то, что изучение стабильности лекарственных средств должно включать стрессо-

вые, ускоренные и долгосрочные испытания, а также особое внимание необходимо обращать на разработку программы изучения стабильности новых лекарственных средств. Для новых фармацевтических субстанций ГФ XIV издания стрессовые испытания рекомендует проводить в обязательном порядке [1].

ЦЕЛЬ работы – изучение стабильности новой фармацевтической субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-она под воздействием стресс-условий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в соответствии с рекомендациями руководства ICH и ГФ XIV издания [1, 5].

Объектом исследования была одна серия субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-она (лабораторный шифр: VMA-10-21), синтезированной в Волгоградском государственном медицинском университете. Структурная формула представлена на рисунке 1.

Исследования методом ВЭЖХ проводились с использованием системы UltiMate 3000 («Dionex», США) со спектрофотометрическим детектором с рабочим диапазоном длин волн от 190 до 900 нм. Сбор и обработка данных проводилась с использованием системы сбора и обработки хроматографических данных Chromeleon, версия 7 («Dionex», США). В работе показано, что при использовании в качестве подвижной фазы ацетонитрила и 0,05 М кислоты фосфорной pH=3,5 в соотношении (25:75) удается обеспечить оптимальные условия хроматографирования. Параметры эксперимента были следующие:

хроматографическая колонка из нержавеющей стали LunaC18 размером 150×4,6 мм с размером частиц 5 мкм, скорость потока 1 мл/мин, температура колонки 25°C, детектирование при 226 нм, объем вводимой пробы 20 мкл, время анализа 40 минут. Анализ ВЭЖХ-МС проводили на масс-спектрометре Bruker (Германия) путем ионизации электроспреем в режиме «Positive». Термостатирование образцов осуществлялось в термостате ТС-1/20 СПУ (Россия).

В качестве подвижной фазы нами был выбран ацетонитрил и 0,05M раствор кислоты фосфорной в соотношении 25:75, со значение pH 3,5±0,05. Водный раствор кислоты фосфорной доводили до указанного значения pH путем добавления раствора триэтиламина. Контроль pH осуществлялся потенциометрически. Центрифугирование проб перед ВЭЖХ анализом проводилось на центрифуге лабораторной с принадлежностями SIGMA 2-16P (Германия). Все растворы проб перед помещением их в прибор, центрифугировались при 8000 мин⁻¹, в течение 3 мин. Испытуемые растворы предварительно фильтровались через NylonMembrane, 0,2 μm 25 mm Syringe Filters (США). Взвешивание образцов проводилось на весах лабораторных электронных ЛВ 210-А, (Россия). Измерение величины pH растворов осуществлялось с использованием pH-метра pH-150МИ (Россия). Все растворители и реактивы, используемые в исследовании, соответствовали требованиям ОФС.1.3.0001.15 ГФ XIV изд.

Компьютерное моделирование стресс-тестов проводилось на рабочей станции с процессором IntelXeon E3-1230 и 16 Гб оперативной памяти. Оптимизация геометрии субстанции VMA-10-21 проводилась в программе ORCA 4.1. методом теории функционала плотности (UB3LYP) с применением базиса 3-21G*. Для изучения структуры твёрдого агрегатного состояния исследуемого вещества проводилось моделирование молекулярной динамики методом молекулярной механики в силовом поле CHARMM36 с использованием программы GROMACS 2019 [6,7]. Для параметризации молекулы исследуемого вещества был использован интернет-сервис SwissParam [8]. В моделируемую систему были включены 10 молекул исследуемого вещества, расположенные в случайном порядке. Далее производилась оптимизация геометрии градиентным методом.

Для изучения влияния температуры на стабильность субстанции VMA-10-21 точную навеску (около 50 мг) помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл спирта этилового 95%, помещали на ультразвуковую ванну на 15 минут до полного растворения субстанции. Полученный раствор кипятили в колбе с обратным холодильником на термостатируемой водяной бане (температура 80°C) в течение 3 часов, отбирая пробы каждые 45 минут. С целью поиска структуры твёрдого состояния производилось моделирование молекулярной динамики с использованием имитации отжига со

снижением температуры от 1000 К до 273 К в течение 200 нс с применением термостата Нозе-Гувера [9]. Далее из полученной структуры с целью изучения устойчивости исследуемого вещества к термолитизу было проведено моделирование молекулярной динамики системы из четырёх молекул с использованием неограниченного метода Хартри-Фока с базисным набором 3-21G* в течение 5000 фс с шагом 1 фс в программе ORCA 4.1. [10]. Термостатирование осуществлялось путём масштабирования скоростей с температурой 400 К и сферическими граничными условиями постоянного объёма.

Изучение влияния УФ-света на стабильность субстанции VMA-10-21 проводили следующим методом: точную навеску (около 50 мг) помещали в коническую колбу из кварцевого стекла вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл спирта этилового 95%, помещали на ультразвуковую ванну на 15 минут до полного растворения субстанции. Полученный раствор подвергали воздействию УФ-света при длине волны 365 нм, источник облучения полностью соответствовал требованиям ИСН. Отбор проб осуществляли каждые 3 часа. Компьютерное моделирование влияния света проводилось при использовании неограниченного метода Хартри-Фока, набор базисных функций 3-21G*, температура 400К, шаг моделирования 1 фс, длительность моделирования 5 пс и мультиплетностью молекулы равным 3.

Для изучения влияния действия кислот на стабильность субстанции точную навеску (около 50 мг) помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 40 мл спирта этилового 95%, помещали на ультразвуковую ванну на 15 минут до полного растворения субстанции. После чего добавляли 5 мл 1M раствора кислоты хлористоводородной. Полученный раствор кипятили в колбе с обратным холодильником на термостатируемой водяной бане (температура 80°C) в течение 45 минут. По окончании времени, раствор охлаждали и прибавляли 5 мл 1M раствора натрия гидроксида.

Изучение влияния действия щелочей на стабильность субстанции проводили следующим методом: точную навеску (около 50 мг) помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 40 мл спирта этилового 95%, помещали на ультразвуковую ванну на 15 минут до полного растворения субстанции. После чего добавляли 5 мл 1M раствора натрия гидроксида. Полученный раствор кипятили в колбе с обратным холодильником на термостатируемой водяной бане (температура 80°C) в течение 45 минут. По окончании времени раствор охлаждали и прибавляли 5 мл 1M раствора кислоты хлористоводородной.

С целью расчетов наиболее вероятных продуктов гидролиза в кислой и щелочной среде был проведен колебательный анализ и расчет термодинамических характеристик с использованием метода теории функционала плотности (UB3LYP) и базисного набора 6-311G** в программе ORCA 4.1. При кислотном ги-

дрозиде продукты реакции были рассчитаны с протонированными третичными азотами. Так как ранее нами был определен титриметрическими методами фактор эквивалентности, равный 0,5, для молекулы VMA-10-21 был произведен расчет Энергий Гиббса одновременно двух протонированных атомов азота молекулы VMA-10-21 во всех возможных комбинациях. При щелочном гидролизе продукты реакции были представлены в виде солей карбоновых кислот –COONa. Энергию Гиббса реакций гидролиза (ΔG_r) рассчитывали по разнице сумм энергий Гиббса продуктов реакции ($\Delta G_{\text{прод}}$) и исходных веществ ($\Delta G_{\text{исх}}$) в соответствии с законом Гесса: $\Delta G_r = \sum \Delta G_{\text{прод}} - \sum \Delta G_{\text{исх}}$

Также были определены термодинамические характеристики воды, ионов OH⁻ и анализируемой субстанции VMA-10-21 без протонирования. Расчет проводился при температуре 310K.

Для изучения влияния действия процесса окисления на стабильность субстанции точную навеску (около 50 мг) помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 45 мл спирта этилового 95%, помещали на ультразвуковую ванну на 15 минут до полного растворения субстанции. После чего добавляли 5 мл 3% раствора пероксида водорода. Полученный раствор кипятили в колбе с обратным холодильником на термостатируемой водяной бане (температура 80°C) в течение 45 минут. По окончании времени, раствор охлаждали и проводили анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химическая стабильность фармацевтических молекул вызывает серьезную обеспокоенность, поскольку она влияет на безопасность и эффективность лекарственного препарата. Руководства FDA и ICH устанавливают требование к данным тестам для определения влияния различных факторов внешней среды на качество фармацевтической субстанции с течением времени. Знание стабильности молекулы помогает в выборе правильного состава и упаковки, а также в обеспечении надлежащих условий хранения и срока годности, что важно для нормативной документации. Искусственная деградация включает в себя деструкцию ЛВ и их полупродуктов в более жестких условиях, чем ускоренные испытания, что позволяет подробно изучить стабильность молекулы и определить наиболее вероятные пути разложения [11].

Информация о стабильности молекул помогают при изготовлении лекарственных форм и определе-

нии условий хранения, поэтому рационально начинать исследования деградации на раннем этапе разработки ЛС [12].

Вопрос о том, насколько степень деградации вещества является достаточной, был темой многих дискуссий среди ученых-фармацевтов. Разложение ЛВ между 5% и 20% было признано обоснованным для хроматографических анализов [13, 14]. Некоторые ученые-фармацевты считают, что 10%-ное разложение является оптимальным для веществ с небольшой молекулярной массой [15]. Нет необходимости, чтобы принудительное разложение приводило к полному разложению вещества. Исследование может быть прекращено, если после воздействия стрессовых условий на фармацевтическую субстанцию или лекарственную форму не наблюдается разложения [16]. Это свидетельствует о стабильности тестируемой молекулы. Чрезмерное действие стресс-тестов на образец может привести к образованию вторичных продуктов разложения, который не будут идентифицированы в исследованиях стабильности при хранении, а недостаточное действие может не дать продуктов разложения [17].

Изучение стабильности VMA-10-21 при воздействии высоких температур (термолиз)

При моделировании молекулярной динамики с целью поиска структуры твердого состояния исследуемого вещества, молекулы субстанции VMA-10-21 располагались упорядоченно, формируя элементы кристаллической решетки (таблица 1).

Эти данные были использованы в качестве начального расположения молекул для дальнейших расчетов методом молекулярной динамики для системы из 4 молекул исследуемого вещества.

В таблице 2 приведено состояние системы в процессе моделирования молекулярной динамики методом Хартри-Фока с базисным набором 3-21G**.

Как видно из таблицы 2, по результатам компьютерного моделирования химическая структура молекулы VMA-10-21 не изменялась, что позволяет предполагать устойчивость молекулы при воздействии повышенной температуры.

Термическое воздействие ICH рекомендует проводить при температурах 60–80°C, т.е. при более высоких температурах, чем при ускоренных испытаниях [18]. Нами была выбрана максимально рекомендуемая температура.

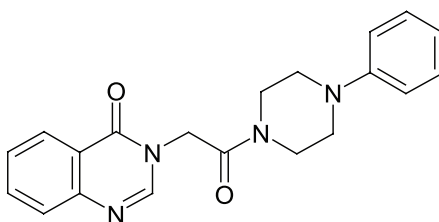


Рисунок 1 – Структурная формула субстанции VMA-10-21

Таблица 1 – Состояние системы в процессе моделирования молекулярной динамики 10 молекул методом молекулярной механики

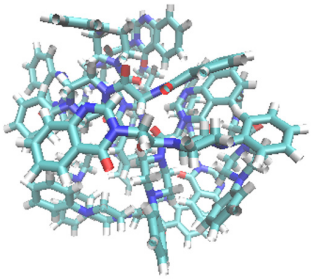
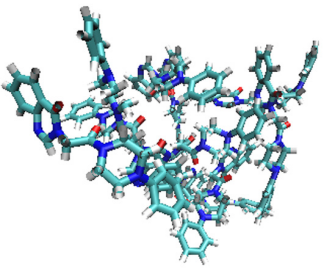
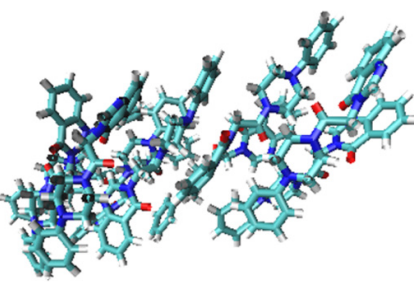
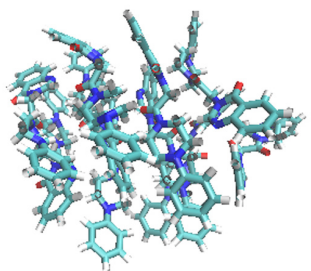
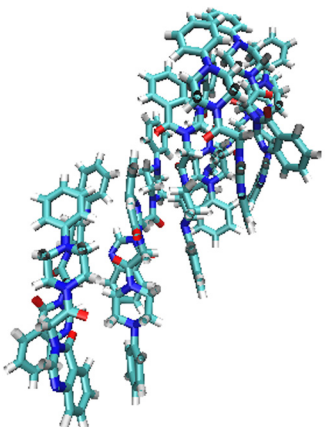
Время, нс	Изображение системы
0	
50	
100	
150	
200	

Таблица 2 – Состояние системы в процессе моделирования молекулярной динамики 0-5000 фс

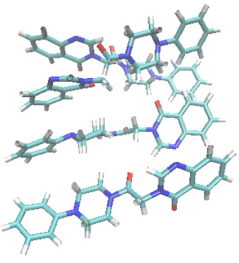
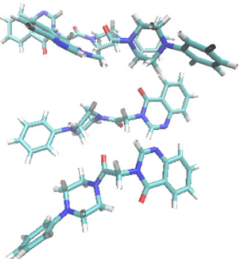
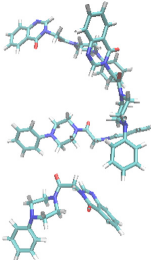
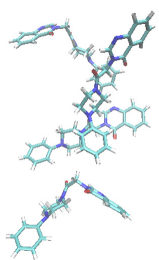
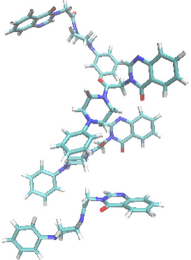
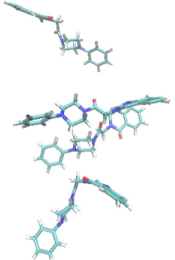
Время, фс	Изображение системы
0	
1000	
2000	
3000	
4000	
5000	

Таблица 3 – Результаты влияния стресс-теста (повышенная температура) на стабильность VMA-10-21

Стресс-тест (нагревание при 80°C)	Содержание VMA-10-21	Процент деградации
VMA-10-21 без нагревания	99,68%	–
VMA-10-21 через 45 минут	99,60%	0,08%
VMA-10-21 через 90 минут	99,58%	0,1%
VMA-10-21 через 135 минут	99,54%	0,14%
VMA-10-21 через 180 минут	99,50%	0,18%

Таблица 4 – Результаты влияния стресс-теста (УФ-свет) на стабильность VMA-10-21

Стресс-тест (УФ-свет 365 нм)	Содержание VMA-10-21	Процент деградации
VMA-10-21 без УФ облучения	99,68%	–
VMA-10-21 через 3 часа	99,66%	–
VMA-10-21 через 6 часов	99,65%	–
VMA-10-21 через 9 часов	99,61%	–
VMA-10-21 через 12 часов	99,60%	–
VMA-10-21 через 15 часов	99,60%	–
VMA-10-21 через 18 часов	99,59%	–
VMA-10-21 через 21 час	99,58%	–
VMA-10-21 через 24 часа	99,56%	–

Таблица 5 – Результаты колебательного анализа всех возможных комбинаций дважды протонированной молекулы VMA-10-21

Молекула	Энтальпия, а.е.	Энтропия, кал/моль*К	Энтальпия, кДж/моль	Энтропия, кДж/моль*К	Энергия Гиббса, кДж/моль
VMA-10-21	-1143,540907	35,914	-3002366,237	0,150364735	-3002366,237
I + III	-1144,153274	35,731	-3003974,007	0,149598551	-3003974,007
I + IV	-1144,189237	35,721	-3004068,428	0,149556683	-3004068,428
II + III	-1144,061293	35,952	-3003300,432	0,150272626	-3003300,432
II + IV	-1144,12641	35,742	-3003732,511	0,150523834	-3003732,511
III + IV	-1144,119529	35,663	-3003903,475	0,149644606	-3003903,475

Таблица 6 – Результаты проведенного колебательного анализа и рассчитанные термодинамические характеристики продуктов гидролиза

Молекула	Энтальпия, а.е.	Энтропия, кал/моль*К	Энтальпия, кДж/моль	Энтропия, кДж/моль*К	Энергия Гиббса, кДж/моль
Продукт №1	-687,469271	106,648	-1805019,32	0,44651	-1805157,74
Продукт №1 (-COONa)	-686,943269	114,886	-1803638,25	0,48100	-1803787,36
Продукт №2	-532,492603	93,828	-1398112,58	0,39284	-1398234,36
Продукт №3	-498,863275	92,872	-1309815,41	0,38884	-1309935,95
Продукт №4	-721,096936	99,055	-1893312,12	0,41472	-1893440,68
Продукт №4 (-COONa)	-720,566026	96,379	-1891918,16	0,40352	-1892043,25
ОН ⁻	-75,751778	41,417	-198893,87	0,1734	-198947,62
вода	-76,422293	46,469	-200654,37	0,19456	-200714,68

На рисунке 2 показана хроматограмма спиртового раствора VMA-10-21 перед проведением стресс-тестирования.

На рисунке 3 показана хроматограмма спиртового раствора VMA-10-21 после проведения стресс-тестирования.

Данные по стабильности VMA-10-21 в течение времени 0–180 минут представлены в таблице 3.

Как следует из представленных данных, субстанция VMA-10-21 практически полностью устойчива к воздействию повышенной температуры. Результаты компьютерного моделирования совпали с практическими данными.

Изучение стабильности VMA-10-21 при воздействии УФ-света (фотолиз)

Считается, что фотолитическую деградацию вызывают длины волн в диапазоне 300–800 нм [19]. Исследования фотостабильности являются важным аспектом в исследованиях ЛВ на стабильность, т.к. фотолиз может вызывать фотоокисление по свободно-радикальному механизму, поэтому нами была выбрана наиболее «жесткий» УФ при длине волны 365 нм. На рисунке 4 представлена полученная хроматограмма через 24 часа УФ-воздействия.

Данные по стабильности VMA-10-21 в условиях УФ-воздействия в течение 0–24 часов представлены в таблице 4.

Как следует из представленных данных, субстанция VMA-10-21 устойчива к воздействию УФ-света, что соответствует результатам моделирования.

Изучение стабильности VMA-10-21 под воздействием кислот и оснований (гидролиз)

Гидролиз является одной из наиболее распространенных химических реакций разложения в широком диапазоне pH. Подразумевается, что повышенная влажность, как один из параметров содержания воды в окружающем воздухе, является потенциальной угрозой к осуществлению реакций гидролитического расщепления. При исследовании реакций гидролиза в качестве стресс фактора для первичной деструкции ЛВ рассматривают влияние на нее кислотных и основных условий. Для осуществления кислотного гидролиза используют хлористоводородную либо серную кислоты с концентрациями 0,1–1М, а для щелочного гидролиза – натрия либо калия гидроксиды с концентрациями 0,1–1М [17, 20]. В нашем исследовании мы выбрали кислоту хлористоводородную и натрия гидроксид в максимально допустимых концентрациях 1М.

Для исследуемой субстанции VMA-10-21, теоретически, возможны несколько путей гидролиза, представленные на рисунке 5.

При первом пути гидролиза образуются 2-(4-оксохиназолин-3-ил)уксусная кислота (продукт №1) и

1-фенилпиперазин (продукт №2), а при втором пути 3-метилхиназолин-4-он (продукт №3) и 4-фенилпиперазин-1-карбоновая кислота (продукт №4).

Результаты колебательного анализа по поиску наиболее возможных третичных атомов азота, участвующих в протонировании, представлены в таблице 5.

Протонированный атом азота в положении 1 хиназолинового ядра обозначался I, в 3 положении хиназолинового ядра – II, 1-пиперазино – III, 4-фенил – IV. Как видно из результатов таблицы 5, протонирование атомов азота в молекуле VMA-10-21 наиболее вероятно в положении I и IV. Эта энергия Гиббса и была использована нами при колебательном анализе для VMA-10-21 в реакциях кислотного гидролиза.

В таблице 6 представлены полученные данные колебательного анализа для продуктов гидролиза.

Рассчитанные энергии Гиббса реакций представлены в таблице 7.

Как видно из полученных результатов, гидролиз в щелочной среде для первого пути гидролиза наиболее вероятен, т.к. для этой реакции меньше значение энергии Гиббса. Также видно, что в кислой среде, ввиду большей энергии Гиббса протонированной молекулы I + II, энергия Гиббса гидролиза в кислой реакции увеличилась, поэтому, мы предполагаем, что гидролиз в кислой среде будет протекать менее выражено.

Хроматограмма, полученная в результате взаимодействия раствора VMA-10-21 с кислотой хлористоводородной, представлена на рисунке 6.

Данные по стабильности VMA-10-21 под влиянием кислот представлены в таблице 3.

Как следует из представленных данных, под действием 1М раствора кислоты хлористоводородной происходит частичное разложение молекулы VMA-10-21.

Полученные данные представлены на рисунке 7.

Данные по стабильности VMA-10-21 представлены в таблице 9.

Как следует из представленных данных, под действием 1М раствора натрия гидроксида происходит разложение молекулы VMA-10-21 с процентом деградации 92,61%.

Под действием раствора щелочи происходит разложение молекулы VMA-10-21 с образованием двух превалирующих продуктов с временами удерживания 2,12 мин (около 18%) и 2,98 (около 67%). С помощью ВЭЖХ – МС были установлены структурные фрагменты, образующиеся в результате гидролиза продуктов. На рисунке 8 и 9 представлены полученные масс-спектры.

Пик, со временем удерживания 2,12 мин. соответствует молекулярный ион с молярной массой 162 г/моль, а пик со временем удерживания 2,98 мин. соответствует молекулярный ион с массой 186,9 г/моль. Рассчитанные в результате вычислительного эксперимента наиболее вероятные пути гидролиза подтвердили данные масс-детектора.

Таблица 7 – Рассчитанные энергии Гиббса реакций гидролиза

Путь реакции	Продукт гидролиза	Рассчитанные энергии Гиббса реакции, кДж/моль
Первый	№1 + №2 (кислая среда)	1391,01
	№1 + №2 (щелочная среда)	-707,86
Второй	№3 + №4 (кислая среда)	1406,48
	№3 + №4 (щелочная среда)	-665,343

Таблица 8 – Результаты влияния стресс-теста (гидролиз, кислотный) на стабильность VMA-10-21

Стресс-тест (1М кислота хлористоводородная)	Содержание VMA-10-21	Процент деградации
VMA-10-21 без гидролиза	99,68%	–
VMA-10-21 через 45 минут	98,14%	1,54

Таблица 9 – Результаты влияния стресс-теста (гидролиз, щелочной) на стабильность VMA-10-21

Стресс-тест (1М натрия гидроксид)	Содержание VMA-10-21	Процент деградации
VMA-10-21 без гидролиза	99,68%	–
VMA-10-21 через 45 минут	7,07%	92,61%

Таблица 10 – Результаты влияния стресс-теста (окисление) на стабильность VMA-10-21

Стресс-тест (3% раствор пероксида водорода)	Содержание VMA-10-21	Процент деградации
VMA-10-21 без добавления пероксида водорода	99,68%	–
VMA-10-21 через 45 минут	98,56%	1,12%

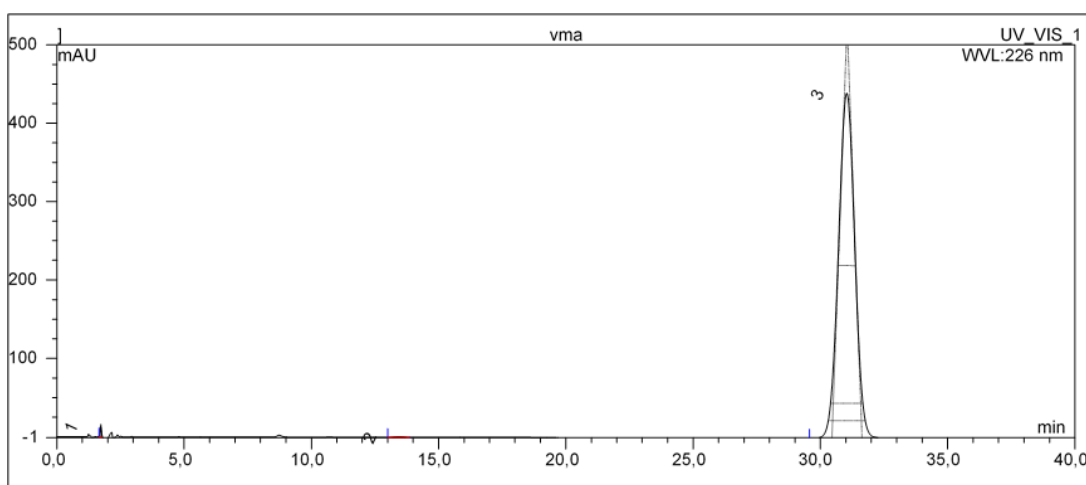


Рисунок 2 – Хроматограмма спиртового раствора VMA-10-21 до начала стресс-тестов

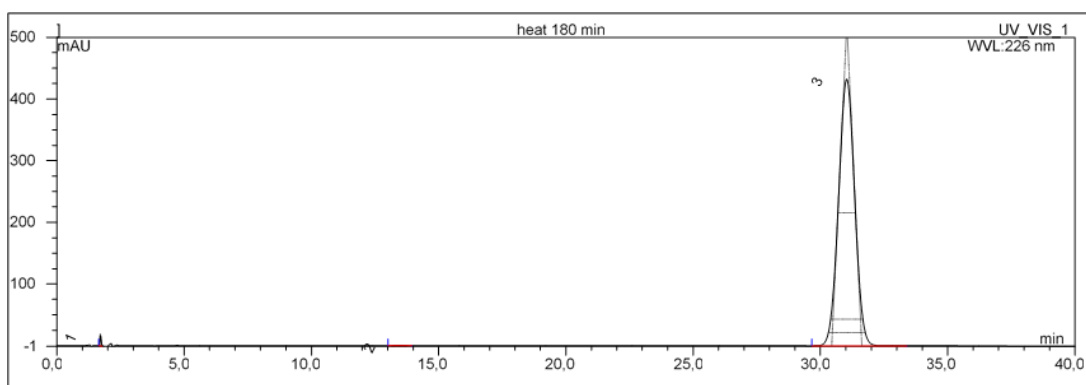


Рисунок 3 – Хроматограмма спиртового раствора VMA-10-21 после нагревания при 80°C 180 минут

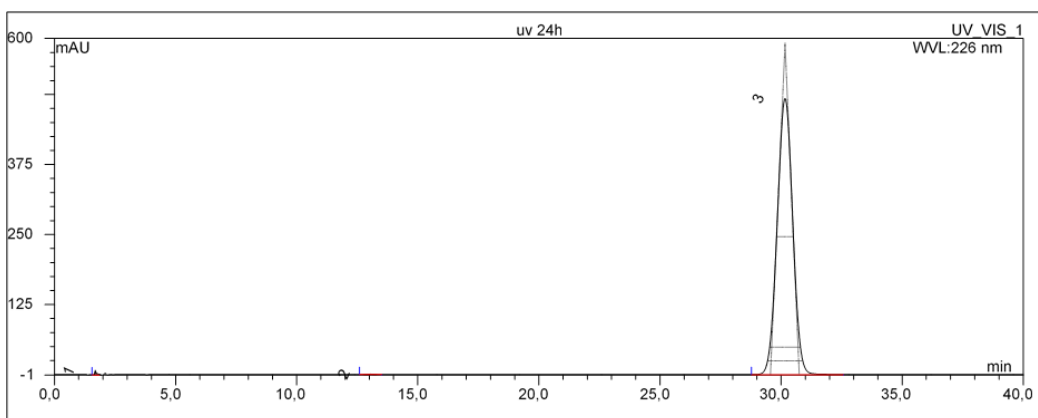


Рисунок 4 – Спиртовой раствор VMA-10-21 под воздействием УФ-света через 24 часа

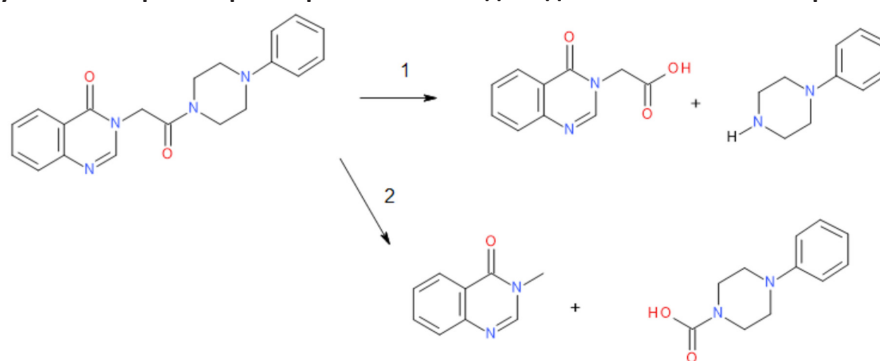


Рисунок 5 – Предполагаемые пути гидролиза субстанции VMA-10-21

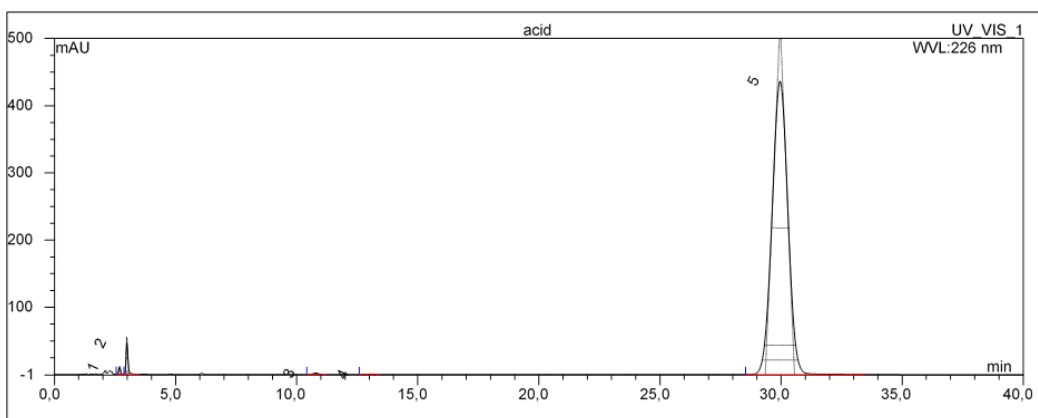


Рисунок 6 – Хроматограмма спиртового раствора VMA-10-21 при гидролизе 1M раствором кислотой хлористоводородной через 45 минут

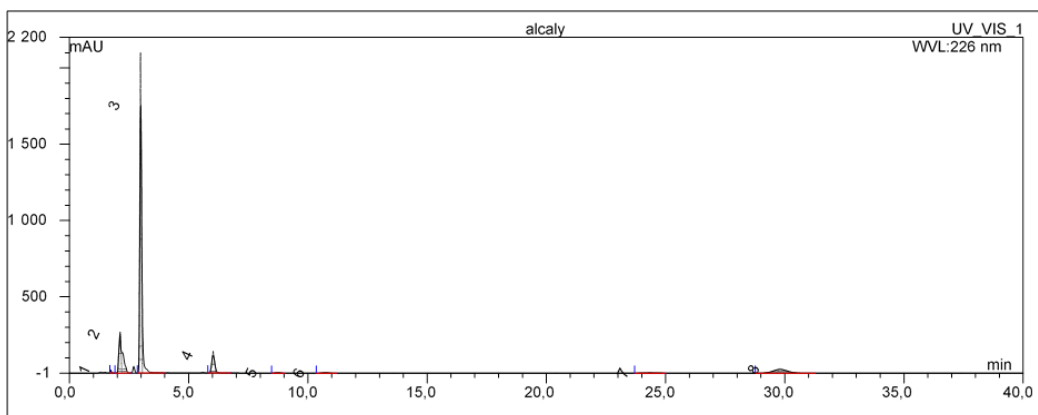


Рисунок 7 – Спиртовой раствор VMA-10-21 при гидролизе 1M раствором натрия гидроксида через 45 минут

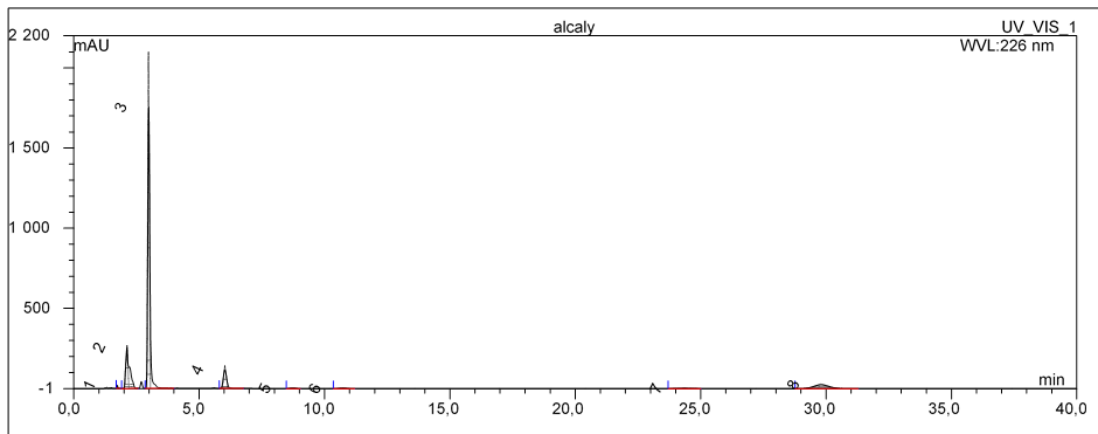


Рисунок 8 – Масс-спектр структурного фрагмента с молекулярной массой 162 г/моль

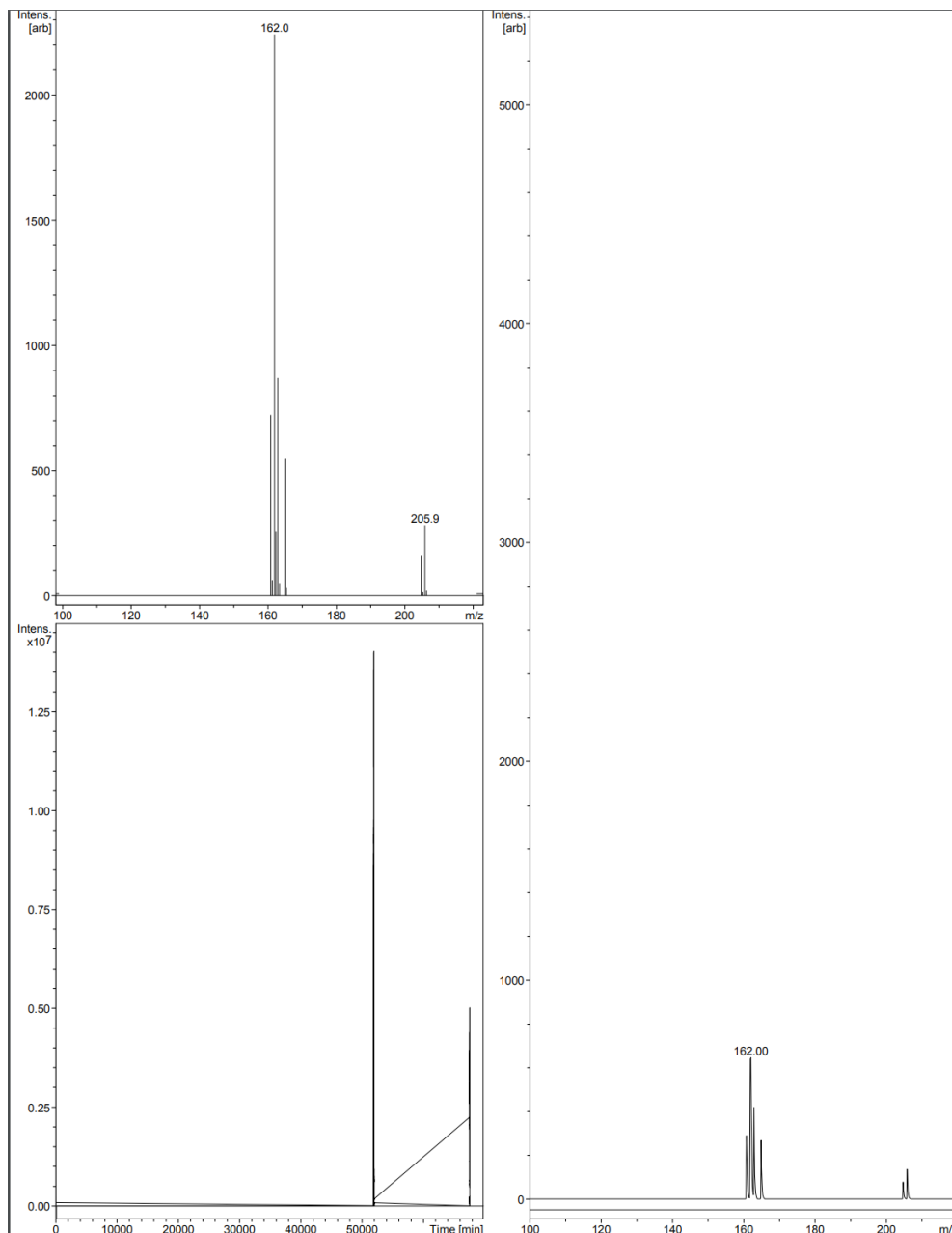


Рисунок 9 – Масс-спектр структурного фрагмента с молекулярной массой 186,9 г/моль

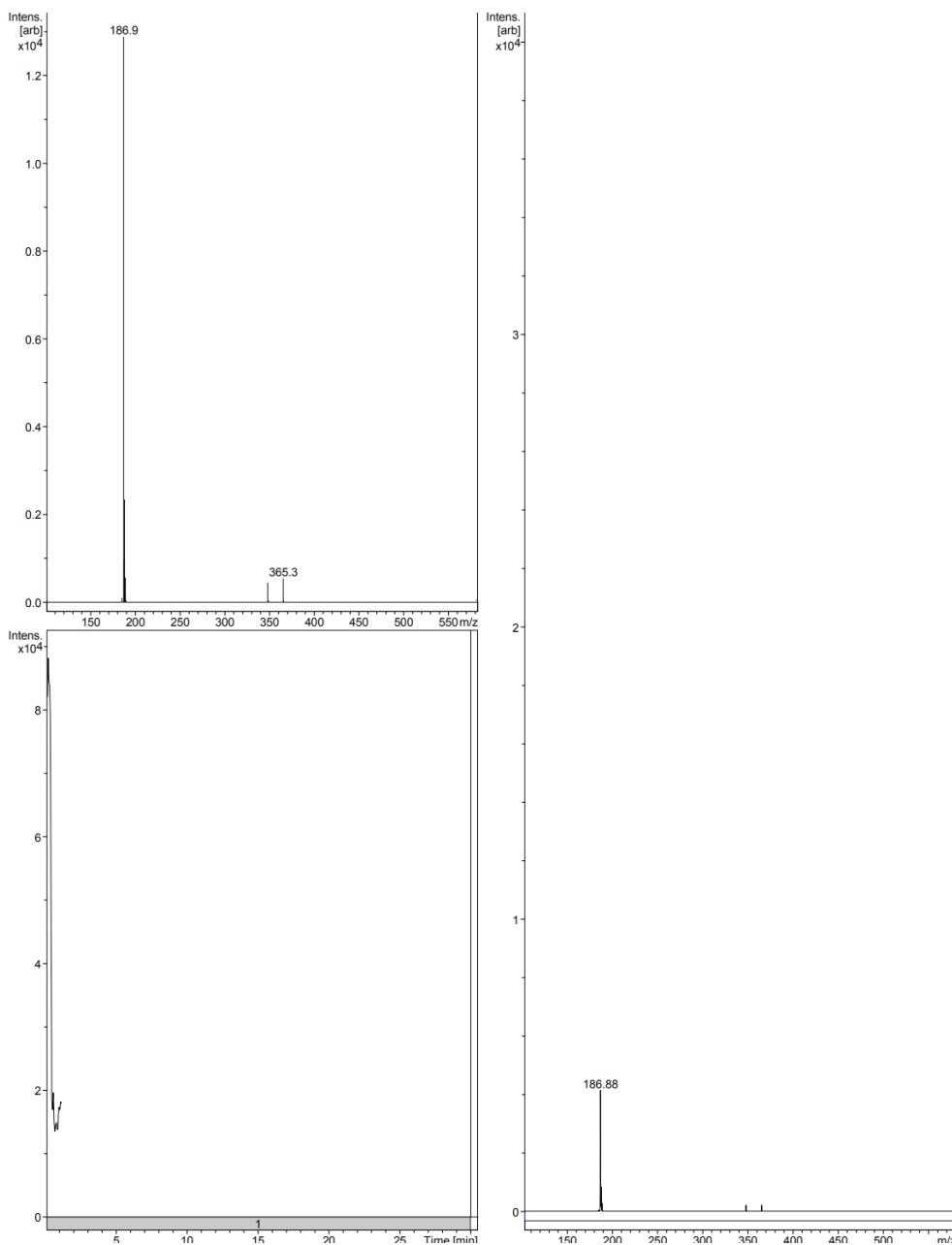


Рисунок 10 – Раствор водорода пероксида 3% без VMA-10-21

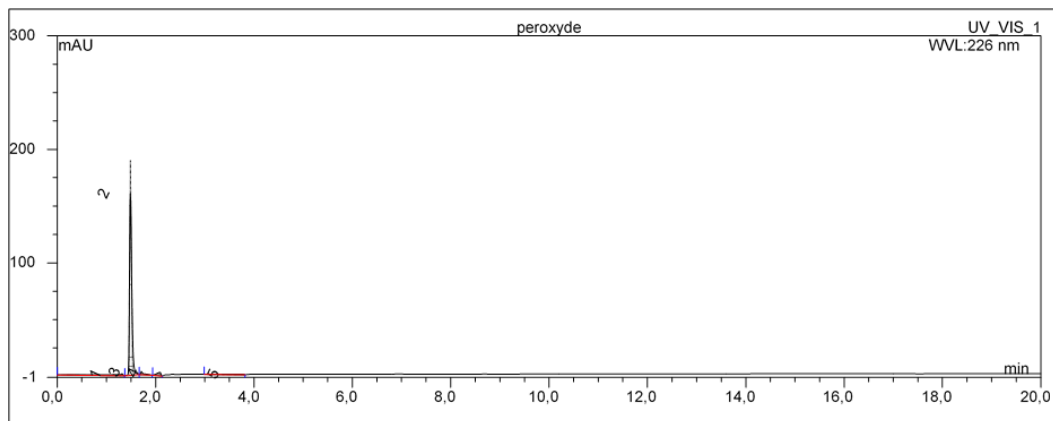


Рисунок 11 – Спиртовой раствор VMA-10-21 с добавлением раствора водорода пероксида 3% через 45 минут

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что разложение молекулы VMA-10-21 происходит по амидной группе (путь 1 на рисунке 5) с образованием двух основных продуктов деструкции, которые разделяются между собой в выбранных хроматографических условиях.

Гидролиз молекулы VMA-10-21 в присутствии 1М раствора кислоты хлористоводородной происходит со значительно меньшим распадом молекулы. Очевидно, это связано со стабилизацией молекулы VMA-10-21 в кислой среде за счет образования солей с кислотой хлористоводородной. Основным продуктом распада в кислой среде является молекулярный ион с массой 186,9 г/моль, который также совпадает по времени удерживания (2,98 мин.)

Изучение стабильности VMA-10-21 под воздействием окислителей.

Для принудительного окисления ЛВ широко используется водорода пероксид, ионы металлов, кислород, инициаторы радикальных реакций (азосоединения, N-нитрозоанилиды, триазены, дибензилы и др). Установлено, что воздействие растворов 0,1–3% водорода пероксида при pH=7 и температуре 20°C в течение семи дней может потенциально привести к появлению соответствующих продуктов деградации [21]. В нашем исследовании применялся максимально допустимый раствор водорода пероксида 3%, но с более коротким временным промежутком.

Сперва был проанализирован раствор водорода пероксида 3% без добавления анализируемой субстанции. Полученная хроматограмма представлена на рисунке 10.

Данные по стабильности VMA-10-21 к воздействию окислителей представлены в таблице 10.

Как следует из представленных данных, под действием раствора водорода пероксида 3% происходит частичное разложение молекулы VMA-10-21, с процентом деградации 1,12%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных стресс-тестов изучена стабильность новой фармацевтической субстанции VMA-10-21. В результате эксперимента установлено, что вещество стабильно при действии высоких температур и УФ-облучения. При проведении гидролиза исследуемая субстанция гидролизуется в щелочной среде по амидной группе с образованием 2 основных продуктов, структурные фрагменты которых установлены с помощью масс-детектора, в кислой среде разложение продукта значительно снижается, что, скорее всего, связано с увеличением стабильности молекулы за счет образования солей с кислотой хлористоводородной и протонированием двух третичных атомов азота. При действии на вещество окислителей (раствор пероксида водорода 3%) происходит незначительная деструкция молекулы (около 1%), что показывает относительную устойчивость молекулы под действием окислителей. Также, представленные компьютерные расчеты позволили предсказать стабильность и наиболее вероятные пути гидролиза исследуемой субстанции, которые соответствуют практическим результатам. Данные результаты будут учитываться в дальнейшем при разработке нормативной документации на субстанцию 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа не имела финансирования от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Т.А. Гендугов – компьютерный анализ и обработка полученных результатов, проведение практической части работы; А.А. Глушко – компьютерный анализ и обработка полученных результатов; А.А. Озеров – концепция и стратегия исследования, синтез и очистка субстанции VMA-10-21, редактирование текста; Л.И. Щербаква – концепция и стратегия исследования, редактирование текста.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. XIV. Т. 1. – М., 2018. [Электронный ресурс]. <http://feml.scsml.rssi.ru/feml>
2. ICH guidelines, Q1A (R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products (Revision 2), International Conference on Harmonization; 2003. [Электронный ресурс]. – https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drug-substances-products-step-5_en.pdf
3. ICH Guidance, Q1C: Stability Testing for New Drug Dosage Forms, International Conference on Harmonization. 1996. [Электронный ресурс]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-c-stability-testing-requirements-new-dosage-forms-step-5_en.pdf
4. Existing Active Ingredients and Related Finished Products (CPMP/QWP/122/02 Rev. 1 corr), 2003. [Электронный ресурс]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003466.pdf
5. ICH Guidance, Q1B: Photostability Testing of New Drug Substances and Products, International Conference on Harmonization, 1998. [Электронный ресурс] https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-b-photostability-testing-new-active-substances-medicinal-products-step-5_en.pdf

6. FDA Guidance for Industry, INDs for Phase II and III Studies – Chemistry, Manufacturing and Controls Information, Food and Drug Administration, 2003. [Электронный ресурс]. – <https://www.fda.gov/media/70822/download>
7. Klauda, J.B., Venable, R.M., Freites, J.A., O'Connor, J.W., Tobias, D.J., Mondragon-Ramirez, C., Vorobyov, I., MacKerell, Jr., A.D., Pastor R.W. Update of the CHARMM All-Atom Additive Force Field for Lipids: Validation on Six Lipid Types // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2010. – V. 114, No 23. – P. 7830–7843. DOI: 10.1021/jp101759q
8. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers // *SoftwareX*. – 2015. – V. 1–2. – P. 19–25. DOI: 10.1016/j.softx.2015.06.001.
9. Zoete V., Cuendet M. A., Grosdidier A., Michielin O. SwissParam: a Fast Force Field Generation Tool For Small Organic Molecules // *Journal of Computational Chemistry*. – 2011. – V. 32, No 11. – P. 2359–2368. DOI: 10.1002/jcc.21816.
10. Braga C., Travis K. P. A configurational temperature Nosé–Hoover thermostat // *The Journal of Chemical Physics*. – 2005. – V. 123, No 11. – P.123. DOI: 10.1063/1.2013227.
11. Neese F. Software update: The ORCA program system, version 4.0 // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. – 2017. – Vol. 8, No 1. – P. e1327. DOI: 10.1002/wcms.1327.
12. Bäcktorp C., Örnskov E., Ottosson J., Evertsson E., Remmelgas J., Broo A. Experimental and Quantum Chemical Evaluations of Pyridine Oxidation Under Drug Development Stress Test Conditions // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2015. – V. 104 (12). – P. 4355–4364. DOI: 10.1002/jps.24685
13. Szepesi G., Gazdag M., Mihályfi K. Selection of high-performance liquid chromatographic methods in pharmaceutical analysis // *Journal of Chromatography A*. – 1991. – V. 464. – P. 265–278. DOI:10.1016/S0021-9673(00)94245-6
14. Gazdag M., Szepesi G., Szelezcki E. Selection of high-performance liquid chromatographic methods in pharmaceutical analysis // *Journal of Chromatography A*. – 1988. – V. 454. – P. 83–94. DOI:10.1016/S0021-9673(00)88604-5
15. Carr G.P., Wahlich J.C. A practical approach to method validation in pharmaceutical analysis // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 1990. – V. 8 (8–12). – P. 613–618. DOI:10.1016/0731-7085(90)80090-c
16. Jenke D.R. Chromatographic method validation: a review of common practices and procedures // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. – 1996. – V. 19 (5). – P. 719–736. DOI: 10.1080/10826079608005533
17. Iram F., Iram H., Iqbal A., Husain A. Forced Degradation Studies // *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*. – 2016. – V. 3, No 6. – P. 73. DOI: 10.15406/japlr.2016.03.00073
18. Blessy M., Patel R.D., Prajapati P.N., Agrawal Y.K. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs – A review // *Journal of Pharmaceutical Analysis*. – 2014. – V. 4, No 3. – P. 159–165. DOI: 10.1016/j.jpha.2013.09.003
19. Alsante K.M., Ando A., Brown R., et al. The role of degradant profiling in active pharmaceutical ingredients and drug products // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2007. – V. 59, No 1. – P. 29–37. DOI: 10.1016/j.addr.2006.10.006
20. Piechocki J.T., Thoma K. *Pharmaceutical Photostability and Stabilization Technology*, Informa Healthcare. – CRC Press, publ. 2019. – 445p.

АВТОРЫ

Гендугов Тембот Алимович – аспирант кафедры неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. ORCID: 0000-0002-7447-8328. E-mail: timbirlei2008@rambler.ru

Глушко Александр Алексеевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. ORCID: 0000-0002-1715-0350. E-mail: alexander.glushko@lcmmp.ru

Озеров Александр Александрович – профессор, доктор химических наук, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета Минздрава России. ORCID: 0000-0002-4721-0959. E-mail: prof_ozarov@yahoo.com

Щербаква Лариса Ивановна – доцент, кандидат фармацевтических наук, зав. кафедрой неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. ORCID: 0000-0002-7806-2805. E-mail: shcherbakovali@mail.ru

УДК 615.25



ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГРУППОВОЙ ГОРМОН-РЕГУЛИРУЮЩЕЙ СИНХРОНИЗАЦИИ ОВУЛЯЦИИ У САМОК МЫШЕЙ

В.М. Покровский¹, Е.А. Патраханов¹, П.Р. Лебедев¹, А.В. Белашова¹, А.Ю. Карагодина¹,
А.А. Шабалин², А.В. Нестеров¹, В.А. Марковская¹, М.В. Покровский¹

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»
305041, Россия, г. Курск, ул. К. Маркса, 3

E-mail: vmpokrovsky@yandex.ru

Получено 09.09.2020

Рецензия (1) 16.09.2020

Рецензия (2) 30.10.2020

Принята к печати 11.11.2020

Цель. Оценить эффективность гормон-регулирующей синхронизации овуляции у самок мышей, для увеличения количества одновременно оплодотворенных особей и получения потомства в запланированные сроки.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 180 самках мышей трех линий – СВА/лас, С57BL/6, BALB/c (n=60), разделенные на три подгруппы: интактные (спаривание без подтверждения фазы эструса) (n=20), цитологическое исследование вагинального секрета перед спариванием с определением фазы эструса (n=20), гормон-регулирующей синхронизации эстрального цикла с введением прогестерона (4,5 мг/100 г) на 1-е и простагландина F2α (0,083 мг/100 г) на 7-е сутки однократно от начала эксперимента с последующим немедленным спариванием (n=20). Запланированной датой родов считались 22 сутки с момента спаривания. Индекс синхронизации овуляции (ИСО) оценивался на 14 сутки с момента спаривания.

Результаты. На 14-й день с начала эксперимента индекс синхронизации овуляции в интактных группах линий СВА/лас, С57BL/6, BALB/c составил 25%, 25%, 40% соответственно. Количество беременных особей на 14 сутки, допущенных к спариванию после установленного эструса методом цитологической оценки вагинального секрета согласно ИСО, составило 65%, 60%, 75% соответственно. В экспериментальных группах ИСО составил 80%, 75%, 100% соответственно. На 22 сутки количество родивших самок линий СВА/лас, С57BL/6, BALB/c в интактных группах составило 3, 1, 3 особи, в контрольных 10, 6, 9, а в экспериментальной группе 16, 15, 17 что достоверно выше чем в контрольных и интактных группах (p<0,05).

Заключение. Гормон-регулирующая синхронизация овуляции у самок мышей достоверно увеличивает количество разродившихся особей на 22 сутки относительно синхронизированных по эструсу животных на 53% и интакта на 85,5%. Выявлено, что дополнительным эффектом гормональной синхронизации овуляции является увеличение количества приплода в 2,2 раза в сравнении с контрольными группами и в 3,9 раз в сравнении с интактными группами. Данный способ планирования родов рождения потомства экспериментальных животных сокращает временные затраты проведения доклинических исследований лекарственных препаратов по следующим видам оценки токсических эффектов: репродуктивная токсичность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на фертильность. Кроме того, данный способ расширяет возможности экспериментального моделирования патологий беременности и плода с последующей оценкой их фармакологической коррекции.

Ключевые слова. эстральный цикл, эструс, прогестерон, вагинальная цитология, синхронизация овуляции, простагландин F2α

ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF HORMONE-REGULATING SYNCHRONIZATION OF OVULATION IN FEMALE MICE

V.M. Pokrovsky¹, E.A. Patrakhanov¹, P.R. Lebedev¹, A.V. Belashova¹, A.Yu. Karagodina¹,
A.A. Shabalin², A.V. Nesterov¹, V.A. Markovskaya¹, M.V. Pokrovsky¹

¹ Belgorod State National Research University
85, Pobeda St., Belgorod, Russia, 308015

² Kursk State Medical University,
3, K. Marx St., Kursk, Russia, 305041

E-mail: vmpokrovsky@yandex.ru

Received 09 September 2020 Review (1) 16 September 2020

Review (2) 30 October 2020

Accepted 11 November 2020

Для цитирования: В.М. Покровский, Е.А. Патраханов, П.Р. Лебедев, А.В. Белашова, А.Ю. Карагодина, А.А. Шабалин, А.В. Нестеров, В.А. Марковская, М.В. Покровский. Оценка эффективности групповой гормон-регулирующей синхронизации овуляции у самок мышей. *Фармация и фармакология*. 2020;8(4):255-262. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-255-262

© В.М. Покровский, Е.А. Патраханов, П.Р. Лебедев, А. В. Белашова, А.Ю. Карагодина, А.А. Шабалин, А.В. Нестеров, В.А. Марковская, М.В. Покровский, 2020

For citation: V.M. Pokrovsky, E.A. Patrakhanov, P.R. Lebedev, A.V. Belashova, A.Yu. Karagodina, A.A. Shabalin, A.V. Nesterov, V.A. Markovskaya, M.V. Pokrovsky. Estimation of the efficiency of hormone-regulating synchronization of ovulation in female mice. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(4):255-262. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-255-262

The aim of the work is to assess the efficiency of hormone-regulating synchronization of ovulation in female mice, to increase the number of simultaneously fertilized individuals and obtain their offspring in the planned time frame.

Materials and methods. The study was carried out on 180 female mice of three lines – CBA/lac, C57BL/6, BALB/c (n = 60), divided into three subgroups: intact (mating without confirmation of the estrous phase) (n = 20), cytological examination of vaginal secretions before mating with the determination of the estrous phase (n = 20), hormone-regulating synchronization of the estrous cycle with the introduction of progesterone (4.5 mg/100 g) on the 1st and prostaglandin F2 α (0.083 mg/100 g) on the 7th day, once from the beginning of the experiment followed by immediate mating (n = 20). The planned date of delivery was considered the 22nd day from the moment of mating. The ovulation synchronization index (OSI) was assessed on the 14th day after mating.

Results. On the 14th day from the beginning of the experiment, the ovulation synchronization index in the intact groups of the CBA/lac, C57BL/6, BALB/c lines, was 25%, 25%, 40%, respectively. On the 14th day, the number of pregnant individuals admitted to mating after the established estrus by the method of cytological assessment of vaginal secretions according to OSI, was 65%, 60%, 75%, respectively. In the experimental groups, OSI was 80%, 75%, 100%, respectively. On the 22nd day, the number of delivered females of CBA/lac, C57BL/6, BALB/c lines in the intact group, was 3, 1, 3 individuals; in the control group – 10, 6, 9, and in the experimental group – 16, 15, 17, which is significantly higher than in the control and intact groups (p<0.05).

Conclusion. Hormone-regulating synchronization of ovulation in female mice significantly increases the number of delivered individuals on the 22nd day, relative to those synchronized by estrus by 53%, and to intact groups by 85.5%. It has been revealed that an additional effect of hormonal synchronization of ovulation is an increase in the number of offspring by 120% in comparison with the control groups and by 390% in comparison with the intact groups. This method of timing planning of the offspring birth of the experimental animals reduces the time spent on preclinical studies of drugs for the following types of assessment of toxic effects: reproductive toxicity, embryotoxicity, teratogenicity, effects on fertility.

Keywords: estrous cycle, estrus, progesterone, vaginal cytology, ovulation synchronization, prostaglandin F2 α

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, увеличивается темп работы лабораторий, основным модельным организмом которых являются мыши различных линий. Большую популярность, данный вид приобрел сравнительно недавно, и в результате усилий многих ученых на протяжении последних десятилетий было создано и поддерживается большое количество инбредных линий мышей. Эти события повлияли на дальнейшие исследования тем самым внесли огромный вклад в современные представления об иммунологии, онкологии, эмбриологии и нейробиологии [1].

Для подготовки беременных самок мышей к эксперименту группой авторов первоначально был опробован метод вагинальной цитологии. Данная методика основана на идентификации фаз эстрального цикла, с последующей выборкой особей, находящихся в фазе эструса и последующей подсадкой их к самцам [2].

Определение эструса у группы особей имеет важное значение в вопросе выборки животных с целью их последующего спаривания и получения потомства в экспериментальных целях [3]. Однако это требует длительного скрининга всей популяции животных, наличие у экспериментатора особых умений и знаний, что предполагает собой допущение ошибки. Вагинальная цитология – это неинвазивный и недорогой способ определения фазы цикла, требующий определенных навыков интерпретации морфологической картины клеток вагинального секрета. Этот метод утомителен и отнимает достаточное количество времени [4].

Групповая гормон-регулирующая синхронизация овуляции является очень популярной в скотоводстве. Основой данного метода является фармакологиче-

ская коррекция гормонального цикла с целью индукции овуляции в нужные сроки.

Используемый в предложенной схеме прогестерон обладает сильным антигонадотропным действием. Повышенный уровень прогестерона изменяет характеристику двух наружных слоев эндометрия. Происходит утолщение цервикальной слизи, что ведет к десинхронизации изменений эндометрия, необходимых для имплантации яйцеклетки и существенно подавляет проникновение сперматозоидов [5]. Уровень прогестерона достигает пика в середине секреторной фазы, снижая уровень ЛГ и ФСГ, вследствие чего вторичный ооцит не покидает доминирующий фолликул и не проходит в просвет фаллопиевой трубы. Указанные изменения делают невозможным оплодотворение яйцеклетки сперматозоидом.

Простагландин F2 α (PGF) является биологически сильнодействующим веществом, применение которого имеет важную роль в контроле репродукции. Применение препарата у крупного рогатого скота основано на его лютеолитических свойствах [6].

Кроме того, экспериментальные данные по крупному рогатому скоту указывают на то, что в периовуляторный период внутрифолликулярный простагландин необходим для процесса овуляции [7].

ЦЕЛЬ исследования – оценить количество случаев беременности у самок мышей подвергнутых гормон-регулирующей синхронизации овуляции, по сравнению с планированием сроков беременности и даты родов у животных с использованием определенной фазы эструса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Протокол исследования был рассмотрен и одо-

брен на заседании комиссии по работе с лабораторными животными НИИ Фармакологии живых систем НИУ «БелГУ». При работе соблюдались требования Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 24.06.1998 года, правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и ГОСТ Р 53434-2009), директивы Европейского сообщества (86/609 ЕС) и Правил лабораторной практики, принятых в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 708 от 29.08.2010 г.).

Животные

Самки, вне зависимости от группы, рассаживались к самцам 2:1 соответственно. Запланированной датой родов считались 22 сутки с начала спаривания. Исключая племенную выборку для эксперимента, были отобраны самки мышей одинакового возраста и веса линий CBA/lac, C57BL/6, BALB/ в каждой по 60 особей, и самцы соответствующих линий в количестве 30 особей, полученные из питомника лабораторных животных «Столбовая» (Московская область, п. Столбовая).

Выбор особей данных линий обоснован наиболее частым их использованием в биомедицинских исследованиях [8].

Животные содержались в индивидуальных вентилируемых клетках. Подстилочным материалом служили нехвойные древесные опилки. В качестве корма – стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ЛБК-120 ГОСТ Р 50208-92. (ЗАО «Тосненский комбикормовый завод»). Кормление животных осуществлялось по нормативам в соответствии с видом животных. Водопроводная очищенная вода давалась *adlibitum* в стандартных поилках.

Дизайн исследования

Животные трех линий были разделены на три группы: интактные (естественное спаривание) (n=20), эстральная синхронизация (цитологическое исследование вагинального секрета перед спариванием с определением фазы эструса) (n=20), гормональная синхронизация эстрального цикла (n=20). Особи, относящиеся к контрольной группе, были отобраны в случае установления у них эструса. У самок интактной и экспериментальной группы предварительной выборки не проводилось. Самки, вне зависимости от группы, рассаживались к самцам 2:1 соответственно. Запланированной датой родов считались 22 сутки с начала спаривания.

В контрольных группах животные были допущены к спариванию после подтверждения у них фазы эструса путем оценки влагалищного секрета.

Для осуществления первого этапа гормональной синхронизации овуляции у мышей внутримышечно вводился прогестерон (суспензия для инъекций, ЗАО «Мосагроген», РФ) в дозе 4,5 мг/100 г вне зависимости от фазы эстрального цикла самок. Через 7 суток

после введения прогестерона, осуществлялось внутримышечное введение простагландина F2α (ЗАО «Мосагроген», РФ) в дозе 0,083 мг / 100 г. Предполагаемое время наступления овуляции – 34–72 часа после введения второго препарата.

Оценка фармакологической коррекции эстрального цикла самок мышей проводилась путем исследования цитологической картины влагалищного секрета.

Индекс синхронизации овуляции рассчитывался по факту беременности на 14 сутки после начала спаривания. Индекс рождаемости анализировался по факту рождения.

$$ИСО = \frac{\text{Число оплодотворенных самок}}{\text{Число самок, подсаженных к самцам}} \times 100\%;$$

$$ИР = \frac{\text{Число потомства}}{\text{Число оплодотворенных самок}} \times 100\%$$

Вагинальный мазок/цитология

Манипуляция проводилась на следующий день после инъекции прогестерона, через 3 дня и непосредственно перед введением простагландина F2α и на следующий день после.

У фиксированной самки производится забор влагалищного секрета с целью цитологической оценки фазы эстрального цикла. Осторожно вводили во влагалище небольшое количество (20 мкл) дистиллированной воды с использованием пипетки с последующим втягиванием в пипетку ранее введенной жидкости. Данную процедуру повторяют 4–5 раз. Важно убедиться, что пипетка помещена на входе влагалищного канала и не проникает во влагалищное отверстие. Жидкость, содержащую несколько капель клеточной суспензии, после этого помещают на предметное стекло, высушивают на воздухе и окрашивают по методу Романовского-Гимзе [9, 10]. Затем предметное стекло накрывали покровным стеклом и немедленно исследовали количественно и качественный состав клеток секрета под световым микроскопом (Биомед 5) при увеличении 40х.

Влагалищный секрет состоит из трех типов клеток. Они включают лейкоциты, ороговевшие эпителиальные клетки и ядродержащие эпителиальные клетки. Оценка фазы эстрального цикла основана на доле этих клеток в вагинальном секрете [11].

Многочисленные округлые ядродержащие клетки, являющиеся однородными по размеру и внешнему виду, отличительный признак фазы проэструса (А). Фаза эструса демонстрирует обильные неядерные ороговевшие эпителиальные клетки (В). Ядродержащие эпителиальные клетки присутствуют в позднем метэструсе (С). Диэструс характеризуется наличием в поле зрения полиморфноядерных лейкоцитов и нескольких эпителиальных и ороговевших клеток [12].

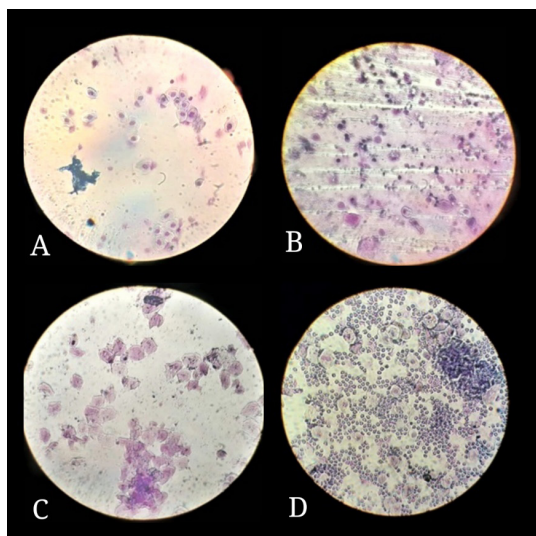


Рисунок 1 – Микроскопическая оценка капель клеточной суспензии влагалищного секрета у животных без проведения гормон-регулирующей синхронизации овуляции

Примечание: А – проэструс, В – эструс, С – метэструс, D – диэструс

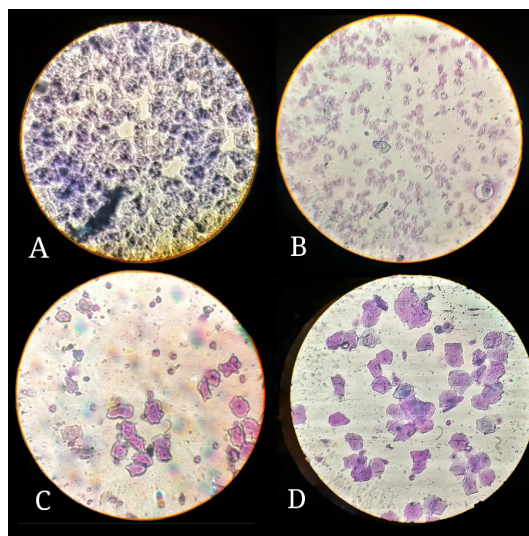


Рисунок 2 – Микроскопическая оценка капель клеточной суспензии влагалищного секрета у самок после проведения гормон-регулирующей синхронизации овуляции

Примечание: А – цитологическая картина содержимого влагалищного секрета на следующие сутки после введения прогестерона; В – на 3 сутки; С – на 7 сутки до введения простагландина F2α; D – на следующие сутки после введения простагландина F2α

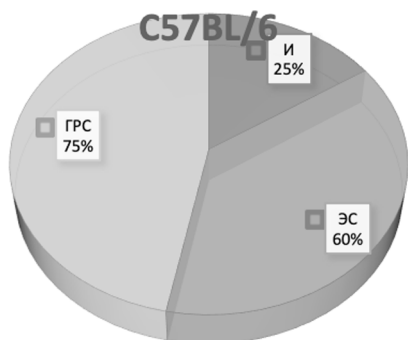


Рисунок 3 – Соотношение индекса синхронизации овуляции особей экспериментальных групп линии C57BL/6

Примечание: И – интактная группа; ЭС – эстральная синхронизация; ГРС – гормон-регулирующая синхронизация

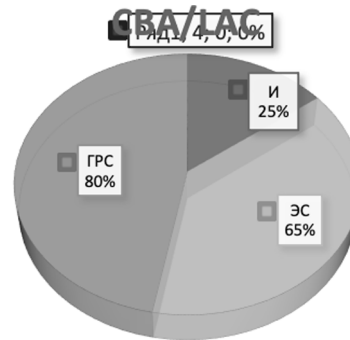


Рисунок 4 – Соотношение индекса синхронизации овуляции особей экспериментальных групп линии CBA/Jac

Примечание: И – интактная группа; ЭС – эстральная синхронизация; ГРС – гормон-регулирующая синхронизация.

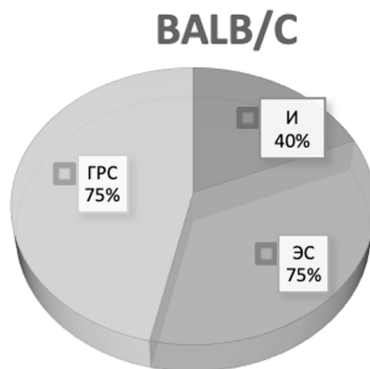


Рисунок 5 – Соотношение индекса синхронизации овуляции особей экспериментальных групп линии BALB/C

Примечание: И – интактная группа; ЭС – эстральная синхронизация; ГРС – гормон-регулирующая синхронизация.

Таблица 1 – Индекс синхронизации овуляции

Название линии	Группы	CBA/lac			C57BL/6			BALB/c		
		(И)	(ЭС)	(ГРС)	(И)	(ЭС)	(ГРС)	(И)	(ЭС)	(ГРС)
Количество беременных самок на 14 сутки		5	13	16	5	12	15	8	15	20
Количество самок, подсаженных к самцам		20	20	20	20	20	20	20	20	20
ИСО%		25%	65%	80%	25%	60%	75%	40%	75%	100%

Примечание: И – интактная группа; ЭС – эстральная синхронизация; ГРС – гормон-регулирующая синхронизация

Таблица 2 – Количество самок, разродившихся на 22 сутки

Название линии	Интактная группа	CBA/lac(n=20)	C57BL/6(n=20)	BALB/c (n=20)
		Эстральная синхронизация	3	1
Гормон-регулирующая синхронизация		10*	6*	9*
		16*	15*	17*

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контрольными группами и экспериментальными

Таблица 3 – Индекс рождаемости

Название линии	Группы	CBA/lac			C57BL/6			BALB/c		
		(И)	(ЭС)	(ГРС)	(И)	(ЭС)	(ГРС)	(И)	(ЭС)	(ГРС)
Количество беременных самок на 14 сутки		5	13	16	5	12	15	8	15	20
Количество потомства		34	77	145	28	67	126	74	123	193
ИР, %		6,8	5,9	9,0	5,6	5,5	8,4	9,25	8,2	9,65

Гормональная регулирующая эстрального цикла

Для осуществления первого этапа гормональной синхронизации овуляции у мышей внутримышечно вводился прогестерон (суспензия для инъекций, ЗАО «Мосагроген», РФ «Прогестомат» рег. 32-3-4.15-2649 № ПВР-3-4.15/03139 от 27.06.2018) в дозе 4,5 мг/100 г вне зависимости от фазы эстрального цикла самок. Через 7 суток после введения прогестерона, осуществлялось внутримышечное введение простагландина F2 α (ЗАО «Мосагроген», РФ «Магестрофан» рег. 32-3-4.15-2649 № ПВР-3-4.15/03139 от 11.06.15) в дозе 0,083 мг/100 г. Предполагаемое время наступления овуляции – 34–72 часа после введения второго препарата. Схема применения препаратов представлена в инструкции по ветеринарному применению лекарственных препаратов.

Статистический анализ

Статистический анализ сравнения числа случаев родов на 22 сутки в группах проводился с использованием критерия согласия Хи-2 Пирсона. Различия были определены на уровне значимости 0,05. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вагинальный мазок/цитология

На следующий день после инъекции прогестерона самке мыши (рис. 2) отмечается смешанная цитологическая картина, не позволяющая отнести видимый результат к определенной фазе цикла (А).

Полиморфноядерные лейкоциты и небольшое количество ороговевающих клеток отмечается на 3 сутки после введения прогестерона, что соответствует фазе диэструса (В). На седьмые сутки перед введением простагландина F2 α , отмечается преобладание округлых ядросодержащих клеток с небольшим вкраплением между ними ороговевающих эпителиальных клеток и полиморфноядерных лейкоцитов (С). Во влажалищном мазке, взятом на следующий день после инъекции простагландина F2 α отмечается преобладание обильных неядерных ороговевающих эпителиальных клеток с клетками неправильной формы имеющих зернистую цитоплазму (D).

Гормон-регулирующая синхронизация эстрального цикла

В ходе исследования было установлено, что гормональная синхронизация группы самок увеличивает количество оплодотворенных особей на 55% относительно интактных групп и на 18,3% относительно контрольных групп. Отбор особей опирающийся на цитологическое исследование влажалищного секрета увеличивает количество беременных самок на 36% ($p < 0,05$) (таблица 1). Гормон-регулирующая синхронизация увеличивает вероятность родов самки на 22 сутки на 53% ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой и на 85,5% ($p < 0,05$) в сравнении с интактной группой (таблица 2). Соотношение индекса синхронизации овуляции представлено на рисунках 3,4,5.

В линии C57BL/6 в интактной группе на 14 сутки после спаривания беременность отмечалась у 25% самок. Эстральная синхронизация цикла увеличила

количество беременных особей относительно контроля на 35%. Гормон-регулирующая синхронизация овуляторного цикла увеличила количество оплодотворенных особей на 50% относительно интактной и на 10% относительно эстральной синхронизации ($p < 0,05$).

В линии СВА/лас в интактной группе на 14 суток после спаривания беременность отмечалась у 25% самок. Эстральная синхронизация цикла увеличила количество беременных особей относительно контроля на 40%. Гормон-регулирующая синхронизация овуляторного цикла увеличила количество оплодотворенных особей на 55% относительно интактной и на 15% относительно эстральной синхронизации ($p < 0,05$).

В линии СВА/лас в интактной группе на 14 суток после спаривания беременность отмечалась у 25% самок. Эстральная синхронизация цикла увеличила количество беременных особей относительно контроля на 35%. Гормон-регулирующая синхронизация овуляторного цикла увеличила количество оплодотворенных особей на 35% относительно интактной и не изменилось в эстральной синхронизации ($p < 0,05$).

Оценка индекса рождаемости

Количество потомства у экспериментальных животных разных групп неодинаково. В группах гормон-регулирующей стимуляции, среднее количество приплода у самок выше в сравнении с интактными и группами эстральной синхронизации (Таблица 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования подтвердили гипотезу о том, что гормон-регулирующая коррекция овуляторного цикла у самок мышей позволяет экспериментатору получить большее количество оплодотворенных особей в запланированные сроки с минимальной погрешностью в дате родов.

Согласно инструкции по ветеринарному применению лекарственного препарата «Прогестомат» и «Магестрофан», прогестерон ингибирует гипоталамо-гипофизарную систему, вследствие этого не происходит выделение гонадотропных гормонов – фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ), и в результате не происходит созревание фолликулов и овуляции.

Это приводит к индукции синтеза цервикальной слизи эпителиоцитами шейки матки, ее отеку в следствии увеличения ее кровоснабжения, а также приводит к разрастанию эндометрия и повышению растяжимости миометрия, снижает высвобождение гонадолиберина тем самым ингибируя новые овуляции, препятствуя созреванию фолликулов в яичниках, делает овуляцию невозможной. С шестого–седьмого дня происходит снижение концентрации прогестерона и эстрогена вызывая естественное увеличение ЛГ и ФСГ, а также увеличение содержания эстрогена в плазме крови.

Все фолликулы, растущие в виде когорты, имеют специфические рецепторы к ФСГ и нуждаются в гонадотропине, который необходим для их роста. На этой стадии растущие фолликулы не имеют достаточного рецепторов к ЛГ, чтобы ответить на стимуляцию, поэтому такую стадию роста часто именуют ФСГ-зависимой.

Второй этап гормон-регулирующей синхронизации овуляции начинается с введения на седьмые сутки простагландина F2 α . Основное действие данного биологически активного вещества, заключается в стимуляции перехода эстрального цикла из фазы диеструса в эструс путем преодоления прогестероновой блокады цикла. Кроме того, простагландин F2 α способствует развитию фолликулогенеза, синтезу эстрогенов и как следствие наступлению эструса. Простагландин F2 α поддерживает лютеинолиз вызванный всплеском ЛГ, что приводит к овуляции и выбросу яйцеклеток из доминантного фолликула в течение 16–32 ч.

Во время овуляции, которая происходит примерно через 34–36 ч после всплеска ЛГ, вторичный ооцит в метафазе II покидает доминирующий фолликул и проходит в просвет фаллопиевой трубы, где он может быть оплодотворен [12].

Всплеск лютеинизирующего гормона (ЛГ) стимулирует преовуляторные фолликулы к образованию местных аутокринных и паракринных медиаторов, которые координируют сложные внутри- и внеклеточные молекулярные механизмы, впоследствии вызывая овуляцию и лютеинизацию. К ключевые локальным медиаторам относят прогестерон и его ядерный рецептор (PGR), простагландины (PTG) (PGE2 и PGF2 α).

Повышение уровня ЛГ увеличивает продукцию прогестерона и экспрессию PGR в перивуляторных фолликулах, что необходимо для успешной овуляции на различных моделях животных [13]. Например, блокирование биосинтеза прогестерона [14], ингибирование активности PGR химическими ингибиторами [15, 16] или нокаут генов, кодирующих синтез PGR [17, 18], приводили к ановуляции на различных экспериментальных моделях животных.

Все вышеперечисленные изменения приводят к наступлению овуляции на 8–9 день после проведения первого этапа гормон-регулирующей синхронизации овуляции.

Подтвержден факт того, что выборка животных для спаривания, основанная на цитологической картине фазы эстрального цикла увеличивает количество оплодотворенных особей, однако разброс даты родов составлял 2–4 дня, что осложняет планирование экспериментального протокола изучения фармакологической коррекции патологии беременности. Известны модели, в которых препарат вводят в различные сроки беременности, изучая его влияние на различные периоды внутриутробного развития

плода: с 1 по 6 (доимплантационный период), с 6 по 16 (органогенез), и с 16 по 19 дни беременности (фетогенез) [19]. В данном случае разброс даты родов в 2–4 дня является проблемой, которая должна быть минимизирована. По нашим наблюдениям дату подсадки самок к самцам сразу после инъекции простагландина F2 α можно считать первым днем беременности, так как через 21–22 дня после проведения двухэтапной гормон-регулирующей синхронизации эструса у 80% самок наступили роды, тогда как в группе эстральной синхронизации в заданные сроки родоразрешились только 42% самок.

Кроме того, количество плодов, родившихся у самок, индукция овуляции у которых была искусственной, на 30% выше в сравнении с естественной. Мы предполагаем, что это обусловлено повышенным выбросом в кровь рилизинг гормонов гипоталамо-гипофизарной системы что стимулирует выход большего количества яйцеклеток из яичников в овуляцию [20].

Используемые в данной схеме препараты по степени воздействия на организм относятся к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007). При подкожном или внутримышечном введении препарата Прогестамаг, необходимый экзогенный уровень прогестерона в крови для проявления терапевтического действия поддерживается в течение 6–7 суток, но не превышает при этом физиологическое содержание в организме животных. При применении препарата Магэстрофан в соответствии с инструкцией побочных явлений и осложнений у сельскохозяйственных животных, как правило, не наблюдается.

Таким образом введение прогестерона самке мыши в дозе 4,5 мг/100 г стимулирует переход фазы овуляторного цикла в секреторную фазу овуляторного цикла самки. Последующее введение простагландина F2 α в дозе 0,083 мг/100 г через 34–36 часов обеспечивает высвобождение ЛГ, что стимулирует выход вторичного ооцита в просвет фаллопиевой трубы, где он может быть оплодотворен.

Предложенная схема имеет на наш взгляд следующие преимущества:

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Это исследование не получило какого-либо конкретного гранта от финансирующих учреждений в государственном, коммерческом или некоммерческом секторах.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Применение комбинированной гормон-регулирующей синхронизации овуляции оправданно при проведении доклинических исследований эмбриотоксичности лекарственных препаратов ввиду отсутствия токсических эффектов используемых компонентов на плод.

Точное прогнозирование даты родов позволяет минимизировать риски задержки исследования, позволяет рационально планировать эксперимент.

Последовательное введение двух препаратов с довольно длительным интервалом, минимизирует трудозатраты и существенно облегчает планирование дальнейшего эксперимента.

Учитывая факт принятия первого дня беременности особи с момента спаривания, открываются перспективы исследования патологий доимплантационного периода, органогенеза, фетогенеза, внутриутробных патологий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гормональная стимуляция овуляции у самок мышей достоверно увеличивает количество разродившихся особей на 22 сутки относительно группы контроля с цитологическим подтверждением фазы эструса и интактной группы. Данный способ планирования сроков рождения потомства экспериментальных животных сокращает временные затраты проведения доклинических исследований лекарственных препаратов по следующим видам оценки токсических эффектов: репродуктивная токсичность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на фертильность. Кроме того, данный способ расширяет возможности экспериментального моделирования патологий беременности и плода с последующей оценкой их фармакологической коррекции.

Таким образом, введение прогестерона самке мыши в дозе 4,5 мг/100 г стимулирует переход фазы овуляторного цикла в секреторную фазу овуляторного цикла самки. Последующее введение Простагландина F2 α в дозе 0,083 мг/100 г через 34–36 часов обеспечивает высвобождение ЛГ, что стимулирует выход вторичного ооцита в просвет фаллопиевой трубы, где он может быть оплодотворен.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Åhlgren J., Voikar V. Experiments done in Black-6 mice: what does it mean? *Lab Anim (NY)*. 2019. V. 48, N 6. P. 171–180. DOI: 10.1038/s41684-019-0288-8
2. Mayer B., Stahl V., Kron M. The use of gatekeeping procedures in the statistical planning of animal experiments. *Altern Lab Anim*. 2017. V. 45, N 6. P. 317–328. DOI: 10.1177/026119291704500608
3. McLean A.C., Valenzuela N., Fai S., Bennet S.A. Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation or mouse estrous cycle staging identification. *J Vis Exp*. 2012.V. 15, N 67. e4389.
4. Ekambaram G., SKS K., Joseph L.D. Comparative Study on the Estimation of Estrous Cycle in Mice by Visual and Vaginal Lavage Method. *J Clin Diagnostic Res*. 2017. V. 11, N 1. AC05–AC07.
5. Regidor P.A. Clinical relevance in present day hormonal contraception. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2018. V. 37, N 1. DOI:10.1515/hmbci-2018-0030
6. C.E.P. Leonardi L.F.M., Pfeifer M.I.B., Rubin J., Singh R.J., Mapletoft G.A., Pessoa A.M., Bairy C.A.M. Silva. Prostaglandin F2 α promotes ovulation in prepubertal heifers *Theriogenology*. 2012. V. 78, N 7. P. 1578–82. DOI: 10.1016/j.theriogenology
7. Pinaffi F.L.V., Araujo E.R., Ginther O.J. Role of luteal biosynthesis of prostaglandin F2 α on function and structure of the corpus luteum during luteolysis in heifers. *Domest Anim Endocrinol*. 2018. N 63. P.10–14. DOI: 10.1016/j.domaniend
8. Auta T., Hassan A.T. Alteration in oestrus cycle and implantation in *Mus musculus* administered aqueous wood ash extract of *Azadirachta indica* (neem) *Asian Pacific J Reproduction*. 2016. V. 5, N 3. P. 188–192. DOI: 10.1016/j.apjr.2016.03.003
9. Гайдай Е.А., Гайдай Д.С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля. Лабораторные животные для научных исследований. 2019. – № 4. – 9 с. DOI: 10.29926/2618723X-2019-04-09
10. Achiraman S., Archunan G., Sankar Ganesh D., Rajagopal T., Rengarajan R.L., Kokilavani P., Kamalakkannan S., Kannan S. Biochemical analysis of female mice urine with reference to endocrine function: a key tool for estrus detection. *Zool Sci*. 2011. N 28. P. 600–605. DOI: 10.2108/zsj.28.600
11. Barret K.E., Barman S.M., Boitano S., Brooks H.L. Reproductive development and function of the female reproductive system. In: Ganong's review of medical physiology. 24th edition, McGraw Hill Education.
12. Cora M.C., Kooistra L., Travlos G. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicol Pathol*. 2015. V. 43. P. 776–793. DOI: 10.1177/0192623315570339
13. Barbieri R.L. The endocrinology of the menstrual cycle. *Methods Mol Biol*. 2014. V. 1154. P. 145–169. DOI: 10.1007/978-1-4939-0659-8_7
14. Robker R.L., Akison L.K., Russell D.L. Control of oocyte release by progesterone receptor-regulated gene expression. *Nucl Recept Signal*. 2009. V. 7. e012.
15. Snyder B.W., Beecham G.D., Schane H.P. Inhibition of ovulation in rats with epostane, an inhibitor of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1984. V. 176. P. 3238–242.
16. Loutradis D., Bletsas R., Aravantinos L., Kallianidis K., Michalakis S., Psychoyos A. Preovulatory effects of the progesterone antagonist mifepristone (RU486) in mice. *Hum Reprod*. 1991. V. 6, N 9. P. 1238–1240.
17. Pall M., Mikuni M., Mitsube K., Brännström M. Time-dependent ovulation inhibition of a selective progesterone-receptor antagonist (Org 31710) and effects on ovulatory mediators in the in vitro perfused rat ovary. *Biol Reprod*. 2000. V. 63, N 6. P. 1642–1647.
18. Robker R.L., Russell D.L., Espey L.L., Lydon J.P., O'Malley B.W., Richards J.S. Progesterone-regulated genes in the ovulation process: ADAMTS-1 and cathepsin L proteases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000. V. 97, N 9. P. 4689–4694.
19. Bishop C.V., Hennebold J.D., Kahl C.A., Stouffer R.L. Knockdown of progesterone receptor (PGR) in macaque granulosa cells disrupts ovulation and progesterone production. *BiolReprod*. 2016;94(5):109.
20. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию // Изд-во М.: Фармакологический комитет, 1986. – 25 с.
21. Довжикова И.В., Луценко М.Т. Современные представления о роли прогестерона (обзор литературы) // Бюл. физ. и пат. дых. 2016. Т. 1, № 60.

АВТОРЫ

Владимир М. Покровский – студент 5-го курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0003-3138-2075. E-mail: vmpokrovsky@yandex.ru

Евгений А. Патраханов – студент 5-го курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-8415-4562. E-mail: pateval7@gmail.com

Петр Р. Лебедев – студент 5-го курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-9102-3360. E-mail: Artkeit@yandex.ru

Анастасия В. Белашова – студентка 4-го курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Анастасия Ю. Карагодина – студентка 5-го курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский

государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0001-9440-5866

Алексей А. Шабалин – студент 5-го курса ФГБОУ ВО «Курский медицинский университет». ORCID 0000-0002-1867-7074

Аркадий В. Нестеров – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Вера А. Марковская – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Михаил В. Покровский – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ Фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

УДК615.21/.26



ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РЯДУ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЭТИЛТИАДИАЗОЛА

Р.Ф. Череватенко¹, О.В. Анциферов¹, С.Я. Скачилова³, М.В. Покровский¹, В.В. Гуреев¹, И.И. Банчук¹,
А.Ю. Банчук¹, М.И. Голубинская², А.А. Сыромятникова¹, И.С. Рожков¹, А.А. Мостовых¹

¹ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² ОГБУЗ «Городская больница №2 г. Белгорода

308036, Россия, г. Белгород, ул. Губкина, 46

³ АО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ»

142450, Московская обл, Ногинский р-н, г. Старая Купавна, ул. Кирова, д. 23

E-mail: ectomia@list.ru

Получено 20.09.2020

Рецензия (1) 15.10.2020

Рецензия (2) 30.10.2020

Принята к печати 02.11.2020

Цель: Поиск нейропротекторов в ряду новых производных этилтиадиазола в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 78 белых крысах-самцах 270±20 г линии «Wistar» 5–6-месячного возраста и 120 аутбредных половозрелых мышах массой 20±2 грамма. Исследована острая токсичность соединений. Произведен фармакологический скрининг производных этилтиадиазола с изучением поведенческого статуса и неврологических реакций. Тяжесть черепно-мозговой травмы оценивалась по шкале неврологического дефицита McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной и шкале mNSS. Для оценки поведенческого статуса животных использовали тесты «Открытое поле» и «Rota-rod».

Результаты. Выявлено соединение-лидер – ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг. При фармакологической коррекции черепно-мозговой, данное соединение имело самый низкий процент летальности среди исследуемых соединений (8%), статистически значимо снижалась тяжесть неврологического дефицита, регистрировали самые низкие баллы и более высокий уровень моторной деятельности конечностей. Количество стоек в группе животных, получавших соединение ЛХТ 12–18, увеличивалось в 1,5 раза статистически значимо (p<0,05), относительно группы контроля. Исходя из результатов теста «Rota-rod», суммарное время удержания животных на стержне за 3 попытки статистически значимо отличалось в группах с применением производных ЛХТ 12–18 (в 1,5 раза дольше) в сравнение с контролем (p<0,05). Заключение. Экспериментальным путем было доказано наличие нейропротективных свойств у производного этилтиадиазола ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг у крыс.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, производные этилтиадиазола, нейропротекция

Список сокращений: ЧМТ – черепно-мозговая травма; ЛХТ – шифр производного этилтиадиазола (4–15, 10–18, 11–18, 12–18); АТФ – аденозинтрифосфат; ДАТ – диффузная аксональная травма; тСАК – травматическое субарахноидальное кровоизлияние; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ЛП – латентный период

THE SEARCH FOR NEUROPROTECTIVE COMPOUNDS AMONG NEW ETHYLTHIADIAZOLE DERIVATIVES

R.F. Cherevatenko¹, O.V. Antsiferov¹, S.Y. Skachilova³, M.V. Pokrovsky¹, V.V. Gureev¹,
I.I. Banchuk¹, A.Y. Banchuk¹, M.I. Golubinskaya², A.A. Syromyatnikova¹, I.S. Rozhkov¹, A.A. Mostovykh¹

1 Belgorod State National University

85, Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

2 City Hospital No.2

46, Gubkina St., Belgorod, 308036, Russia

3 Russian Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances

23, Kirov St., Old Kupavna, Moscow region, 142450

E-mail: ectomia@list.ru

Received 20 September 2020

Review (1) 15 October 2020

Review (2) 30 October 2020

Accepted 02 November 2020

Для цитирования: Р.Ф. Череватенко, О.В. Анциферов, С.Я. Скачилова, М.В. Покровский, В.В. Гуреев, И.И. Банчук, А.Ю. Банчук, М.И. Голубинская, А.А. Сыромятникова, И.С. Рожков, А.А. Мостовых. Исследование нейропротективных соединений в ряду новых производных этилтиадиазола. *Фармация и фармакология*. 2020;8(4):263-272. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-263-272

© Р.Ф. Череватенко, О.В. Анциферов, С.Я. Скачилова, М.В. Покровский, В.В. Гуреев, И.И. Банчук, А.Ю. Банчук, М.И. Голубинская, А.А. Сыромятникова, И.С. Рожков, А.А. Мостовых, 2020

For citation: R.F. Cherevatenko, O.V. Antsiferov, S.Y. Skachilova, M.V. Pokrovsky, V.V. Gureev, I.I. Banchuk, A.Y. Banchuk, M.I. Golubinskaya, A.A. Syromyatnikova, I.S. Rozhkov, A.A. Mostovykh. The search for neuroprotective compounds among new ethylthiadiazole derivatives. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(4):263-272. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-263-272

The aim of the study is to search compounds with neuroprotective properties among new ethylthiadiazole derivatives in simulated traumatic brain injury.

Materials and methods. The experiment was carried out on 78 white male rats 270±20 g line "Wistar" 5–6 months of age and 120 outbred sexually mature mice weighing 20±2 grams. The article describes the search for compounds with neuroprotective properties among new ethylthiadiazole derivatives under the codes LKHT 4–15, LKHT 10–18, LKHT 11–18, and LKHT 12–18 in experimental traumatic brain injury in rats. Acute toxicity of the compounds was studied. Pharmacological screening was performed using behavioral and neurological research methods. The McGraw stroke score scale modified by I.V. Gannushkina and the mNSS psychometric scale were used in the study. The open field and Rota-rod tests were used to assess the behavioral status of the animals.

Results. The compound-LKHT 12–18 at a dose of 50 mg/kg was detected as a leader. In pharmacological correction of pathology, this compound had the lowest percentage of fatality among the studied compounds (8%), the severity of neurological deficit was significantly reduced, the lowest scores and a higher level of motor activity of the limbs were registered. The number of rearing in the group of animals receiving the compound LKHT 12–18 at the dose of 50 mg/kg increased by 1.5 times, statistically significant ($p < 0.05$) in comparison with the control group. Based on the results of the "Rota-rod" test, the total time of holding animals on the rod for 3 attempts was statistically significantly different in the groups administered with LKHT 12–18 derivatives (1.5 times longer) at the dose of 50 mg/kg compared with the control ($p < 0.05$).

Conclusion. Based on the results obtained in this study, it is planned to study in more detail the compound LKHT 12–18 at the dose of 50 mg/kg

Keywords: traumatic brain injury, ethylthiadiazole derivatives, neuroprotection

Abbreviations: TBI – traumatic brain injury; ATP – adenosine triphosphate; DAI – diffuse axonal injury; tSAH – traumatic subarachnoid hemorrhage; BBB – blood-brain barrier; LP – latency period

ВВЕДЕНИЕ

Бытовой и производственный травматизм, в том числе и черепно-мозговая травма (ЧМТ) – заболевания, которые являются основной проблемой общественного здравоохранения во всех промышленно развитых странах и ведут к стойкой потере трудоспособности, а также высокой смертности, инвалидизации и приводят к высоким затратам на лечение [1].

Разработка эффективных путей фармакологической коррекции последствий черепно-мозговой травмы является одной из основных локусов экспериментальных исследований, на которые высокоразвитые страны ежегодно тратят миллиарды долларов [2]. К сожалению, многие вещества дают великолепные результаты лишь на этапе исследования в лаборатории. Причина тому – сложный патогенез ЧМТ, который включает в себя комплекс взаимосвязанных факторов, которые влияют на первичную и вторичную «волну» повреждающих процессов головного мозга [3]. Поэтому тема поиска инновационных нейропротекторов стоит достаточно актуально в современном мире науки.

Черепно-мозговую травму можно классифицировать по степени тяжести: легкой, средней и тяжелой. В дополнении выделяют особые формы ушиба: диффузное аксональное повреждение и травматическое субарахноидальное кровоизлияние. Самым распространенным является ушиб мозга средней тяжести.

У подавляющей части пострадавших с ЧМТ диагностируют отклонения различной степени выраженности – от незначительных расстройств до ярко выраженной неврологической симптоматики. ЧМТ в отдаленном периоде может являться пусковым механизмом развития таких болезней, как Паркинсона и Альцгеймера. В первые 10–12 месяцев после перенесенной травмы очень высок риск возникновения эпилептического приступа (в 12 раз). Посттравматическая эпилепсия выявляется более чем у 10% пострадавших с патологией средней степени тяжести [5].

Повреждения головного мозга при ЧМТ классифицируют на первичные и вторичные. Первичные повреждения возникают в результате воздействия травмирующего фактора на кости черепа, а также его структуры и сосуды [6]. Эти поражения возникают по причине различного рода воздействия, что характеризует большой спектр реакций повреждения.

Травма головного мозга вызывает поражение клеток нервной системы, составных структур сосудов, элементов белого вещества. Это влечет начало второй волны повреждений – стресс для обменных процессов, а также нарушения в ионном обмене, биохимическом и молекулярном уровнях регуляции нейронов [7–9].

После ЧМТ увеличивается обмен веществ в нервных клетках: опустошаются запасы аденозинтрифосфата (АТФ), нарушаются функции Ca^{2+} – насоса. Из-за увеличения проницаемости клеточных мембран для Ca^{2+} , процесс провоцирует выброс кальция из внутриклеточного депо. Далее наступает деполяризация нервных окончаний и отток из них глутамата, что влечет за собой нарушение целостности мембран нервных клеток и эндотелия сосудов [6, 10, 11]. Нейромедиатор (глутамат) провоцирует активацию постсинаптических комплексов. Происходит приток в клетку ионов Na^{+} , что вызывает еще большую деполяризацию. В клетку начинает поступать еще большее количество Ca^{2+} через ионные каналы. Следствием перегрузки клетки кальцием является ее повреждение по причине активации фосфолипаз, протеаз и нуклеаз, что приводит к утрате целостности мембран, экспрессии генома и разрушению структурных компонентов клетки [12, 13].

К первичным повреждениям при ЧМТ относят локальные ушибы мозга, первичные ушибы ствола, аксональные и сосудистые повреждения мозга. При первичной травме возникают поражения тела нейронов и астроцитов, образуются синаптические разрывы, образуются тромбы в сосудах и нарушается це-

лостность стенки у сосудов. В конце патологического процесса первичной травмы происходит снижение поступления аденозинтрифосфата (АТФ) в связи с нарушением проницаемости мембран клеток, что на следующем этапе приводит к цитотоксическому отеку и гибели клеток [14, 15].

По периферии первичного места травмы образуется зона пенумбры. Все клетки внутри этого очага остаются жизнеспособными. Повышается только их чувствительность даже к незначительным отклонениям в нормальной работе доставки кислорода и питательных веществ [16, 17].

Механическое разрушение мембран нейронов является пусковым фактором, приводящим к истощению ионных запасов клетки, образованию свободных радикалов, перекисному окислению липидов из мембран нейрона. Следующий патологический этап – увеличение содержания Ca^{2+} в клетке, запуск фосфолипидов и кальпаина. Все эти патологические факторы активизируют вторичное повреждение мембраны и цитоскелета нейронов. Перемещение плазмы аксона замедляется, что приводит к отсроченной гибели клетки [18].

Вследствие черепно-мозговой травмы запускается апоптоз нервных клеток. Этот процесс начинается с вызывающего повреждения агента на геном клетки или с разрушающего действия медиаторов воспаления. По причине воздействия факторов вторичной травмы мозга нарушается транспорт O_2 и питательных веществ к нейронам, а также начинается их уничтожение не в нужном объеме [19, 20]. Зона пренумбры в большей степени подвержена патологическим изменениям из-за ЧМТ [21].

Вследствие первичной травмы при ЧМТ запускается воспалительная реакция. Эти реакции обладают как повреждающим воздействием, так и носят нейропротективный характер. При черепно-мозговой травме первичные патологические процессы запускаются из-за какого-либо механического повреждения ткани головного мозга. Ученые в эксперименте на животных большое значение отдают вторичной травме. Поэтому, фармакологические подходы лечения последствий ЧМТ, воздействующие на вторичные механизмы патологии с дальнейшим апоптозом клеток мозга требуют глубокого изучения [9].

По причине развития вторичных нарушений после ЧМТ наблюдаются такие явления, как угнетение церебральной микроциркуляции, нарушения оксигенации и обменных процессов в нервных клетках, возникает отек и ишемия головного мозга. Такого рода повреждения появляются в среднем у 40% людей, перенесших ЧМТ средней степени тяжести и у 85% тяжелой степени [22].

У людей, перенесших ЧМТ, значительно возрастает риск неблагоприятного исхода при возникновении вторичной травмы мозга, так как это в значительной мере ухудшает тяжесть их состояния и восстановление когнитивных составляющих. По-

этому своевременная профилактика и правильно выбранная тактика лечения вторичной травмы мозга является основной задачей терапии пострадавших от тяжелой черепно-мозговой травмы [9].

Воспалительный ответ при данной патологии занимает одно из важнейших мест – это эволюционно выработанный процесс тканевой реакции. На уровне клетки это разрушающий мембрану процесс, вследствие как механического повреждения, так и аутолитических процессов. Финалом таких патологических явлений может стать некроз и апоптоз или регенерация и репарация [23]. Перестройка на уровне клеток влечет все факторы воспалительной реакции. К таковым относят: отек, угнетение кровообращения и белкового, углеводного, жирового обмена. Все это ведет к тому, что саногенные патологические реакции в качестве отека и гиперемии, в случае генерализации, могут носить патогенный или даже танатогенный окрас.

При первичном повреждении головного мозга начинается активация и выброс больших объемов цитокинов во всем организме человека. Эти цитокины могут носить как воспалительный, так и противовоспалительный характер. Так же происходит активация резидентных макрофагов в головном мозге из астроцитов с микроглией, движение нейтрофилов из всего организма к месту повреждения и в ближайшие зоны из-за нарушений проницаемости ГЭБ. Семейство цитокинов состоит из: ростовых факторов, интерлейкинов, нейротрофинов, хемокинов, интерферонов, факторов некроза опухолей, нейротропинов. Все эти составляющие принимают участие в воспалительной реакции [24].

Несмотря на стремительное развитие экспериментальной фармакологии [4, 25–28], совершенствование методов направленного синтеза, позволяющих создавать высокоселективные препараты, остаётся высокоактуальным поиск новых соединений. Потенциальными кандидатами с нейропротективными свойствами могут быть производные этилтиадиазола. Среди них выделено большое количество соединений с противовоспалительным, антимикробным, противосудорожным, гипотензивным, антиоксидантным, противоопухолевым действием [29–34].

ЦЕЛЬ – исследование нейропротективных свойств в ряду новых производных этилтиадиазола в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые вещества

Исследуемые соединения ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 были синтезированы в ОАО «Всероссийский центр по изучению безопасности биологически активных веществ» (ВНЦ БАВ, Россия, Старая Купавна).

Животные

Эксперимент проведен на 78 белых крысах-самцах 270 ± 20 г линии «Wistar» 5–6-месячного возраста

та и 120 аутбредных половозрелых мышах массой 20 ± 2 грамма. Животные получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА. Условия содержания: в стандартных условиях в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) и ГОСТ 33044-2014.

Дизайн исследования

Определение острой токсичности исследуемых соединений ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛТХ 11–18 и ЛХТ 12–18 проводили на мышах-самцах. Исследовали следующий диапазон доз: 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 2500 мг/кг, 5000 мг/кг. Подбор доз осуществляли экспериментальным путем. Введение грызунам соединений производили дробно. После введения экспериментальных веществ выполняли наблюдение за каждой мышью в течение первых 60 минут после введения соединения. Далее наблюдение выполняли 1 раз в сутки.

Оперативные манипуляции на крысах осуществляли в состоянии общего наркоза путем внутрибрюшинного введения водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг. В работе была воспроизведена техника моделирования черепно-мозговой травмы у крыс с применением метода свободного падения груза массой 155 грамм с высоты 0,6 м [33]. Установка содержит стойку, которая состоит из полой трубы длиной 1,1 м, зажатой в штативе в вертикальном положении. У нижнего края трубы располагался боек со стопором. Площадь ударной поверхности бойка составляла $0,5 \text{ см}^2$. Движение бойка было ограничено в любых условиях не более 5 мм. С помощью возвратной пружинки по совершению удара боек возвращается в исходную точку. Ограничение в движении бойка позволяет уйти от вдавленных переломов свода черепа. В полость трубы на заданную высоту размещали груз. С помощью данной функции в эксперименте исключалось смещение бойка в точке удара. Перед моделированием патологии в обязательном порядке осуществлялась проверка положения трубы (устанавливалась вертикально) и стола (горизонтально). Локализацию удара осуществляли согласно анатомии головного мозга у крыс. Удар моделировали в зону поля Fr1, Fr3, FL, HL, Par1, Par2. Место осуществления удара локализовалось в лобно-теменно-височной области левого полушария ГМ. Голову грызуна жестко не закрепляли. Данная модель позволяла воспроизвести модель ЧМТ максимально приближенную к аналогичной у человека [33].

На этапе фармакологического скрининга для оценки тяжести неврологического дефицита использовали балльную шкалу McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной [35] и шкалу mNSS [36].

Данная шкала McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной (табл. 1) представлена перечнем проявлений неврологических нарушений. Анализируемые показатели суммируются. В зависимости от итоговой суммы, неврологический дефицит можно обозначить по-разному: сумма баллов 0,5–2,0 соответствует легкой степени

дефицита; 2,5–5,0 – средней степени тяжести; 5,5–10 тяжелой степени неврологического дефицита. Оценка производится на 1, 3 и 7 сутки эксперимента.

Для оценки неврологического дефицита через 48 ч. после моделирования ЧМТ был проведен модифицированный тест оценки неврологического дефицита. Шкала mNSS – (modified neurological severity score) – это особая система интерпретации неврологического дефицита при имеющейся травме ГМ. Она используется для оценки моторного, сенсорного, балансового и рефлекторного поведения животных [36].

Согласно данной неврологической шкале (табл. 2), выполняли подвешивание грызунов за хвост (чтобы определить наличие парезов и параличей), оценивали двигательную активность в домашней клетке (для регистрации нарушений походки и стереотипных движений) и особенности передвижения на горизонтальной балке (для проведения оценки координации движений), проверяли сохранность основных рефлексов (стартл-рефлекс, рефлекс наружного слухового прохода, роговичный рефлекс). Результаты исследования по определению неврологического дефицита формулировали исходя из суммы баллов, набранных в каждом тесте. Более высокий балл указывает на более тяжелую травму. Суммарное количество баллов в диапазоне от 1–6 указывает на наличие ЧМТ легкой степени тяжести, от 7 до 12 – средней, а сумма баллов 13–18 показывает наличие тяжелой ЧМТ.

Для оценки поведенческого статуса животных использовали тесты «Открытое поле» [37] и «Rotarod» [38].

Тест «Открытое поле»

Данный поведенческий тест активно используется для регистрации особенностей поведенческих реакций в фармакологии, психогенетике. Основная задача этого тестирования заключается в изучении двигательного компонента ориентировочной реакции и эмоциональной реактивности грызунов. Установка для методики «открытого поля» имеет большое число модификаций, а параметры определения в данном тесте зависят от целей исследования. У грызунов без патологий исследовательское поведение преобладает над страхом, поэтому если посадить грызуна на арену, при нормальных показателях горизонтальной и вертикальной активности, исследовательское поведение доминирует над эмоцией страха (грумингом и уровнем дефекации). Анализ поведенческого статуса с оценкой ориентировочно-исследовательской активности крыс исследовали в установке «открытое поле» (Open Field LE800S, PanLab Harvard Apparatus, Испания) 10 минут. Освещение в помещении производили лампой мощностью 100 Вт, которая висела на высоте 1,5 м от низа арены. Грызунов помещали в «открытое поле» по периферии арены. После каждого животного арену протирали влажной тряпкой. Для анализа полученных данных использовалась программа Smart v.3.0.03. (Panlab Harvard Apparatus, Испания). Результаты полученных данных были обобщены.

Для статистических расчетов теста «Открытое поле» были взяты следующие показатели: горизонтальная активность в центре, горизонтальная активность на периферии, стойки, норковый рефлекс, количество актов дефекации, количество актов урикации, груминг.

Тест «Rota-rod»

Тест «Rota-rod» направлен на характеристику моторной координации движений [13]. В данном эксперименте использовали постоянную скорость вращения стержня – 20 об/мин. Регистрировали латентный период (ЛП) первого падения (время первого падения животного с вращающегося стержня) и суммарное время удержания на вращающемся стержне за 3 попытки [33, 39–42].

Исходя из поставленной цели все животные были распределены по следующим группам (n=13):

1. Интактная группа (животные с пероральным введением натрия хлорида в эквивалентных дозах)
2. Моделирование экспериментальной ЧМТ (контроль)
3. Моделирование экспериментальной ЧМТ+ЛХТ 4–15
4. Моделирование экспериментальной ЧМТ+ЛХТ 10–18
5. Моделирование экспериментальной ЧМТ+ЛХТ 11–18
6. Моделирование экспериментальной ЧМТ+ЛХТ 12–18

Все вещества вводили в дозе 50 мг/кг (подбор доз осуществлялся экспериментальным путем), за 30 мин до моделирования патологии. Соединения растворяли с помощью натрия хлорида и вводили внутривенно.

Спустя сутки запустили оценку показателей неврологического дефицита и поведенческого статуса [15].

Статистическая обработка результатов

Для всех данных была применена описательная статистика. Полученные данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Межгрупповые различия анализировались параметрическими (t-критерий Стьюдента) или непараметрическими (критерий Манна-Уитни) методами, в зависимости от типа распределения. Статистический анализ выполнен с помощью программ IBM SPSS Statistics 23 (США) и Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведения эксперимента было выявлено, что соединения ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 в дозовом интервале 500–5000 мг/кг не приводили к изменениям обычного поведения грызунов. При введении ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 в дозе 10000 мг/кг наблюдали снижение поведенческой активности и, визуально, фиксирова-

ли незначительное увеличение частоты дыхательных движений мышей. Животные локализовались преимущественно по периферии клетки. Не отмечалось изменение кожного и волосяного покровов, слизистых оболочек мышей. Количество и характер актов урикации и дефекаций были без изменений.

Исходя из полученных данных по определению «острой» токсичности ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18, не удалось определить LD50, так как в ходе данной части исследования не фиксировали летальных исходов у мышей. Максимальная введенная доза без фиксирования летальных исходов – 10000 мг/кг.

Исследуемые производные этилтиадиазола вводились крысам в дозе 50 мг/кг (1/200 от максимальной введенной дозы).

Влияние производных этилтиадиазола на показатели неврологического дефицита экспериментальных животных в условиях ЧМТ

Для всех животных экспериментальных групп характерной симптоматикой являлись: вялость, тремор, слабость конечностей, парез. У крыс регистрировали наличие когнитивной дисфункции, наблюдали патологическую работу передних конечностей: животное тянуло за собой передние конечности, пальцы были сжаты к ладони.

В первые сутки эксперимента показатель летальности был равен 0% во всех экспериментальных группах. К третьим суткам самый высокий процент летальности – 23%, был в группах с ЧМТ без коррекции, с коррекцией ЛХТ 10–18 и ЛХТ 11–18. Самый низкий процент летальности к третьим суткам регистрировали в группе животных с коррекцией ЛХТ 12–18 – 8%.

Основная гибель животных в экспериментальных группах отмечалась с 3 по 7 сутки. В результате ЧМТ регистрировали гибель высокого процента животных группы контроля (46%). Введение соединения ЛХТ 11–18 в дозе 50 мг/кг не приводило к значительному снижению количества летальных исходов (38%). Показатели летальности среди экспериментальных групп фиксировали в группах с введением ЛХТ 10–18 (31%) и ЛХТ 4–15 (23%). Самый низкий показатель летальности был среди группы крыс с введением ЛХТ 12–18 (8%).

Оценку влияния ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг на неврологический дефицит животных после моделирования черепно-мозговой травмы исследовали с применением балльной шкалы McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной и шкалы оценки неврологического дефицита mNSS у животных интактной группы наблюдали отсутствие неврологического дефицита.

За контроль принимали группу животных с патологией без фармакологической коррекции.

В данной группе в 1 сутки отмечался неврологический дефицит средней степени тяжести – 4,04 балла, с тенденцией к ухудшению степени тяжести до тяжелой к 7-м суткам до 6,08 балла.

Таблица 1 – Шкала оценки неврологического дефицита по McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной (1996)

Симптомы	Баллы
Вялость, замедленность движений	0,5
Тремор	1,0
Односторонний полуптоз	1,0
Двусторонний полуптоз	1,5
Односторонний птоз	1,5
Двусторонний птоз	1,5
Манежные движения	2,0
Парез 1–4 конечности	2,0–5,0
Паралич 1–4 конечности	3,0–6,0
Коматозное состояние	7,0
Летальный исход	10,0

Таблица 2 – Модифицированная шкала тяжести неврологической симптоматики mNSS

Тест	Баллы	Проявления	Баллы
Подвешивание за хвост	0–3	Подгибание передней конечности	1
		Подгибание задней конечности	1
		Смещение головы >10° от вертикальной оси в течение 30 с	1
Двигательная активность	0–3	Без особенностей	0
		Невозможность движения по прямой	1
		Манежность	2
		Падение на одну из сторон	3
Сенсорные тесты	0–2	Тест постановки передней конечности	1
		Сопrotивление пассивному сгибанию конечности в голеностопном суставе	1
Ходжение по перекладине	0–6	Устойчивая поза	0
		Зажимание одной из сторон перекладины	1
		Обхватывание перекладины с соскальзыванием одной из конечностей	2
		Обхватывание перекладины с соскальзыванием двух конечностей или вращение на перекладине (>60 с)	3
		Безуспешная попытка удержаться на перекладине, падение (>40 с)	4
		Безуспешная попытка удержаться на перекладине, падение (>20 с)	5
Выпадение рефлексов, специфические движения	0–4	Рефлекс наружного слухового прохода	1
		Роговичный рефлекс	1
		Стартл-рефлекс	1
		Судороги, миоклонусы, мышечная дистония	1

Таблица 3 – Влияние производных этилтиадиазолана на тяжесть неврологических нарушений у крыс по шкале McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной (1996) (по среднему значению балла в группе) ($M \pm m$; $n=13$)

Группы	Период		
	1 сут	3 сут	7 сут
интактные	0	0	0
ЧМТ	4,04	5,35	6,08
ЛХТ 4-15 (50 мг/кг)	3,19	4,00	4,27
ЛХТ 10-18 (50 мг/кг)	3,65	4,69	5,54
ЛХТ 11-18 (50 мг/кг)	3,88	4,85	5,73
ЛХТ 12-18 (50 мг/кг)	2,96	2,73*	2,46*
Цитиколин(500 мг/кг)	3,97	4,33	2,97*

Примечание: * – $p < 0,05$, по отношению к контрольной группе крыс

Таблица 4 – Влияние производных этилтиадиазола на тяжесть неврологических нарушений у крыс по шкале тяжести неврологической симптоматики mNSS (по среднему значению балла в группе) (n=13)

Группы	Период
	2 сутки
Втактные	0
ЧМТ	10,69
ЛХТ 4-15 (50 мг/кг)	8,38*
ЛХТ 10-18 (50 мг/кг)	8,92
ЛХТ 11-18 (50 мг/кг)	9,83
ЛХТ 12-18 (50 мг/кг)	7,85*
Цитиколин (500 мг/кг)	8,00

Примечание: * – $p < 0,05$, по отношению к контрольной группе крыс

Таблица 5 – Влияние производных этилтиадиазола на показатели ориентировочно-исследовательского поведения в тесте «открытое поле», ($M \pm m$; n=13)

Показатели теста	Горизонтальная активность в центре, (м)	Горизонтальная активность на периферии, (м)	Стойки	Норковый рефлекс	Грумминг	Дефекации	Уринации
интактные	2,66±0,23	71,72±3,30	10,77±0,60	4,69±0,36	14,15±0,96	2,00±0,30	0,92±0,21
ЧМТ	0,58±0,13	38,34±7,98	3,55±0,53	2,90±0,31	15,72±0,93	0,73±0,24	0,55±0,20
ЛХТ 4–15	1,25±0,20*	53,57±5,90	4,42±0,81	2,83±0,47	13,67±0,85	1,08±0,26	0,42±0,20
ЛХТ 10–18	0,77±0,09	55,92±6,29	3,90±0,45	3,09±0,65	14,18±0,86	0,91±0,25	0,55±0,21
ЛХТ 11–18	0,69±0,07	42,09±2,44	3,82±0,54	2,63±0,53	15,09±0,62	0,82±0,26	0,72±0,25
ЛХТ 12–18	1,5±0,11*	59,47±3,41*	5,92±0,38*	3,41±0,37	14,50±0,72	1,00±0,25	0,83±0,21
Цитиколин (500 мг/кг)	1,44±0,22*	49,8±3,00*	4,60±0,53	3,40±0,35	12,78±0,60*	1,00±0,28	0,74±0,21

Примечание: * – $p < 0,05$, по отношению к контрольной группе крыс

Таблица 6 – Влияние производных этилтиадиазола на показатели активности крыс в тесте «Rota-rod», ($M \pm m$; n=13)

Группа	Период – 72 ч	
	Латентный период первого падения	Суммарное время удержания животных за 3 попытки
интактные	83,31±2,86	158,69±2,13
ЧМТ	7,64±0,61	68,90±4,54
ЛХТ 4–15	41,25±3,20*	95,58±1,09*
ЛХТ 10–18	30,67±2,46*	81,18±1,33
ЛХТ 11–18	24,18±1,98*	81,00±3,78
ЛХТ 12–18	49,83±3,39*	105,08±1,89
Цитиколин (500 мг/кг)	35,73±3,65*	89,14±2,50*

Примечание: * – $p < 0,05$, по отношению к контрольной группе крыс.

Спустя 1 сутки после моделирования патологии тяжелую степень неврологического дефицита регистрировали в группе контроля (4,04 балла). В группе крыс с применением ЛХТ 12–18 неврологический дефицит был легкой степени тяжести (2,96 балла). В группах с коррекцией ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18 и ЛХТ 11–18 занимал промежуточные значения (3,19, 3,65 и 3,88 баллов соответственно).

На 3 сутки эксперимента во всех группах наблюдали ухудшение неврологического статуса, за исключением группы с коррекцией ЛХТ 12–18 (2,73 балла).

На 7-е сутки эксперимента наблюдали снижение показателей неврологического дефицита в группах с коррекцией ЛХТ 12–18 (2,46 балла) и с применением

Цитиколина в дозе 500 мг/кг (2,97 баллов). В группе с применением ЛХТ 4–15 степень тяжести не менялась (4,27 балла). В группах контроля, с применением ЛХТ 10–18 и ЛХТ 11–18 степень тяжести менялась на тяжелую (6,08, 5,54 и 5,73 баллов соответственно).

На фоне введения крысам исследуемых соединений ЛХТ 4–15 и ЛХТ 12–18 в условиях экспериментальной ЧМТ привело к выраженному уменьшению выраженности неврологического дефицита у крыс по отношению к контролю. Статистически значимо ($p < 0,05$) регистрировали снижение степени тяжести неврологического дефицита группы животных с применением ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг в сравнении с группой контроля (табл. 3). На вторые сутки экспери-

мента на фоне введения крысам исследуемых соединений ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг показатели неврологического дефицита по шкале mNSS относительно контрольной группы животных имели симптоматику более легкой степени тяжести в сравнение с контролем. При этом статистически значимые отличия ($p < 0,05$) наблюдались лишь в группах с введением соединений ЛХТ 4–15 и ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг, данные представлены в таблице 4. Крысы этих групп обладали более выраженными моторными навыками в сравнение с животными контрольной группы.

Таким образом, по результатам оценки неврологического дефицита по двум шкалам было выявлено наличие выраженной нейропротекторной активности у ЛХТ 4–15 и ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг. У крыс данных групп с введением производных этилтиадиазола регистрировали самые низкие баллы неврологического дефицита и более высокий уровень моторной деятельности конечностей. Учитывая статистически значимые отличия, уровень летальности наибольшим выраженным эффектом обладало соединение ЛХТ 12–18, которое было определено как соединение-лидер.

Влияние новых производных этилтиадиазола на показатели поведенческого статуса экспериментальных животных в условиях ЧМТ

В тесте «Открытое поле» была проведена оценка двигательной и ориентировочно-исследовательской активности интактных животных, животных после моделирования ЧМТ без фармакологической коррекции и с фармакологической коррекцией производными этилтиадиазола, данные представлены в таблице 5.

Тестирование крыс с ЧМТ в тесте «Открытое поле» через 72 часа после моделирования травмы показало, что у животных, без фармакологической коррекции, двигательная и ориентировочно-исследовательская активность в сравнении с интактной группой была ниже в 2 раза и 3 раза соответственно; движение по площадке установки носило хаотичный характер с крайними редкими заглядываниями в норки и стойками, крысы не исследовали всю площадь тестовой установки.

Двигательная активность существенно снижалась во всех экспериментальных группах относительно интактных животных. Из всех изучаемых соединений статистически значимо препятствовало снижению двигательной активности у животных на фоне ЧМТ соединение ЛХТ 12–18, при $p < 0,05$ в сравнении с показателями контрольной группы.

При оценке ориентировочно-исследовательской активности также наблюдалось снижение показателей во всех группах относительно интактных животных. В контрольной группе животных по-прежнему наблюдалось самое большое снижение показателя ориентировочно-исследовательской активности (табл. 5). Значения норкового рефлекса в группах с коррекцией ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 снижались не существенно, относительно кон-

трольной группы животных. Количество стоек в группе животных, получавших соединение ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг, увеличивалось в 1,5 раза статистически значимо ($p < 0,05$), относительно группы контроля. Количество актов дефекации и уринации снижалось статистически не значимо. Такой показатель, как груминг статистически значимо отличался от контроля во всех экспериментальных группах ($p < 0,05$).

При проведении теста «Rota-rod» в контрольной группе фиксировали снижение времени удержания животных на вращающемся стержне за 1 попытку (латентный период) и 3 попытки, в сравнение с интактной группой (табл. 6). Моделирование ЧМТ у животных группы контроля вызвало проявление значительных нарушений координации. Определялась регрессия суммарного времени удержания относительно интактной группы. Статистически значимо увеличивался показатель времени удержания за 1 попытку на стержне с применением всех производных этилтиадиазола ЛХТ 4–15, ЛХТ 10–18, ЛХТ 11–18, ЛХТ 12–18 в дозе 50 мг/кг ($p < 0,05$) в сравнение с контролем. Наиболее высокие показатели в данном тесте за 1 попытку удержания регистрировали в группах с коррекцией ЛХТ 4–15 – в 5,5 раз, с коррекцией ЛХТ 12–18 – в 7 раз выше, чем в контроле. Самые низкие показатели наблюдались в группе с ЧМТ с коррекцией ЛХТ 11–18 – всего в 4 раза.

Суммарное время удержания животных на стержне за 3 попытки статистически значимо отличалось в группах с применением производных ЛХТ 4–15 (в 1,4 раза дольше), ЛХТ 11–18 (в 1,25 раза дольше), ЛХТ 12–18 (в 1,5 раза дольше) в дозе 50 мг/кг в сравнение с контролем ($p < 0,05$).

Исходя из результатов теста «Rota-rod», наиболее перспективным соединением для фармакологической коррекции последствий черепно-мозговой травмы является соединение ЛХТ 12–18.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании по выявлению перспективного нейропротекторного соединения в ряду новых производных этилтиадиазола самые значимые и достоверные показатели оказались у соединения ЛХТ 12–18: самый низкий процент летальности среди групп с фармакологической коррекцией патологии (8%); на фоне введения крысам ЛХТ 12–18 в условиях экспериментальной ЧМТ приводило к выраженному уменьшению выраженности неврологического дефицита у крыс по отношению к контролю, статистически значимо ($p < 0,05$) регистрировали улучшение степени тяжести неврологического дефицита группы животных с применением ЛХТ 12–18 в сравнении с группой контроля; по результатам оценки неврологического дефицита по показателю неврологического дефицита по шкале mNSS было выявлено наличие выраженной нейропротекторной активности у ЛХТ 12–18. У грызунов данной группы регистрировали самые низкие баллы неврологического дефицита и более высокий уровень моторной деятельности конечностей. Ко-

личество стоек в группе животных, получавших соединение ЛХТ 12–18, увеличивалось в 1,5 раза статистически значимо ($p < 0,05$), относительно группы контроля. Исходя из результатов теста «Rota-rod», суммарное время удержания животных на стержне за 3 попытки статистически значимо отличалось в группах с применением производных ЛХТ 4–15 (в 1,4 раза дольше), ЛХТ 11–18 (в 1,25 раза дольше), ЛХТ 12–18 (в 1,5 раза дольше) в дозе 50 мг/кг в сравнение с контролем ($p < 0,05$).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа не имела финансирования от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Terry D.P., Brassil M., Iverson G.L., Panenka W.J., Silverberg N.D. Effect of depression on cognition after mild traumatic brain injury in adults // *Clin Neuropsychol.* – 2019. Vol. 33. No.1. P. 124–136. DOI: 10.1080/13854046.2018.1459853
- Courtney A., Courtney M. The Complexity of Biomechanics Causing Primary Blast-Induced Traumatic Brain Injury: A Review of Potential Mechanisms // *Front Neurol.* 2015. Vol. 6. P. 221. DOI: 10.3389/fneur.2015.00221
- Agoston D.V., Sköld M.K. Editorial: When Physics Meets Biology; Biomechanics and Biology of Traumatic Brain Injury // *Front Neurol.* 2016. Vol. 7. P. 91. DOI: 10.3389/fneur.2016.00091
- Beskhmel'nitsyna E.A., Pokrovskii M.V., Kulikov A.L., Peryepkina A.A., Varavin E.I. Study of Anti-inflammatory Activity of a New Non-opioid Analgesic on the Basis of a Selective Inhibitor of TRPA1 Ion Channels // *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2019. Vol. 18. No.2. P. 110–125. DOI: 10.2174/1871523018666190208123700
- Вассерман Л.И., Сергеев В.А. Отношение личности к болезни при церебральной травме и травматической эпилепсии // *Актуальные проблемы соматопсихиатрии и психосоматики.* Москва. 1990. – С. 47–49.
- Гомазков О.А. Нейрохимия ишемических и возрастных патологий мозга. doi M., 2003. URL: <http://www.ibmc.msk.ru/content/monography/GomazkovOA3.pdf>
- Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Скворцова В.И. – 2-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 420 с.
- Danbolt N.C. Glutamate uptake // *Prog Neurobiol.* 2001. Vol. 65. No.1. P. 1–105. DOI: 10.1016/s0301-0082(00)00067-8
- Каракулова Ю.В., Сеянина Н.В., Ерошина О.А. Качество жизни больных в остром периоде черепно-мозговой травмы под влиянием нейротрофической терапии // *Бюллетень сибирской медицины.* 2011. – Т. 10. – № 2. – С. 122–126.
- Castillo J., Dávalos A., Alvarez-Sabín J., Pumar J.M., Leira R., Silva Y., Montaner J., Kase CS. Molecular signatures of brain injury after intracerebral hemorrhage // *Neurology.* 2002. Vol. 58. No.4. P. 624–9. DOI: 10.1212/wnl.58.4.624
- Semenza G.L., Agani F., Feldser D., Iyer N., Kotch L., Laughner E., Yu A. Hypoxia, HIF-1, and the pathophysiology of common human diseases // *Adv Exp Med Biol.* 2000. Vol.475. P. 123–30. DOI: 10.1007/0-306-46825-5_12
- Сировский Э.Б., Амчелавский В.Г., Куликовский В.П., Э.Б. Сировский, Механизмы развития отека мозга при нейрохирургической патологии // *Вести АМН СССР.* – 1991. – № 7. – С. 7–13.
- McEvoy L.K., Fennema-Notestine C., Eyler L.T., Franz C.E., Hagler D.J. Jr., Lyons M.J., Panizzon M.S., Rinker D.A., Dale A.M., Kremen W.S. Hypertension-related alterations in white matter microstructure detectable in middle age // *Hypertension.* 2015. Vol. 66. No.2. P. 317–23. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05336
- Fiskum G. Mitochondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death // *J Neurotrauma.* 2000. Vol. 17. No.10. P. 843–55. DOI: 10.1089/neu.2000.17.843
- Richard K. E. Traumatic brain swelling and brain edema // *Advanc. Neurotraumat.* 1991. Vol. 3. No.1. P. 139–148.
- Orth M., Schapira A.H. Mitochondria and degenerative disorders // *Am J Med Genet.* 2001. Vol. 106. No.1. P. 27–36. DOI: 10.1002/ajmg.1425
- Sims N.R., Anderson M.F. Mitochondrial contributions to tissue damage in stroke // *Neurochem Int.* 2002. Vol. 40. No.6. P. 511–26. DOI: 10.1016/s0197-0186(01)00122-x
- Гусев Е. И., Скворцова В.И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта. I Первичная нейропротекция // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова (Инсульт).* – 2002. – Т. 5. – С. 3–16.
- Завалишин И. А., Захарова М. Н. Гибель нейрона – кардинальная проблема неврологии и психиатрии // *Вестник РАМН.* – 1999. – №1. – С. 28–33.
- Зозуля, Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга // *Зозуля.* 2000. – 344 с.
- Гусев Е.И., Крылов В.В. Ишемия головного мозга // *Неотложная нейрохирургия.* Москва. 2001. – 327 с.
- Лихтерман Л.Б., Потапов А.А., Кравчук А.Д. Современные подходы к диагностике и лечению черепно-мозговой травмы и ее последствий // *Вопросы нейрохирургии.* – 1996. – № 1. – С. 35–37.
- Wallach D., Kang T.B., Dillon C.P., Green D.R. Programmed necrosis in inflammation: Toward identification of the effector molecules. *Science.* 2016. Vol. 352. No.6281. aaf2154. DOI: 10.1126/science.aaf2154
- Weissman C. The metabolic response to stress: an overview and update. *Anaesthesiology.* 1990. No.73. P. 308–327.
- Pobeda A.S., Miller E.S., Soldatov V.O., Lazareva G.A., Reznikov K.M., Sernov L.N., Yakovleva E.G., Reznichenko L.V., Faitelson A.V. The research of abnormal toxicity and local irritant effect in the draize test of the drug furacilin, concentrate for the preparation of a solution for local and external use // *Journal of International Pharmaceutical Research.* 2019. Vol. 46. No.4. P. 262–266.
- Пересыпкина, М.В. Покровский, В.О. Губарева, Должиков А.А. Протективные эффекты карбамиллированного дарбэпоэтина на модели ишемической нейропатии зрительного нерва // *Экспериментальная клиническая фармакология.* – 2018. – Т. 81. – №7. – С. 8–13. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-7-8-13
- Пересыпкина А.А., Покровский М.В., Должиков А.А., Левкова Е.А., Победа А.С. Коррекция эксперимен-

- тальной ишемической нейропатии зрительного нерва агонистом имидазолиновых рецепторов типов I и II // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – №4. – С. 12–17. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-4-12-17
28. Peresyapkina A., Pazhinsky A., Danilenko L., Lugovskoy S., Pokrovskii M., Beskhmel'nitsyna E., Solov'ev N., Pobeda A., Korokin M., Levkova E., Gubareva V., Korokina L., Martynova O., Soldatov V., Pokrovskii V. Retinoprotective Effect of 2-Ethyl-3-hydroxy-6-methylpyridine Nicotinate // *Biology (Basel)*. 2020. Vol. 9. No.3. P. 45. DOI: 10.3390/biology9030045
 29. Schenone S., Bruno O., Ranise A., Bondavalli F., Filippelli W., Falcone G., Giordano L., Vitelli M.R. 3-Arylsulphonyl-5-aryl-amino-1,3,4-thiadiazol-2(3H)ones as anti-inflammatory and analgesic agents // *Bioorg Med Chem*. 2001. Vol.9. No.8. P.2149-53. DOI: 10.1016/s0968-0896(01)00121-3
 30. Abdel-Waha B., Abdel-Aziz H., Ahmed E. Synthesis and antimicrobial evaluation of some 1,3-thiazole, 1,3,4-thiadiazole, 1,2,4-triazole, and 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]-thiadiazine derivatives including a 5-(benzofuran-2-yl)-1-phenylpyrazole moiety // *MonatshChem*. 2009. Vol. 140. P. 601–605.
 31. Almajan G.L., Innocenti A., Puccetti L., Manole G., Barbuceanu S., Saramet I., Scozzafava A., Supuran C.T. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the cytosolic and tumor-associated carbonic anhydrase isozymes I, II, and IX with a series of 1,3,4-thiadiazole- and 1,2,4-triazole-thiols // *Bioorg Med Chem Lett*. 2005. Vol. 15. No.9. P. 2347–52. DOI: 10.1016/j.bmcl.2005.02.088
 32. Amir M., Kumar H., Javed S.A. Condensed bridgehead nitrogen heterocyclic system: synthesis and pharmacological activities of 1,2,4-triazolo-[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole derivatives of ibuprofen and biphenyl-4-yloxy acetic acid // *Eur J Med Chem*. 2008. Vol. 43. No.10. P. 2056–66. DOI: 10.1016/j.ejmech.2007.09.025
 33. Мартынова О.В., Анциферов О.В., Мартынов М.А. и др. Исследование нейродинамических нарушений у крыс при черепно-мозговой травме. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Vol. 5. No.3. P. 50-63. DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-6, URL: <http://rmedicine.ru/journal/annotation/1753/>
 34. Liu W., Chen Y., Meng J., Wu M., Bi F., Chang C., Li H., Zhang L. Ablation of caspase-1 protects against TBI-induced pyroptosis in vitro and in vivo // *J Neuroinflammation*. 2018. Vol. 15. No.1. P. 48. DOI: 10.1186/s12974-018-1083-y
 35. McGraw C.P., Pashayan A.G., Wendel O.T. Cerebral infarction in the Mongolian gerbil exacerbated by phenoxybenzamine treatment // *Stroke*. 1976. Vol. 7. No.5. P. 485–8. DOI: 10.1161/01.str.7.5.485
 36. Худякова Н.А., Баженова Т.В. Поведенческая активность линейных и нелинейных мышей разных цветовых вариаций в тесте «Открытое поле» // *Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле»*. – 2012. – Т. 2. – С. 89–93.
 37. Bohlen M., Cameron A., Metten P., Crabbe J.C., Wahlsten D. Calibration of rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination // *J Neurosci Methods*. 2009. Vol. 178. No.1. P. 10–4. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2008.11.001
 38. Миронова А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К. – 2012. – 944 с.
 39. Kim G.A., Gan'Shina T.S., Kurza E.V., Kurdyumov I.N., Maslennikov D.V., Mirzozian R.S. New cerebrovascular agent with hypotensive activity // *Research Results in Pharmacology*. – 2019. – Vol. 5, No.2. – P. 71–77.
 40. Avdeeva N.V., Sidorova S.A., Gudyrev O.S., Osipova O.A., Golubev I.V. Mechanism of neuroprotective effect of mGluR4 agonists // *Research Results in Pharmacology*. – 2019. – Vol. 5. No.2. P. 43–47.
 41. Nesterova N.I., Shcheblykina O.V., Kolesnichenko P.D., Nesterov A.V., Shcheblykin D.V., Yakovlev D. Neuroprotective effects of taurine and 3-hydroxypyridine derivatives in the intracerebral hemorrhage model in rats. // *Research Results in Pharmacology*. – 2019. – Vol. 5. No.3. P. 87–94.
 42. Березовская И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях // *Токсикологический вестник*. – 2010. – Т. 5. №104. – С. 17–22.

АВТОРЫ

Череватенко Роман Федорович – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID:0000-0001-9707-9699. E-mail: ectomia@list.ru

Анциферов Олег Владимирович – старший преподаватель кафедры факультетской терапии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0001-6439-2419. E-mail: antsiferov@bsu.edu.ru

Скачилова Софья Яковлевна – доктор химических наук, профессор, заведующая отделом химии и технологии синтетических лекарственных средств, Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ. ORCID: 0000-0003-4486-8883. E-mail: skachilova@mail.ru

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0002-1493-3376. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Гуреев Владимир Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0003-3851-4173. E-mail: produmen@yandex.ru

Банчук Илона Игоревна – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0003-3229-8166. E-mail: iolantaabashkina@mail.ru

Банчук Андрей Юрьевич – аспирант ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0003-1740-2324. E-mail: banchuk93@mail.ru

Голубинская Мариитта Игоревна – врач УЗИ-диагностики ОГБУЗ «Городская больница №2 г. Белгорода. ORCID:0000-0003-0534-3638. E-mail: mariitta.abashkina@mail.ru

Сыромятникова Анастасия Александровна – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0002-3800-0212. E-mail: Anastasiiaa_21@mail.ru

Рожков Илья Сергеевич – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0002-9092-229X. E-mail: medik768@yandex.ru

Мостовых Анна Алексеевна – студентка ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID: 0000-0001-9366-1155. E-mail: mostovyh@yandex.ru

УДК 614.2: 614.27: 614.272 + 615.1:615.12



АНАЛИЗ РЕАЛИЗАЦИИ ФЕДЕРАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НЕОБХОДИМЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В СУБЪЕКТАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

И.К. Петрухина¹, Р.И. Ягудина², Т.К. Рязанова¹, В.А. Куркин¹, С.В. Первушкин¹,
А.В. Егорова¹, Л.В. Логинова¹, А.И. Хусаинова¹, П.Р. Блинкова¹

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

² ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Минздрава России
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, строение 2

E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Получено 01.06.2020

Рецензия (1) 16.09.2020

Рецензия (2) 11.10.2020

Принята к печати 20.10.2020

Цель. Изучить основные индикативные показатели реализации федеральной программы ОНЛП в 20 субъектах РФ по итогам 2018 и 2019 гг.

Материалы и методы. В исследовании анализировались данные, предоставленные на основании специально разработанных карт-запросов органами управления здравоохранением 20 субъектов РФ семи федеральных округов.

Результаты. Установлено, что объем выделенных субъектам РФ финансовых средств напрямую зависит от количества льготополучателей, сохранивших право на получение государственной социальной помощи (ГСП) в виде набора социальных услуг (НСУ), а также коррелирует с показателем «Численность населения субъекта РФ». Во всех исследуемых субъектах РФ более 50% граждан из общего числа лиц, сохранивших право на льготное лекарственное обеспечение, в 2018–2019 гг. обращались за лекарственной помощью в рамках программы ОНЛП, при этом в целом по субъектам РФ средняя стоимость одного рецепта составила 1107,2 руб. в 2018 г. и 1297,2 руб. в 2019 г. Расчетный показатель «Средняя сумма фактических затрат на 1 одного обратившегося гражданина, имеющего право на ГСП в виде НСУ» составила 1723,0±90,2 руб. в 2018 г. и 1526,8±80,5 руб. в 2019 г., что выше утвержденных нормативов (823,3 руб. и 861,8 руб. в 2018 и 2019 гг.).

Заключение. Таким образом, отмечено превышение средних фактических затрат на одного гражданина, имеющего право на ГСП в виде НСУ, над установленными постановлениями Правительства РФ нормативами. Выявленное несоответствие может являться косвенным подтверждением того, что в программе ОНЛП в основном остались самые нуждающиеся льготополучатели, имеющие хронические заболевания.

Ключевые слова: программа обеспечения необходимыми лекарственными препаратами, федеральные льготополучатели, льготное лекарственное обеспечение

Сокращения: ГСП – государственная социальная помощь, ЛЛО – льготное лекарственное обеспечение, ЛП – лекарственный препарат, НСУ – набор социальных услуг, нд – нет данных, нп – не применимо, ОНЛП – обеспечение необходимыми лекарственными препаратами.

Для цитирования: И.К. Петрухина, Р.И. Ягудина, Т.К. Рязанова, В.А. Куркин, С.В. Первушкин, А.В. Егорова, Л.В. Логинова, А.И. Хусаинова, П.Р. Блинкова. Анализ реализации федеральной программы обеспечения необходимыми лекарственными препаратами в субъектах Российской Федерации. *Фармация и фармакология*. 2020;8(4):273-284. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-273-284

© И.К. Петрухина, Р.И. Ягудина, Т.К. Рязанова, В.А. Куркин, С.В. Первушкин,
А.В. Егорова, Л.В. Логинова, А.И. Хусаинова, П.Р. Блинкова, 2020

For citation: I.K. Petrukhina, R.I. Yagudina, T.K. Ryazanova T.K., V.A. Kurkin, S.V. Pervushkin, A.V. Egorova, L.V. Loginova, A.I. Khusainova, P.R. Blinkova. Analysis of the implementation of the federal assurance program of supporting beneficiaries with indispensable medicinal preparations in the subjects of the Russian Federation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(4):273-284. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-4-273-284

ANALYSIS OF THE IMPLEMENTATION OF THE FEDERAL ASSURANCE PROGRAM OF SUPPORTING BENEFICIARIES WITH INDISPENSABLE MEDICINAL PREPARATIONS IN THE SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION

I.K. Petrukhina¹, R.I. Yagudina², T.K. Ryazanova T.K.¹, V.A. Kurkin¹, S.V. Pervushkin¹, A.V. Egorova¹, L.V. Loginova¹, A.I. Khusainova¹, P.R. Blinkova¹

¹Samara State Medical University

89, Chapaevskaya St., Samara, Russia 443099

²First Moscow State Medical University n. a. I.M. Sechenov

8/2, Trubetskaya St., Moscow, Russia 119991

E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Received 01 June 2020

Review (1) 16 September 2020

Review (2) 11 October 2020

Accepted 20 October 2020

The aim of the research was to study the main indicative indicators of the implementation of the federal program "Provision of Essential Medicines" in 20 constituent entities of the Russian Federation based on the results of 2018 and 2019.

Materials and methods. The analyzed data were provided on the basis of the request cards specially designed by the health authorities of 20 subjects of the Russian Federation located in seven federal districts.

Results. It has been established that the funds allocated to the constituent entities of the Russian Federation, directly depend on the number of beneficiaries who retained the right to receive state social assistance in the form of a set of social services. These funds also correlate with the indicator "Population of the subject of the Russian Federation". In all the studied constituent entities of the Russian Federation, more than 50% of the total number of people who retained the right to preferential drug provision in 2018–2019, asked for medical help as part of the program "Provision of Essential Medicines". Herein, in the constituent entities of the Russian Federation, the average cost of one prescription amounted to 1,107.2 rubles in 2018 and 1,297.2 rubles in 2019. The estimated indicator "The average actual expenditures per 1 citizen entitled to state social assistance in the form of a set of social services, amounted to 1,723.0±90.2 rubles in 2018 and 1,526.8±80.5 rubles in 2019, which is higher than the approved input normative (823.3 rubles and 861.8 rubles in 2018 and 2019, respectively).

Conclusion. Thus, an excess of average actual expenditures per citizen entitled to state social assistance in the form of a set of social services, was notified over the standards established by the decrees of the Government of the Russian Federation. The revealed discrepancy between the normative and actual expenditures can also be an indirect confirmation of the fact that the most needy beneficiaries with chronic diseases remained in the program "Provision of Essential Medicines".

Keywords: assurance program of supporting beneficiaries with indispensable medicinal preparations, federal beneficiaries, medicine assistance

Abbreviations: GSA – government social assistance; MA – medicine assistance; MP – medicinal preparation; SSS – a set of social services; NIA – No information available; IA – inapplicable; SIMP – supporting with indispensable medicinal preparations.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных федеральных программ льготного лекарственного обеспечения (ЛЛО) является программа обеспечения необходимыми лекарственными препаратами (ОНЛП), предусматривающая обеспечение законодательно закрепленных льготных категорий граждан лекарственными препаратами (ЛП) в соответствии со стандартами медицинской помощи за счет субвенций федерального бюджета субъектам Российской Федерации (РФ) [1–4]. Основной целью программы является качественное и своевременное обеспечение ЛП федеральных льготополучателей. Программа ОНЛП реализуется по принципу социального страхования, которое предполагает потребление набора социальных услуг (НСУ), в том числе лекарственное обеспечение, не всеми

гражданами, отнесенными к льготным категориям, а теми, которые имеют действительную потребность в ЛП в связи с заболеванием [2]. В то же время с 2006 г. за федеральными льготополучателями законодательно закреплена возможность отказа от НСУ и получения ежемесячной денежной выплаты [2, 4, 5].

Функционирование системы ЛЛО имеет высокую социальную значимость, так как способствует поддержанию здоровья льготополучателей, повышает уровень и качество их жизни. Вместе с тем, в настоящее время право на получение натуральных льгот в рамках программы ОНЛП сохранили не более 20% жителей РФ (в основном это граждане с хроническими заболеваниями). Как следствие – в регионах РФ возникает дефицит финансовых ресурсов, которые могут быть направлены на закупку необходимых ле-

карственных препаратов для федеральных льготополучателей [1, 4, 5].

Важными показателями реализации программы ОНЛП в субъектах РФ является объем выделенного финансирования; доля пациентов, сохранивших право на получение государственной социальной помощи (ГСП) в виде НСУ; доля граждан, обратившихся за оказанием медицинской помощи в рамках программы ОНЛП; фактические затраты на одного обратившегося льготополучателя (с учетом фармацевтической услуги); количество выписанных рецептов; средняя стоимость 1 рецепта. Показатели реализации программы ОНЛП в различных субъектах РФ имеют некоторые отличия, которые обусловлены структурой заболеваемости льготополучателей, объемами финансирования, ассортиментом закупаемых ЛП и др. [3].

ЦЕЛЬЮ данной работы было изучение особенностей реализации программы ОНЛП в различных субъектах Российской Федерации в 2018–2019 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено мультицентровое исследование на территории 20 субъектов РФ. Выбор для анализа субъектов РФ связан с тем, что они имеют различные демографические, социально-экономические и инфраструктурные показатели. С учетом того, что административно-территориальное устройство РФ представлено 85 субъектами, в выборку нашего исследования вошло около 24% регионов страны. На основе анализа региональных особенностей нами охарактеризована ситуация в секторе ЛЛО федеральных льготополучателей различных федеральных округов РФ.

В исследовании анализировались данные, предоставленные на основании специально разработанных карт-запросов органами управления здравоохранением 20 субъектов РФ семи федеральных округов, в том числе:

- 5 субъектов РФ Центрального федерального округа: Белгородская, Воронежская, Смоленская, Тульская области; город федерального значения Москва;

- 4 субъектов РФ Приволжского федерального округа (ПФО): Кировская, Самарская области, Чувашская республика, Республика Татарстан;

- 4 субъектов РФ Дальневосточного федерального округа (ДФО): Республики Саха (Якутия), Сахалинская область, Хабаровский край, Забайкальский край;

- 2 субъектов РФ Южного федерального округа (ЮФО): Астраханская область, Краснодарский край;

- 2 субъектов РФ Уральского федерального округа (УрФО): Челябинская, Курганская области;

- 2 субъектов РФ Сибирского федерального округа (СФО): Омская область, Алтайский край;

- 1 субъекта РФ Северо-Западного федерального округа (СЗФО): республика Карелия.

Карты-запросы были разработаны на кафе-

дре управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России и по структуре соответствовали задачам исследования.

Программа исследования включала сравнительную оценку:

- общего объема финансирования в анализируемых субъектах РФ (включающего затраты на фармацевтическую услугу);

- количества льготополучателей, сохранивших право на ЛЛО в рамках программы ОНЛП;

- общей суммы затрат на ЛП, выданные льготополучателям;

- средней доли льготников в общей численности субъектов РФ;

- доли лиц, сохранивших право на получение ГСП в виде НСУ;

- показателя обращаемости льготополучателей за оказанием медицинской помощи (за назначением ЛП в рамках программы ОНЛП);

- количества выписанных рецептов в рамках федеральной программы ЛЛО;

- фактических затрат на одного обратившегося льготополучателя (с учетом стоимости фармацевтической услуги);

- средней стоимости одного рецепта в субъектах РФ.

При анализе использованы методы сравнительного, структурного, логического, контент-анализов. Статистическую обработку числового материала проводили методами описательной статистики с использованием статистического программного пакета IBM SPSS Advanced Statistics 24.0 № 5725-A54 (IBM, США). Статистические закономерности проявлялись в обобщенных данных. Методами обобщения являлись группировки и расчет сводных показателей по совокупности в целом и по выделенным группам. Для всех количественных признаков производилась оценка средних арифметических и среднеквадратических (стандартных) ошибок среднего, а также, медианы, определение 10% и 90% процентилей. Дескриптивные статистики в тексте представлены как $M \pm SD$, где M – среднее, а SD – стандартное отклонение при нормальном распределении признака, или Med при ненормальном распределении признака. Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и критерий Шапиро-Вилка. Для оценки взаимосвязи показателей использовали коэффициент корреляции Пирсона (r -Пирсона). Различия считали достоверными при степени вероятности более 95% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для изучения особенностей программы ОНЛП в РФ нами на примере 20 субъектов РФ проведен сравнительный анализ основных индикативных показателей программы.

Анализ показал, что объем выделенных субъектам РФ средств зависит от количества льготополучателей, сохранивших право на получение ГСП в виде НСУ (r -Пирсона в 2018 и 2019 гг. – 0,95 и 0,94 соответственно, $p < 0,05$), а также коррелировал с показателями «Численность населения субъекта РФ» (r -Пирсона в 2018 и 2019 гг. составлял 0,98, $p < 0,05$) (Таблицы 1, 2).

По данным таблицы 1 видно, что объем финансирования на реализацию программы ОНЛП в исследуемых субъектах РФ варьировал от 204,8 до 7651,6 млн. руб. в 2018 г. и от 241,8 до 7744,8 млн. руб. в 2019 г., при этом максимальные объемы финансирования (более 1 млрд. руб.) имели город федерального значения Москва, Краснодарский край, республика Татарстан. Совокупно в 2019 г. объемы финансирования на ЛЛО, в том числе фармацевтическую услугу, в исследуемых субъектах РФ составили 18,57 млрд. руб., что на 0,5% больше, чем показатель 2018 г. (18,48 млрд. руб.). Среднее изменение объемов финансирования в субъектах РФ в 2019 г. относительно 2018 г. составило (среднее \pm среднеквадратическая ошибка) $-3,13 \pm 1,10\%$.

На основании данных, представленных в таблице 2, можно сделать вывод, что объем затрат на ЛП по программе ОНЛП напрямую был связан с общим объемом финансирования программы (r -Пирсона 0,94 в 2018 г. и 0,95 в 2019 г., $p < 0,05$), показателями «Количество лиц, сохранивших право на ЛЛО в рамках программы ОНЛП» и «Численность населения субъекта РФ». В общей сложности федеральным льготополучателям в рамках программы ОНЛП было выдано лекарственных препаратов на сумму 17,35 млрд. руб. в 2018 г. и 17,57 млрд. руб. в 2019 г. Медиана затрат на ЛП в 2018 г. составила 487,0 млн. руб. (диапазон 159,8–6181,8 млн. руб.), в 2019 г. – 452,95 млн. руб. (151,5–4912,1 млн. руб.). Среднее изменение данного показателя в 2019 г. относительно 2018 г. составило $+7,33 \pm 3,01\%$. Максимальные значения также отмечены в г. Москва, Краснодарском крае и республике Татарстан.

Максимальное количество федеральных льготополучателей (более 100 000 человек) проживают в тех же субъектах РФ, которые имели наибольший объем финансирования программы. Минимальные количества федеральных льготополучателей (не более 20 тыс. человек) зарегистрированы в следующих субъектах РФ: Сахалинская, Астраханская области, Республика Карелия (данные регионы имели наименьшие объемы финансирования). В общей совокупности, количество федеральных льготополучателей в 2019 г. по сравнению с 2018 г. практически не изменилось ($-0,03\%$), среднее изменение в исследуемых субъектах РФ составило $-1,29 \pm 0,95\%$. Максимальное сокращение количества федеральных льготополучателей зафиксировано в Курганской области ($-14,41\%$), наибольшее увеличение

количества льготополучателей – в Воронежской области ($+6,65\%$).

При анализе доли федеральных льготополучателей в общей численности населения субъекта РФ определено, что медиана значения этого показателя составляла 2,6% (10-й и 90-й процентиля 2,2 и 3,1% соответственно) в 2018 г. и 2,5% (10-й и 90-й процентиля 2,2 и 3,0% соответственно) в 2019 г. (Таблица 3). Наибольшая доля федеральных льготополучателей в структуре численности населения субъекта РФ (более 3,0%) отмечена в Республике Саха/Якутия, г. Москва и Республике Карелия.

По данным таблицы 3 видно, что доля лиц, сохранивших право на получение ГСП в виде НСУ (лекарственной составляющей и/или полного набора социальных услуг), в различных субъектах РФ значительно отличается, при этом медиана составляла 27,3% (10-й и 90-й процентиля 18,6 и 62,8% соответственно) в 2018 г. и 25,2% (10-й и 90-й процентиля 17,4 и 59,8% соответственно) в 2019 г. Более 50% граждан, имеющих право на льготное лекарственное обеспечение в рамках программы ОНЛП, сохранили право на получение натуральных льгот в Республике Саха/Якутия, Смоленской и Сахалинской областях. Наименьшее значение этого показателя отмечено в Белгородской области (13,6% в 2019 г.). В целом, в анализируемом периоде доля льготополучателей в общей численности населения и доля лиц, сохранивших право на получение ГСП в виде НСУ, в исследуемых субъектах РФ не претерпевала существенных изменений.

Более 50% граждан из общего числа лиц, сохранивших право на ЛЛО, в 2018–2019 гг. обращались в медицинскую организацию, им были назначены ЛП в рамках программы ОНЛП (Таблица 3). По показателю «Обращаемость федеральных льготополучателей за получением ЛП по программе ОНЛП» можно выделить несколько типологических групп субъектов РФ:

1. регионы с высоким значением этого показателя (более 70%): Республика Татарстан, Челябинская, Курганская, Кировская области, г. Москва.
2. регионы со значением этого показателя в диапазоне от 60 до 70%: Чувашская Республика, Республика Карелия, Алтайский край, Тульская, Белгородская, Смоленская, Самарская, Омская области, Забайкальский край.
3. регионы со значением этого показателя в диапазоне от 50 до 60%: Республика Саха/Якутия, Сахалинская, Воронежская области, Хабаровский край.

Следует отметить, что показатель «Обращаемость федеральных льготополучателей за получением ЛП по программе ОНЛП» не зависит от доли лиц, сохранивших право на получение натуральных льгот по программе ОНЛП (r -Пирсона 0,05 в 2018 г. и $-0,04$ в 2019 г., $p > 0,05$).

Таблица 1 – Сравнительный анализ количественных характеристик реализации программы ОНЛП в субъектах РФ в 2018–2019 гг.

№ п/п	Субъект РФ	Выделено средств на год, млн. руб.			Выдано лекарственных препаратов на сумму, млн. руб. (без учета фармацевтической услуги)			Количество льготополучателей, сохранивших право на ЛЛО в рамках программы ОНЛП (на конец отчетного периода), тыс. чел.		
		2018	2019	Изменение по отношению к 2018 г.	2018	2019	Изменение по отношению к 2018 г.	2018	2019	Изменение по отношению к 2018 г.
1	г. Москва	7651,60	7744,78	1,22%	6181,8	4912,12	-20,54%	491,18	472,41	-3,82%
2	Краснодарский край	1840,00	1800,00	-2,17%	нд	нд	нп	нд	нд	нп
3	Республика Татарстан	1668,22	1671,25	0,18%	1298,54	1562,88	20,36%	115,93	117,54	1,39%
4	Челябинская область	981,60	992,30	1,09%	722,8	885,7	22,54%	76,28	76,65	0,48%
5	Алтайский край	784,60	786,10	0,19%	633,4	689,5	8,86%	59,12	58,80	-0,53%
6	Омская область	686,70	675,20	-1,67%	572	612,9	7,15%	51,39	51,39	0,00%
7	Воронежская область	564,76	583,21	3,27%	524,45	526,42	0,38%	44,60	47,57	6,65%
8	Республика Саха/Якутия	553,20	505,57	-8,61%	487,01	424,5	-12,84%	38,57	39,66	2,80%
9	Белгородская область	530,54	516,66	-2,62%	520,764	506,807	-2,68%	39,62	39,39	-0,59%
10	Тульская область	495,20	478,20	-3,43%	418,2	481,4	15,11%	36,90	36,40	-1,36%
11	Хабаровский край	434,70	375,30	-13,66%	298,98	309,35	3,47%	27,89	26,87	-3,66%
12	Забайкальский край	423,20	432,50	2,20%	319,2	348,2	9,09%	32,00	30,80	-3,75%
13	Кировская область	410,80	402,69	-1,97%	398,04	378,99	-4,79%	31,86	31,37	-1,53%
14	Курганская область	349,98	320,07	-8,55%	290,8	326,4	12,24%	25,39	21,74	-14,41%
15	Чувашская Республика	344,21	309,65	-10,04%	207,3	243,9	17,66%	24,54	23,52	-4,17%
16	Республика Карелия	287,68	267,30	-7,08%	178,06	224,91	26,31%	20,13	19,96	-0,85%
17	Смоленская область	269,60	265,30	-1,59%	197,7	243,5	23,17%	20,82	20,70	-0,58%
18	Сахалинская область	204,80	198,2	-3,22%	159,8	151,5	-5,19%	14,30	14,60	2,10%
19	Астраханская область	нд	241,76	нп	нд	203,52	нп	нд	19,00	нп
20	Самарская область	нд	нд	нп	923,2	910,31	-1,40%	70,44	69,48	-1,35%
21	Итого	18481,39	18566,04	+0,46%	17346,34	17574,10	+1,31%	1762,07	1761,54	-0,03%
22	Среднее изменение			-3,13 ± 1,10%			+7,33 ± 3,01%*			-1,29 ± 0,95%

Примечание: нд – нет данных; нп – не применимо; * – с учетом фактического объема отпуска по Краснодарскому краю

Таблица 2 – Взаимосвязь между показателями реализации программы ОНЛП в 2018–2019 гг.

Показатель		Выделено средств на год	Стоимость выданных ЛП	Количество льготополучателей*	Численность населения	Доля сохранивших право на ЛЛО	Обращаемость по итогам года**	Фактически затраты в месяц***	Количество рецептов	Средняя стоимость 1 рецепта***
Выделено средств на год	2018	1,00	0,98	0,95	0,98	0,86	0,44	0,90	0,85	0,75
	2019	1,00	0,96	0,94	0,98	0,86	0,61	0,90	0,86	0,56
Стоимость выданных ЛП	2018	0,98	1,00	0,99	0,95	0,93	0,53	0,97	0,80	0,74
	2019	0,96	1,00	1,00	0,95	0,93	0,64	0,98	0,81	0,59
Количество льготников*	2018	0,95	0,99	1,00	0,93	0,95	0,58	0,99	0,77	0,71
	2019	0,94	1,00	1,00	0,93	0,95	0,63	0,99	0,77	0,59
Численность населения	2018	0,98	0,95	0,93	1,00	0,79	0,42	0,88	0,84	0,73
	2019	0,98	0,95	0,93	1,00	0,79	0,51	0,89	0,82	0,60
Доля сохранивших право на ЛЛО	2018	0,86	0,93	0,95	0,79	1,00	0,60	0,96	0,67	0,66
	2019	0,86	0,93	0,95	0,79	1,00	0,74	0,95	0,69	0,52
Обращаемость по итогам года**	2018	0,44	0,53	0,58	0,42	0,60	1,00	0,61	0,51	0,14
	2019	0,61	0,64	0,63	0,51	0,74	1,00	0,61	0,53	0,44
Фактические затраты в месяц***	2018	0,90	0,97	0,99	0,88	0,96	0,61	1,00	0,71	0,69
	2019	0,90	0,98	0,99	0,89	0,95	0,61	1,00	0,73	0,58
Количество рецептов	2018	0,85	0,80	0,77	0,84	0,67	0,51	0,71	1,00	0,35
	2019	0,86	0,81	0,77	0,82	0,69	0,53	0,73	1,00	0,15
Средняя стоимость 1 рецепта***	2018	0,75	0,74	0,71	0,73	0,66	0,14	0,69	0,35	1,00
	2019	0,56	0,59	0,59	0,60	0,52	0,44	0,58	0,15	1,00

Примечание: * – количество льготополучателей, сохранивших право на ГСП в виде НСУ; ** – обращаемость по итогам года (доля граждан, которым назначены ЛП, из общего числа лиц, сохранивших право на ЛЛО); *** – с учетом фармацевтической услуги

Таблица 3 – Отдельные показатели реализации программы ОНЛП в субъектах РФ в 2018–2019 гг.

№ п/п	Субъект РФ	Доля льготополучателей в общей численности населения, %		Доля сохранивших право на ЛЛО, %		Обращаемость по итогам года (доля граждан, которым назначены ЛП, из общего числа лиц, сохранивших право на ЛЛО), %	
		2018	2019	2018	2019	2018	2019
1	Республика Саха/Якутия	4,0%	4,1%	63,1	63,1	57,0	98,8
2	г. Москва	3,9%	3,7%	нд	нд	70,5	72,3
3	Республика Карелия	3,2%	3,2%	32,5	32,8	68,0	66,3
4	Курганская область	3,0%	2,6%	25,3	25,2	74,0	81,4
5	Забайкальский край	3,0%	2,9%	34,8	32,8	60,0	60,0
6	Республика Татарстан	3,0%	3,0%	34,4	35,2	80,6	80,2
7	Сахалинская область	2,9%	3,0%	62,4	56,4	54,2	54,4
8	Омская область	2,6%	2,7%	28,8	28,6	60,1	56,7
9	Белгородская область	2,6%	2,5%	нд	13,6	63,8	61,6
10	Алтайский край	2,5%	2,5%	23,9	24,3	68,0	68,0
11	Кировская область	2,5%	2,5%	19,3	19,1	72,8	70,2
12	Тульская область	2,5%	2,5%	18,5	18,5	64,2	65,2
13	Самарская область	2,2%	2,2%	27,3	27,4	60,4	59,7
14	Смоленская область	2,2%	2,2%	75,5	76,4	61,0	63,0
15	Челябинская область	2,2%	2,2%	22,0	22,0	100	100
16	Хабаровский край	2,1%	2,0%	32,1	31,1	50,6	51,6
17	Чувашская Республика	2,0%	1,9%	18,7	18,0	74,0	61,7
18	Воронежская область	1,9%	2,0%	15,8	16,5	53,1	54,2
19	Астраханская область	нд	1,9%	нд	23,6	нд	57,7
20	Краснодарский край	нд	нд	21,4	21,7	нд	нд
21	Медиана (10-й и 90-й процентиля)*	2,5 (2,1–3,5)	2,5 (2,0–3,4)	27,3 (18,6–62,8)	25,2 (17,4–59,8)	66,1 (60,1–74,0)	64,1 (58,7–76,3)

Примечание: * – для субъектов РФ с доступной информацией; нд – нет данных; нп – не применимо

Таблица 4 – Показатели фактических затрат, количества рецептов и средней стоимости 1 рецепта в рамках программы ОНЛП в субъектах РФ в 2018–2019 гг.

№ п/п	Субъект РФ	Фактически затрачено на 1 обратившегося льготника в месяц, руб. (с учетом фармацевтической услуги)			Количество рецептов, тыс. шт.			Средняя стоимость 1 рецепта, руб. (с учетом фармацевтической услуги)		
		2018	2019	Изменение по отношению к 2018 г., %	2018	2019	Изменение по отношению к 2018 г., %	2018	2019	Изменение по отношению к 2018 г., %
1	г. Москва	2960,8	2769,4	-6,5%	4898,9	3176	-35,2%	1261,9	1546,6	22,6%
2	Республика Татарстан	1105,8	1327,5	20,1%	2029,9	2200,8	8,4%	729,4	794,4	8,9%
3	Краснодарский край	нд	нд	нп	980,8	1178,2	20,1%	нд	нд	нп
4	Самарская область	нд	нд	нп	796	704,5	-11,5%	нд	нд	нп
5	Алтайский край	1313,8	1443,0	9,8%	740,7	789	6,5%	855,2	873	2,1%
6	Омская область	1723,0	1943,0	12,8%	616,5	657,6	6,7%	1036,5	1034,1	-0,2%
7	Курганская область	1293,1	1293,1	0,0%	551,7	559,6	1,4%	527,1	597,8	13,4%
8	Кировская область	1523,7	1526,8	0,2%	499,3	426,1	-14,7%	797	889	11,5%
9	Челябинская область	946,0	1118,6	18,2%	492,2	409,7	-16,8%	1759,4	2511,3	42,7%
10	Тульская область	1469,3	1689,6	15,0%	419	563,3	34,4%	998,5	854,7	-14,4%
11	Белгородская область	1717,4	1741,1	1,4%	417,8	350,7	-16,1%	1246,6	1445,3	15,9%
12	Забайкальский край	1095,0	1162,0	6,1%	362,7	358,1	-1,3%	1063	1178	10,8%
13	Чувашская Республика	1846,5	1400,7	-24,1%	329,6	320	-2,9%	628,9	762,2	21,2%
14	Воронежская область	1909,4	1894,2	-0,8%	315,8	311,1	-1,5%	1790,5	1827,3	2,1%
15	Республика Карелия	1751,6	1406,6	-19,7%	314	357,1	13,7%	567,1	629,9	11,1%
16	Сахалинская область	2202,0	1590,0	-27,8%	293	235,1	-19,8%	545	644	18,2%
17	Республика Саха/Якутия	1839,8	903,2	-50,9%	232	188	-19,0%	2099,2	2258	7,6%
18	Смоленская область	2285,9	2380,4	4,1%	212,5	236,3	11,2%	930,2	1030,4	10,8%
19	Хабаровский край	1764,5	1859,8	5,4%	162,9	163,2	0,2%	1987,8	1895	-4,7%
20	Астраханская область	нд	1534,3	нп	нд	78,9	нп	нд	2579,47	нп
21	Среднее изменение			-1,2 ± 4,4%			-1,9 ± 3,8%			+10,0 ± 2,9%

Примечание: н/д – нет данных; нп – не применимо

Норматив финансовых затрат на каждого федерального льготополучателя в 2018 г. составлял 823 руб. 30 коп. в месяц, в 2019 г. – 861 руб. 80 коп. [6]. Установлено, что сумма фактических затрат (с учетом расходов на организационные мероприятия – фармацевтическую услугу) в месяц на одного обратившегося льготополучателя зависит от объема финансирования программы в субъектах РФ (r-Пирсона 0,90 в 2018–2019 гг.); от количества льготников, сохранивших право на ЛЛО в рамках программы ОНЛП (r-Пирсона 0,99 в 2018–2019 гг.); от количества рецептов (r-Пирсона 0,73 в 2018 г., 0,71 в 2019 г.) и от средней стоимости одного рецепта (r-Пирсона 0,58 в 2018 г., 0,69 в 2019 г.) (все $p < 0,05$).

Медианы фактических затрат в исследуемых субъектах РФ (10-й и 90-й процентиля) составили 1723,0 руб. (10-й и 90-й процентиля 1101,5 и 2235,6 руб. соответственно) в 2018 г. и 1526,8 (1144,6 и 2118,0 руб. соответственно) в 2019 г. В целом, в 2019 г. фактические затраты на одного обратившегося льготополучателя (по отношению к 2018 г.) изменились незначительно ($-1,2 \pm 4,4\%$). Наибольшее относительное увеличение фактических затрат ($\geq 15\%$) отмечено в Республике Татарстан, Челябинской и Тульской областях, наибольшие сокращения затрат ($\geq 15\%$) – Республике Саха/Якутия, Сахалинской области, Чувашской Республике, Республике Карелия.

В 2018–2019 гг. в проанализированных субъектах РФ по программе ОНЛП ежегодно выписывалось более 18 млн. рецептов (Таблица 4).

Согласно данным, представленным в таблице 4, на одного обратившегося федерального льготополучателя (с учетом доли лиц, сохранивших право на ЛЛО в рамках программы ОНЛП, и обращаемости) в год выписывается в среднем 18 рецептов (диапазон 6–37 рецептов и 5–31 рецептов на одного обратившегося льготополучателя в 2018 и 2019 гг. соответственно). Наибольшее снижение количества рецептов в 2019 г. по отношению к 2018 г. отмечено в г. Москва ($-35,2\%$), Сахалинской области ($-19,8\%$) и Республике Саха/Якутия ($-19,0\%$). Наибольшее относительное увеличение количества рецептов зафиксировано в Тульской области ($+34,4\%$) и Краснодарском крае ($+20,1\%$).

На основании данных таблицы 4 определено, что средняя стоимость одного рецепта (\pm среднеквадратическая ошибка) в рамках программы ОНЛП в 20 субъектах РФ составила 1107,2 ($\pm 150,4$) руб. в 2018 г. и 1297,2 ($\pm 144,2$) руб. Диапазон средней стоимости 1 рецепта в 2018 г. составлял от 527,1 руб. до 2099,2 руб.; в 2019 г. – от 597,8 руб. до 2258,0 руб. В целом отмечено достоверное увеличение стоимости 1 рецепта в большинстве субъектов РФ в среднем на $10,0 \pm 2,9\%$, при этом максимальное увеличение наблюдалось в Челябинской области (на $42,7\%$), г. Москва (на $22,6\%$) и Чувашской Республике (на $21,2\%$).

Показатели «Количество рецептов» и «Средняя стоимость 1 рецепта» коррелировали с общим объемом финансирования программы и количеством льготополучателей, сохранивших право на ЛЛО в рамках программы ОНЛП ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В Российской Федерации, как и во многих других развитых странах мира, наблюдается тенденция к централизованному контролируемому назначению лекарственных средств с активным использованием цифровых технологий. Принятые здесь программы льготного лекарственного обеспечения направлены на улучшение качества здравоохранения и обеспечение контроля над затратами на лекарственные препараты [3, 7–9]. Вместе с тем, в зарубежных странах механизмы реализации программ ЛЛО имеет свои специфические особенности и отличия.

Например, в США отсутствует система общественного здравоохранения [10, 11]. В связи с этим люди, не имеющие медицинскую страховку, не могут получить плановую медицинскую помощь, либо не имеют возможности выкупить назначенные лекарственные препараты [12, 13]. В то же время в США существуют полностью финансируемые и управляемые государством программы оказания медицинской помощи. Плательщиками в системах льготного лекарственного обеспечения выступают сами пациенты, организации по обеспечению медицинского обслуживания, крупные медицинские группы и интегрированные системы поставки. Одними из старейших программ государственных социальных гарантий являются созданные в 1965 г. программы для финансирования медицинской помощи бедным (Medicaid) и американцам пожилого возраста (Medicare, старше 65 лет). В Medicare включены также инвалиды и больные отдельными хроническими заболеваниями, например, получающие диализ при хронической болезни почек, а также ставшие инвалидами вследствие других заболеваний, например, онкологических. Medicare и Medicaid представляют собою форму социального страхования. Они финансируются из совокупности налогов, собираемых федеральным правительством, но администрируются штатами. Поэтому в разных штатах могут отличаться критерии включения и объем финансируемой помощи в этих программах. Программа Medicare является наиболее близкой к типу общественной системы, которая включает в себя несколько компонента (лечение в стационаре, амбулаторная медицинская помощь, страхование через частные страховые программы), но все компоненты Medicare предусматривают соплатежи, и эти соплатежи превышают платежи в планах медицинского страхования в других странах [10, 13].

В Канаде регулирование обеспечения рецептурными лекарственными средствами осуществляется на уровне правительств каждой провинции и терри-

торий в соответствии с перечнем рецептурных лекарственных средств, включающим препараты для оказания медицинской помощи на амбулаторном уровне отдельным категориям граждан (например, пожилые и другие льготные категории), а также на федеральном уровне (правительство обеспечивает возмещение стоимости лекарственных препаратов льготным категориям граждан, принадлежащих к коренным народам и инуитам). Несмотря на создание Национальной стратегии в области лекарственных средств (National Pharmaceuticals Strategy) и Плана действий по укреплению системы здравоохранения на 10 лет (10-Year Plan to Strengthen Health Care), принятого на совещании министров в 2004 г., предпринятые усилия были недостаточными для развития общеканадской программы охвата населения лекарственными средствами на случай катастрофических медицинских расходов [14, 15].

В Великобритании сложившаяся система государственного здравоохранения и социального обеспечения была формально введена в действие в 1948 г. [13, 16]. Основным принципом системы была бесплатность медицинской помощи для всех проживающих на территории страны людей. Система финансируется из государственного бюджета. Граждане оплачивают из своих средств безрецептурные препараты. В отношении рецептурных препаратов, медицинских изделий и услуг в Англии введена сооплата в фиксированном размере, в Уэльсе, Шотландии и Северной Ирландии сооплаты нет. Более 90% лекарственных средств предоставляется бесплатно: гражданам старше 60 лет, детям до 16 лет (или до 19 лет, если они учатся на дневном обучении), пациентам с определенными категориями заболеваний (сахарный диабет II типа, гипопаратиреозидизм, тяжелый гипотиреозидизм, онкологические заболевания, эпилепсия, миастения гравис и др.), людям с низкими доходами, беременным и родившим в предшествующие 12 месяцев, инвалидам. Не требуют сооплаты лекарственные средства, применяемые в больницах, дневных стационарах, а также лекарственные средства, назначаемые для лечения туберкулеза и заболеваний, передаваемых половым путем. В отношении дорогостоящих лекарственных средств и технологий Национальный институт здоровья и достижения наилучших клинических результатов (National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE) проводит фармакоэкономический анализ «затраты-полезность». Чем больше вмешательство позволяет сохранить лет жизни с поправкой на их качество (Quality adjusted life years, QALY), тем больше вероятность, что NICE даст положительную рекомендацию относительно льготного представления данной технологии в рамках национальной системы здравоохранения. Эта схема не позволяет решить проблему высоких затрат на дорогостоящие технологии [17].

Одной из старейших систем предоставления

государственных социальных гарантий является система здравоохранения Германии [13]. Система базируется на существовании больничных касс, которые формировались по производственному или региональному принципу. Больничные кассы являются некоммерческими организациями, которые осуществляют страхование рисков, связанных с заболеванием, и ведут переговоры с врачами (или их объединениями) и производителями/поставщиками лекарственных препаратов относительно стоимости их услуг/товаров. В Германии в программах социального страхования не участвуют граждане, доходы которых превышают определенных порог. Более 70% расходов на здравоохранение в Германии расходуется из средств социального страхования. Для сокращения роста расходов на здравоохранение был предпринят ряд мероприятий по снижению стоимости оказания помощи и спроса на нее. Был создан негативный список, стоимость которых не возмещалась, и введены максимальные покрываемые цены. Также в Германии с 2006 г. действуют соплатежи в размере 10% от стоимости препарата, если расходы составляют не менее 5 евро, но не более 10 евро. При превышении расходов на лекарственные средства свыше 1% от общего дохода домохозяйства для пациентов с хроническими формами заболевания и 2% общего дохода домохозяйства для пациентов без хронических форм заболеваний, пациенты освобождаются от сооплат [12].

Система здравоохранения в скандинавских странах характеризуется налоговым (не страховым) покрытием медицинских расходов и децентрализацией [16, 18]. В Финляндии финансирование здравоохранения осуществляется за счет средств муниципалитетов от общих налоговых поступлений и средств системы социального страхования, осуществляющийся через организацию, ответственную за социальное страхование. Возмещение стоимости лекарственных препаратов в Финляндии осуществляется по нескольким схемам. Если лекарственный препарат был отнесен к базовой категории (лекарственные средства, по которым принято решение, что они будут оплачиваться из общественных фондов), то соплатежи пациента будут составлять 58% с фиксированной составляющей. Две другие категории лекарственных средств являются особыми, для отнесения к этим категориям необходимо, чтобы они использовались для лечения определенных заболеваний и имели доказанную эффективность. Соплатежи пациентов при приобретении лекарственных средств, отнесенных к первой особой категории (используются для лечения бронхиальной астмы, артериальной гипертензии), составляют 28%. Лекарственные средства, отнесенные ко второй особой категории (используются для лечения тяжелых и/или жизнеугрожающих состояний, например, злокачественных новообразований и сахарного диабета), полностью оплачиваются ор-

ганизацией социального страхования, но пациент должен заплатить фиксированный платеж (3 евро за одну покупку). Сложностью системы является возможность наличия препарата более, чем в одном списке [18].

В Китайской народной республике в настоящее время планируется реализация программы по финансированию расходов на лекарственные препараты для лечения артериальной гипертензии, сахарного диабета и некоторых других заболеваний за счет средств медицинского страхования, доля возмещаемых расходов может достигать 50% [19].

В европейских странах принята система многоэтапной оценки затратоэффективности лекарственных препаратов, что позволяет странам ЕС включать в системы лекарственного возмещения лекарственные средства с доказанной эффективностью для каждой терапевтической области и заболевания, в отличие от США, где может быть возмещена стоимость любых приобретаемых лекарственных средств, что, наряду с отсутствием референтной цены, может быть тяжелым бременем для налогоплательщиков [12, 13, 20, 21]. Согласно данным за 2015 г. 64% расходов на лекарственные препараты в США оплачивали напрямую потребители или за счет частного страхования. Уровень покрытия расходов в странах ЕС значительно больше, например, в Германии не менее 80% расходов оплачивает государство [12, 22].

В странах СНГ достаточно низкий уровень экономической доступности лекарственных препаратов для населения, в частности льготных категорий, что обусловлено, предельно низким уровнем финансирования систем здравоохранения, невысоким платежеспособным уровнем населения и превалированием расходов населения в структуре общего финансирования лекарственных средств, а также нерациональным расходованием средств в существующих системах льготного лекарственного обеспечения [13, 23].

Опыт Российской Федерации при реализации федеральных программ ЛЛО отличается от опыта зарубежных стран. Главная особенность заключается в том, что в нашей стране федеральные льготополучатели не являются соплательщиками собственного лекарственного обеспечения, поскольку затраты на приобретение лекарственных препаратов в рамках программы ОНЛП полностью возмещаются за счет средств федерального бюджета. Еще одна характерная особенность заключается в том, что в РФ объем финансирования программы ОНЛП зависит от количества федеральных льготополучателей, при этом бюджет программы формируется на основе принципа равного подушевого финансирования [1–3, 23].

Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о значительном варьировании значений индикативных показателей реализации программы ОНЛП, а также их динамики в различных

субъектах РФ. Тем не менее, имеется ряд общих закономерностей.

Объемы финансирования программы рассчитываются по единым критериям, исходя из норматива ежемесячных финансовых затрат на каждого федерального льготополучателя. В связи с этим является логичной полученная нами линейная корреляция между объемом финансирования программы и количеством льготополучателей в субъекте РФ. Корреляция с численностью населения в субъекте РФ также может быть объяснена относительно сопоставимой (в большинстве субъектов РФ) долей граждан, имеющих право на льготное лекарственное обеспечение (от 1,9 до 4,1%).

Показатели «Фактические затраты на одного льготополучателя в месяц» и «Средняя стоимость одного рецепта» в субъектах РФ варьируют, что может быть обусловлено различиями в контингенте льготополучателей, в структуре их заболеваемости, а также в структуре ассортимента назначаемых ЛП. В то же время следует отметить, что сумма фактических затрат в месяц на 1 обратившегося льготополучателя в исследуемых субъектах РФ (являющихся в некоторой степени репрезентативной выборкой для оценки осуществления программы ОНЛП в РФ в целом) превышали установленные Постановлением Правительства РФ нормативы финансовых затрат в месяц на одного гражданина, получающего ГСП в виде НСУ. После пересчета средняя сумма фактических затрат на 1 одного гражданина, имеющего право на ГСП в виде НСУ, составила 1119,7±90,2 руб. в 2018 г. и 1081,5±80,5 руб. в 2019 г. по сравнению с нормативами 823 руб. 30 коп. и 861 руб. 80 коп. соответственно.

Результаты анализа подтверждают идентифицированные ранее проблемы в сфере ЛЛО, обусловленные массовым отказом федеральных льготников от получения ГСП в виде НСУ. Поскольку большинство федеральных льготополучателей (около 80%) предпочитают получать денежную компенсацию, по факту нарушается принцип социального страхования. Как следствие – в программе ОНЛП преимущественно остаются пациенты с тяжелыми заболеваниями, которым в том числе необходимы и дорогостоящие препараты [1, 14, 24]. Несмотря на то что в нашем исследовании не получены статистически достоверные взаимосвязи между средней стоимостью 1 рецепта, фактическими затратами и долей граждан, сохранивших право на ГСП в виде НСУ, это может означать наличие более сложной связи между данными показателями (с учетом социально-экономических и демографических особенностей субъектов РФ). Выявленное несоответствие между нормативом и фактическими затратами также может быть косвенным подтверждением недостаточности в федеральной программе средств на полное покрытие потребности в ЛП и необходимости реорганизации существующей системы для устранения дисбаланса в финансировании данных мер социальной помощи [24, 25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, опыт Российской Федерации при реализации федеральных программ ЛЛО отличается от опыта зарубежных стран. Главная особенность заключается в том, что в нашей стране федеральные льготополучатели не являются соплательщиками собственного лекарственного обеспечения, поскольку затраты на приобретение лекарственных препаратов в рамках программы ОНЛП полностью возмещаются за счет средств федерального бюджета. Еще одна характерная особенность заключается в том, что в РФ объем финансирования программы ОНЛП зависит от количества федеральных льготополучателей, при этом бюджет программы формируется на основе принципа равного подушевого финансирования.

На примере 20 субъектов РФ из 7 федеральных округов выявлены отличия в индикативных показателях реализации программы ОНЛП в 2018–2019 гг. Отмечено превышение средних фактических затрат на одного гражданина, имеющего право на ГСП в виде НСУ, над установленными постановлениями Правительства РФ нормативами. На основе проведенного анализа можно сделать вывод о том, что федеральная программа ЛЛО федеральных льготополучателей нуждается в дальнейшем совершенствовании. На наш взгляд, при реализации данной программы целесообразно использовать утраченный страховой принцип (когда в рамках общего бюджета программы лекарственными препаратами обеспечиваются пациенты, нуждающиеся в лекарственной помощи).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят органы управления здравоохранением и фармацевтической службой 20 анализируемых субъектов РФ за предоставленные статистические данные.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Все авторы в равной степени внесли вклад в исследовательскую работу.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Александрова О.Ю., Нагибин О.А., Бурцева М.Н. Реализация программы обеспечения необходимыми лекарственными препаратами (ОНЛП) – проблемы регионов // Ремедиум. 2015. №12. С. 62–65.
- Тельнова Е.А. Программе ДЛО-ОНЛС 10 лет // Вестник Росздравнадзора. 2016. № 5. С. 143–147.
- Петрухина И.К. Анализ индикативных показателей реализации программы обеспечения необходимыми лекарственными препаратами населения Приволжского федерального округа // Аспирантский вестник Поволжья. 2018. № 1–2. С. 25–32. DOI: 10.17816/2075-2354.2018.18.25-32
- Ковалева К.А., Наркевич И.А., Немятых О.Д., Васягина Ю.А. Анализ федеральных программ льготного лекарственного обеспечения населения // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники. 2019. № 3. С. 54–58. DOI: 10.21518/1561-5936-2019-3-54-58
- Тельнова Е.А., Проклова Т.Н. Программа продолжает работать, а проблемы остаются // Бюллетень национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н.А. Семашко. 2019. № 2. С. 99–112. DOI: 10.25742/NRIPH.2019.02.013].
- Грошева М. В России появится федеральный регистр пациентов-льготников // Фармацевтический вестник. 2020. URL: <https://pharmvestnik.ru/content/news/V-Rossii-poyavitsya-federalnyi-registr-pacientov-lgotnikov.html> (дата обращения: 28.05.2020 г.).
- Цомартова Ф. В. Государственные гарантии доступности лекарственных средств в России и за рубежом // Журнал зарубежного законодательства и сравнительного правоведения. 2018. №4 (71). С. 161–170. DOI: 10.12737/art.2018.4.21
- Austvoll-Dahlgren A., Aaserud M., Vist G., Ramsay C., Oxman A.D., Sturm H., et al. Pharmaceutical policies: effects of cap and co-payment on rational drug use // Cochrane. Database.Syst.Rev. 2008. No 1. P. CD007017.
- Hermanowski T.R., Drozdowska A.K., Kowalczyk M. Institutional framework for integrated Pharmaceutical Benefits Management: results from a systematic review // Int J Integr Care. 2015. No. 15. p. e036.
- Drugs and Money Prices, affordability and cost containment / Edited by M.N.G. Dukes, Norway F.M. Haaijer-Ruskamp, C.P. de Joncheere, A.H. Rietveld // International Journal of Risk & Safety in Medicine. 2002. № 15. P. 1–3.
- U.S. Pharmacy Benefit Management Market Size, Share & Trends Analysis Report By Business Model (Stand-alone, Health Insurance Providers, Retail Pharmacy), By End Use (Commercial, Federal), And Segment Forecasts, 2019–2026. Published Date: Mar, 2019. Report ID: GVR-2-68038-826-8. 100 p. URL: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/us-pharmacy-benefit-management-pbm-market> (accessed: 13.05.2020)
- Айтжан Т.В. Сравнение систем лекарственного обеспечения в Европе и США // Региональная экономика: теория и практика. 2018. №4 (451). С. 624–639.
- Власов В.В., Плавинский С.Л. Варианты лекарственного обеспечения для России: уроки стран Европы и всего мира // Общество специалистов доказательной медицины. М., 2012. URL: <http://osdm.org/wp-content/uploads/2012/09/Report120919clear.pdf> (дата обращения: 13.05.2020 г.).
- Лукьянцева Д.В., Мельникова Л.С., Татаринев А.П. Международный опыт лекарственного обеспечения населения в амбулаторном секторе // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2017. №4. С. 44–52. DOI: 10.17749/2070-4909.2017.10.4.044-052
- Health systems: the time of change. Review summary //

- European Observatory on Health Systems and Policies. Canada, 2012. URL: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0010/184672/Summary-HiT-Canada-2013-Rus.pdf?ua=1 (Accessed: 13.05.2020).
16. Boyle S. United Kingdom (England): Health System Review // Health Systems in Transition. 2011. Vol. 3, No. 1. 514 p.
 17. Appleby J, Devlin N, Parkin D. NICE's cost effectiveness threshold // BMJ. 2007. – Vol. 335, No 7616. – P. 358–359.
 18. Mossialos E, Srivastava D. Pharmaceutical policies in Finland. Challenges and opportunities – World health organization. – 2009. 141 p.
 19. Доля возмещения расходов на лекарственные средства в Китае достигнет 50% // Новости GMP. 15.03.2019. URL: <https://gmpnews.ru/2019/03/dolya-vozmeshhaemykh-raschodov-na-lekarstva-v-kitae-dostignet-50/> (дата обращения: 13.04.2020 г.).
 20. Доклад о состоянии здравоохранения в мире: Финансирование систем здравоохранения: Путь к всеобщему охвату населения медико-санитарной помощью; Всемирная организация здравоохранения, 2010 г. URL: http://www.who.int/whr/2010/whr10_ru.pdf?ua=1. Дата обращения: 25.10.2017.
 21. Trivedi AN, Moloo H, Mor V. Increased ambulatory care copayments and hospitalizations among the elderly // The New England journal of medicine. 2010. Vol. 362, No 4. P. 320–328.
 22. Calabrese D. Comparing pharmacy benefit managers: moving well beyond the simple spreadsheet analysis // American Health & Drug Benefits. 2008. Vol. 1, No 5. P. 9–19.
 23. Шаповалов В.В. (Мл.), Шаповалов В.В., Шаповалова В.А., Рогожникова О.В. Сравнительный анализ организации фармацевтической помощи в России, Украине и Белоруссии в обеспечении льготных категорий населения // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2015. №10 (207). С. 226–238.
 24. Жулев Ю. Препараты должны быть доступны для всех / Российская газета. 2019. Спецвыпуск № 120(7878). URL: <https://rg.ru/2019/06/04/sistema-lgotnogo-obespecheniia-lekarstvami-ustarela.html> (дата обращения: 28.04.2020 г.).
 25. Тельнова Е.А. Эксперимент, опередивший время: о московском эксперименте по изменению (упорядочению) оплаты за лекарственные средства, отпущенные по льготным рецептам // Ремедиум. 2019. № 10. DOI: 10.21518/1561-5936-2019-9-16-25

АВТОРЫ

Петрухина Ирина Константиновна – доктор фармацевтических наук, доцент, декан фармацевтического факультета, заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный внештатный специалист Минздрава Самарской области по фармации. ORCID ID: 0000-0001-6207-5575. E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Ягудина Роза Исмаиловна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой лекарственного обеспечения и фармакоэкономики ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0002-9080-332X. E-mail: yaugudina@inbox.ru

Рязанова Татьяна Константиновна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0002-4581-8610. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0002-7513-9352. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Первушкин Сергей Васильевич – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологий ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0002-7000-271X. E-mail: s.v.pervushkin@samsmu.ru

Егорова Анна Владимировна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: a.v.egorova@samsmu.ru

Логинова Лариса Викторовна – ассистент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: l.v.loginova@samsmu.ru

Хусаинова Алия Ильясовна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0002-3924-8914. E-mail: a.i.khusainova@samsmu.ru

Блинкова Полина Романовна – аспирант кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

