



Лекарственные средства, содержащие змеиный яд: история развития, номенклатура, оценка подлинности

* В. Э. Григорьева, О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Г. М. Булгакова, Н. В. Молчан

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

Резюме. Представлены общие данные о химическом составе, свойствах ядов змей и истории их применения в медицинской практике. Рассмотрены отличия, характеризующие яд змей той или иной систематической группы. Отмечено, что яды продолжают оставаться ценным источником новых лекарств. Проведено сравнение существующих методов анализа ядов (иммунологического, хроматографического, электрофоретического, масс-спектрометрического). Особое внимание уделено методическим особенностям определения их подлинности в зависимости от объекта и цели анализа. Выполнено сравнение различных модификаций реакции преципитации между собой. Выявлены преимущества и недостатки существующих методов. Показано, что иммунологические методы ввиду своей доступности и простоты исполнения чаще всего применяются при анализе ядов в биологических средах для диагностики источника отравления. А инструментальные методы благодаря большей информативности незаменимы для детальных исследований состава ядов при их изучении и сравнении. Проведен ретроспективный анализ данных, полученных при испытании подлинности змеиных ядов за период с 2006 по 2017 г. Установлено, что нормативная документация на отдельные лекарственные средства в ряде случаев не содержит указаний на использование конкретного вида реакции преципитации или описание методик. Сделан вывод о целесообразности модификации существующего метода, выбора условий пробоподготовки или разработки альтернативных методов для определения подлинности змеиных ядов, входящих в состав лекарственных средств.

Ключевые слова: лекарственные средства; змеиный яд; экспертиза качества; подлинность; реакция преципитации
Для цитирования: Григорьева ВЭ, Гунар ОВ, Сахно НГ, Булгакова ГМ, Молчан НВ. Лекарственные средства, содержащие змеиный яд: история развития, номенклатура, оценка подлинности. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):77–83. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-77-83>
* **Контактное лицо:** Григорьева Виктория Эдуардовна; Grigorieva@expmed.ru

Drugs Containing Snake Venom: History of Development, Nomenclature, Identification

* V. E. Grigorieva, O. V. Gunar, N. G. Sakhno, G. M. Bulgakova, N. V. Molchan

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

Abstract. The article presents general data on the chemical composition and properties of snake venoms, as well as the history of their use in medical practice. It considers the differences characteristic of the venom of snakes belonging to different systematic groups. It demonstrates that venoms remain a valuable source of new medicines. The article compares existing methods of venom analysis (immunological, chromatographic, electrophoretic, mass spectrometric). Particular attention is paid to specific methodological aspects of identification testing depending on the object and purpose of the analysis. The article also compares different modifications of the precipitation reaction. It highlights the advantages and disadvantages of existing methods. The affordability and simplicity of immunological methods accounts for their wide use in the analysis of poisons in biological media which helps to determine the cause of poisoning. While greater informativeness of instrumental methods makes them a perfect toll for detailed examination of poison composition during poisons research and comparison. The authors of the article performed a retrospective analysis of data obtained in identification testing of snake venoms during the period from 2006 to 2017. It has been established that manufacturer specifications for individual medicinal products in some cases do not contain instructions on the use of a specific type of precipitation reaction or the description of test procedures. It was concluded that some modifications should be made to the existing method, the choice of conditions for sample preparation should be considered, or alternative methods for identification of snake venoms in medicinal products should be developed.

Key words: medicines; snake venom; quality evaluation; identification; precipitation reaction
For citation: Grigorieva VE, Gunar OV, Sakhno NG, Bulgakova GM, Molchan NV. Drugs Containing Snake Venom: History of Development, Nomenclature, Identification. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):77–83. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-77-83>
* **Contact person:** Viktoria E. Grigorieva; Grigorieva@expmed.ru

Змеиный яд — сложный комплекс биологически активных соединений, являющийся ценным сырьем для фармацевтической науки и промышленности. Применяется в производстве противоядных сывороток [1], а также в составе лекарственных препаратов (ЛП) в качестве болеутоляющего, противовоспалительного и местнораздражающего средства при заболеваниях периферической нервной системы.

Отдельные компоненты ядов (эндонуклеаза, фосфолипаза А₂, фосфодиэстераза, оксидаза L-аминокислот) выпускаются промышленностью и используются в качестве химических реактивов для диагностики заболеваний крови и нервной системы, для моделирования ряда патологических синдромов и изучения механизма свертывания крови [2, 3].

Некоторые яды послужили основой для разработки новых лекарственных средств. К наиболее ярким примерам таких препаратов можно отнести полученные путем химической модификации ядов пептиды:

- каптоприл, разработанный на основе фактора потенцирования брадикинина (ФПБ), который является пептидом в яде копьеголовой гадюки (*Bothrops jararaca*) [4];

- эпitifибатид, открытый случайно при анализе гемолитических компонентов яда карликовой южноазиатской гремучей змеи;

- тирофибан, полученный из яда песчаной эфы.

Кроме того, клинические и экспериментальные исследования в области иммунофармакологии и иммунотоксикологии показали важность изучения иммунологических характеристик змеиных ядов и исследования механизма их действия на иммунную систему и общую сопротивляемость организма. Возможной мишенью для селективной иммуномодуляции являются потенциал-управляемые калиевые каналы, которые способны ингибироваться под действием β-бунгаротоксина (компонента яда аспидовых змей *Bungarus multicinctus*) [5].

Протеолитические ферменты из яда гадюки обыкновенной представляют интерес в качестве природных модуляторов калиевых каналов в практике лечения сердечных патологий и онкологических заболеваний [6].

Изучение свойств и состава змеиных ядов уже многие десятилетия привлекает внимание специалистов различных профилей. Количество публикаций на эту тему за последние годы только увеличивается, а использование современных инструментальных методов, позволяющих выделять и идентифицировать отдельные компоненты ядов, открывает дальнейшие перспективы для новых исследований.

Цель работы — сравнительный анализ методов обнаружения и идентификации змеиных ядов в различных объектах и оценка их пригодности для определения подлинности ядов в лекарственных средствах.

ИСТОРИЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Самые ранние из сохранившихся синопсисов о ядовитых животных восходят к Аристотелю (384—

322 гг. до н.э.). Однако первые научные (в современном понимании) исследования начали проводиться лишь в XVII—XVIII вв. Точный исторический период, когда люди начали использовать яд в медицинских целях, определить сложно. Многие врачи Древней Греции описывали действие отдельных змеиных ядов и их смесей. В Древнем Риме животные яды использовались при изготовлении лекарств от оспы, лепры, лихорадки, а также ранозаживляющих средств. Применение змеиного яда было широко распространено в Средние века, вплоть до XIX в. он являлся частью многих противоядий и антидотов, в том числе знаменитой смеси «териак». Начиная со второй половины XIX в. использование змеиных ядов в медицине еще больше расширилось. Так, например, сообщалось, что страдающие эпилептическими припадками пациенты излечивались после укуса гремучей змеи, а в 1934 г. было обнаружено, что яд кобры в малых дозах обладает потенциальным обезболивающим действием, во много раз превосходящим действие морфина. С того времени змеиный яд стал частью лекарственных средств от астмы, гипертензии и лепры. Однако обоснованное применение змеиных ядов в современной медицине началось только в XX в. после изучения их белкового состава [7].

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И КЛАССИФИКАЦИЯ

Современные методы фракционирования смесей органических соединений (электрофорез, ультрацентрифугирование, ультрафильтрация, фиксация на ионообменных смолах, хроматография и др.) позволили провести разделение белков, входящих в состав змеиных ядов, определить их биохимические свойства и токсичность.

Яд представляет собой сложную смесь гидролитических ферментов, неэнзиматических низко- и высокомолекулярных протеинов и небольшое число других органических и неорганических молекул (пигментов, минеральных компонентов и микроэлементов) [8]. Полная характеристика белков змеиного яда достаточно сложна даже при доступности современных физико-химических методов анализа из-за наличия множественных изоформ токсинов [9, 10].

Многие ферменты являются общими для ядов змей различных семейств, например фосфолипаза А₂, гиалуронидаза (мукополисахаридаза), оксидаза L-аминокислот, фосфодиэстераза, 5'-нуклеотидаза, и другие [11, 12], что отражает тесную филогенетическую связь ядовитых желез с экзокринными железами пищеварительного тракта.

В то же время существуют и отличия, характеризующие яд змей той или иной систематической группы [13]. Так, в состав яда аспидов и морских змей входят токсические полипептиды (нейротоксины), нарушающие передачу возбуждения в нервно-мышечных синапсах и тем самым вызывающие вялый паралич скелетной и дыхательной мускулатуры. Напротив, в ядах гадюковых и ямкоголовых змей ацетилхолинэстераза отсутствует, но зато широко представлены протеолитические ферменты

с трипсино-, тромбино- и калликреиноподобным действием [6, 14]. В результате отравления этими ядами развиваются геморрагические отеки, обусловленные как повышением сосудистой проницаемости, так и нарушениями в свертывающей системе крови. Для яда гюрзы, который по токсичности уступает только яду кобр, характерно присутствие эндопептидаз, гидролаз аргининовых эфиров, кининогеназ [15].

Условно яды змей могут быть классифицированы по их происхождению и характеру воздействия на организм человека (рис. 1).

Нейротоксические яды обладают курареподобным действием, останавливают нейромышечную передачу, в результате чего наступает смерть от паралича. Гемовазотоксические — вызывают сосудистый спазм, сосудистую проницаемость и отек тканей и внутренних органов [2].

В России известно 13 опасных и ядовитых для человека змей [16] (табл. 1). Змеи, относящиеся к этим семействам, отличаются по своей биологии, строению ядовитого аппарата, химическому составу яда и механизмам его токсического действия.

На сегодняшний день в Государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС) включены:

- три фармацевтические субстанции (яд гадюки обыкновенной сухой, яд гадюки степной сухой, яд гюрзы);
- сыворотка против яда гадюки обыкновенной лошадиная очищенная концентрированная жидкая (в виде раствора для инъекций);
- шесть лекарственных препаратов в форме мазей, содержащие в своем составе яд гадюки (Випросал В®, Алвипсал®, Салвисар®), яд гюрзы (Випрапин, Випралгон) и яд кобры (Наятокс®).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

В настоящее время в мировой практике идентификацию змеиных ядов проводят с помощью методов иммунологического анализа [17–20], масс-спектрометрии [9, 11, 21–24], электрофореза [10, 22, 25, 26] или сочетания этих методов (табл. 2). Часто масс-спектрометрическому детектированию предшествует хроматографическое или электрофоретическое разделение компонентов яда или их частичный ферментативный гидролиз.

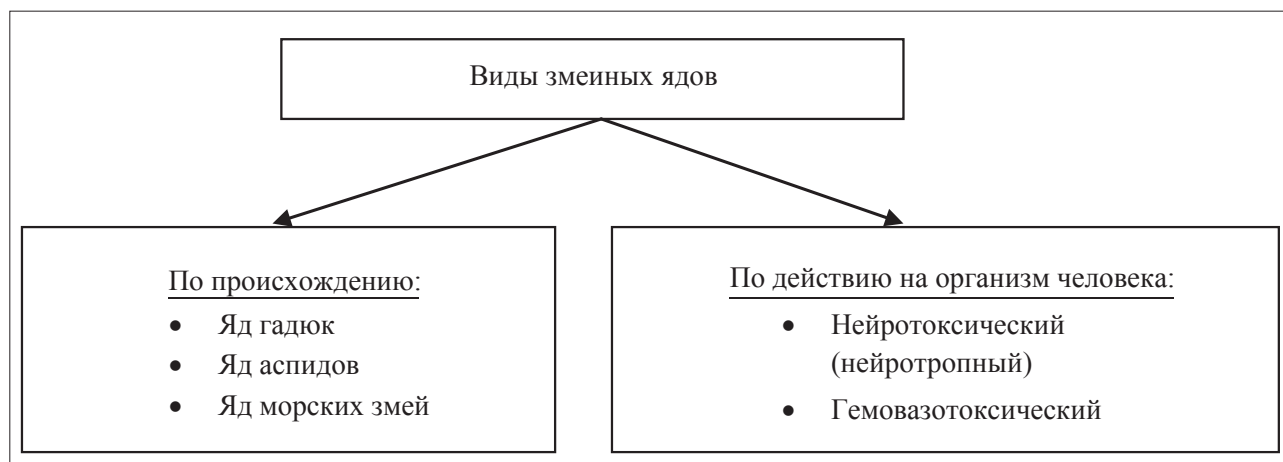


Рис. 1. Классификация змеиных ядов

Таблица 1

ВИДЫ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ, ОБИТАЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Семейство	Ядовитые и опасные виды, принадлежащие фауне России
Ужеобразные (<i>Colubridae</i>)	- разноцветный полоз (<i>Coluber ravergieri</i>); - тигровый уж (<i>Rhabdophis tigrina</i>); - обыкновенная медянка (<i>Coronella austriaca</i>)
Гадюковые (<i>Viperidae</i>)	- гадюка обыкновенная (<i>Vipera berus</i>); - гадюка степная (<i>V. ursini</i>); - гадюка кавказская (<i>V. kaznakovi</i>); - гадюка малоазиатская (<i>V. xanthina</i>); - гадюка носатая (<i>V. ammodytes</i>); - гюрза (<i>V. lebetina</i>); - эфа (<i>Echis carinatus</i>)
Ямкоголовые (<i>Crotalidae</i>)	- обыкновенный щитомордник (<i>Agkistrodon halys</i>); - восточный щитомордник (<i>A. blomhoffi</i>)
Аспидовые (<i>Elapidae</i>)	- среднеазиатская кобра (<i>Naja oxiana</i>)

Таблица 2

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЗМЕИНЫХ ЯДОВ

Тип метода	Принцип	Преимущества
Иммунологический	Специфическая реакция «антиген-антитело»	- уникальная специфичность иммунохимической реакции - простота методов регистрации - низкая цена
Матрично-активированная лазерная десорбция (MALDI-ToF MS)	«Мягкая» ионизация лазерным излучением без деградации крупных биомолекул с последующим времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием	- скорость выполнения анализа - высокая производительность - эффективность метода для определения таксономической принадлежности разных видов и групп
Последовательный двухмерный гель-электрофорез (2-D electrophoresis)	Разделение белков по размеру и молекулярной массе	- способность фракционировать смеси, содержащие более 100 белков - разделение макромолекул по размеру, пространственной конфигурации, вторичной структуре, электрическому заряду

Таблица 3

МОДИФИКАЦИИ РЕАКЦИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЗМЕИНЫХ ЯДОВ

Метод	Среда	Использование
Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони (рис. 2а)	- агаровый гель	- определение неизвестных антигенов или антител; - проверка сходства между различными антигенами
Реакция кольцепреципитации (рис. 2б)	- полужидкий гель агара; - агароза	- определение наличия антигенов в органах и тканях
Реакция радиальной иммунодиффузии (рис. 2в)	- агаровый гель	- изучение токсигенности
Иммуноэлектрофорез (рис. 2г)	- агаровый гель; - агароза	- количественное определение белков и их идентификация
Реакция флоккуляции (по Рамону) (рис. 2д)	- сыворотка крови	- определение активности антитоксической сыворотки или анатоксина

При производстве фармацевтических препаратов на основе белков-индукторов системы гомеостаза входной контроль сырья, которым является яд змей рода *Agkistrodon*, проводят хроматографическими методами [27].

Для контроля качества сухого яда гадюки обыкновенной определяют активность протеолитических ферментов, токсичность и органолептические характеристики [28]. Подлинность змеиных ядов, входящих в состав лекарственных средств, подтверждают методом иммунодиффузии, основанным на реакции преципитации (РП) — образовании антитела в присутствии антигена нерастворимого осадка (преципитата). Существуют различные модификации РП, применимые для изучения змеиных ядов (табл. 3).

Иммунологические методы уступают инструментальным в точности и информативности, поскольку их применение не гарантирует в полной мере исключение ложноположительных или ложноотрицательных результатов [11, 29]. Однако их относительная простота для выполнения анализа, доступность и возможность обойтись без дорогостоящего оборудования делают иммунологические методы, и в частности метод иммунодиффузии, предпочтительными при определении подлинности змеиных ядов

в биологических средах, а также в лекарственных средствах.

За последние 11 лет (2006–2017 гг.) в лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России был выполнен анализ подлинности ядов в 16 сериях лекарственных препаратов. Нормативная документация на отдельные лекарственные средства в ряде случаев не содержит указаний на использование конкретного вида РП или описание методик. Испытания проводили методом двойной иммунодиффузии в модификации С. L. Oakley, A. J. Fulthorpe: гель, содержащий антитела, и раствор антигенов разделены столбиком чистого геля. В результате встречной диффузии антигенов и антител зоны их оптимального соотношения в промежуточном геле не смещаются, и формирующиеся полосы преципитации в процессе реакции не мигрируют (рис. 3). Обнаружение в слое нейтрального агара линий преципитации подтверждает подлинность змеиного яда в препарате. В отрицательной пробе смесь геля и раствора антигенов остается прозрачной.

В качестве отрицательного контроля вместо раствора образца использовали раствор натрия хлорида 0,9 %, при этом наличие колец преципитации не наблюдалось.

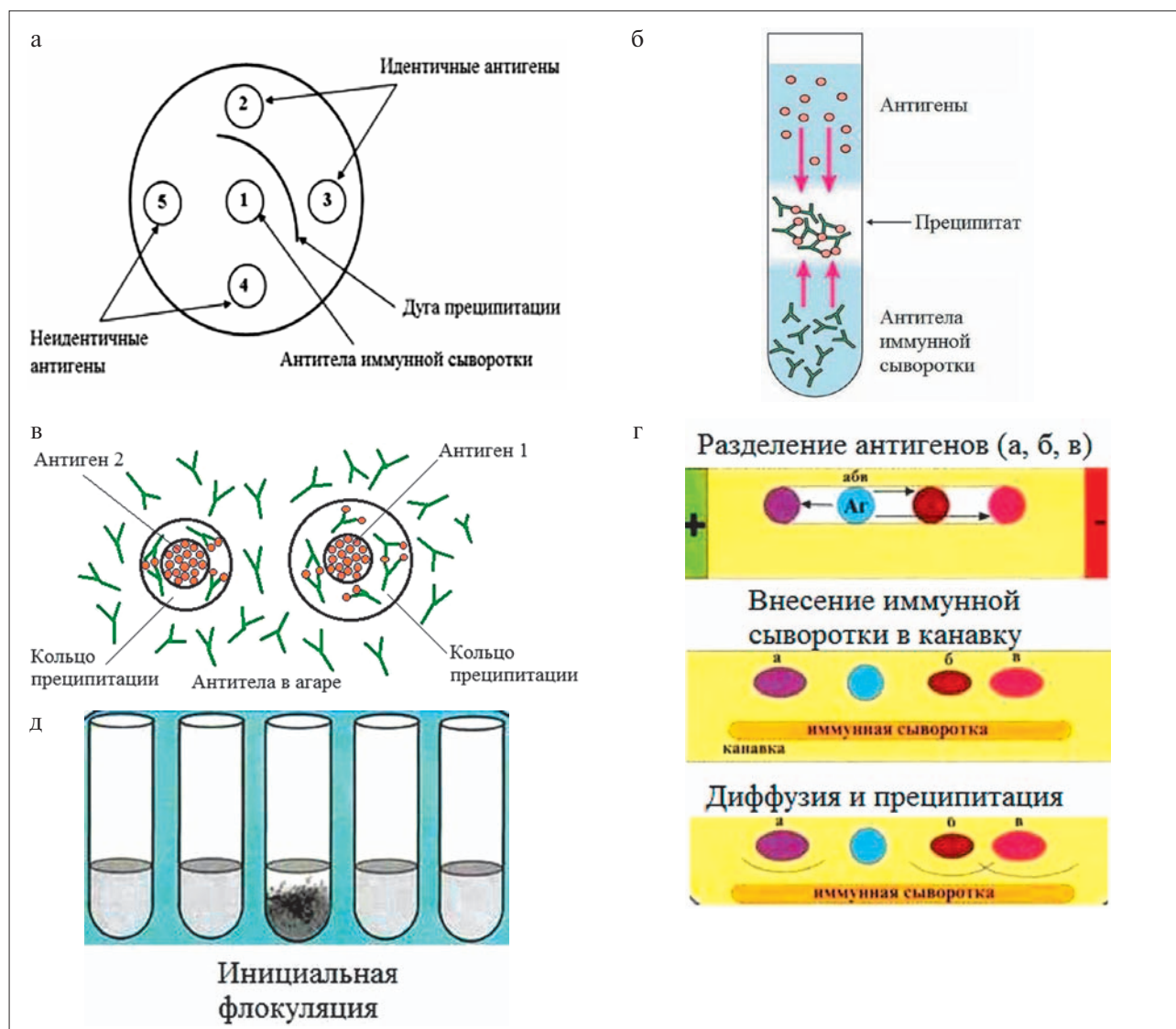


Рис. 2. Схемы модификаций реакции преципитации

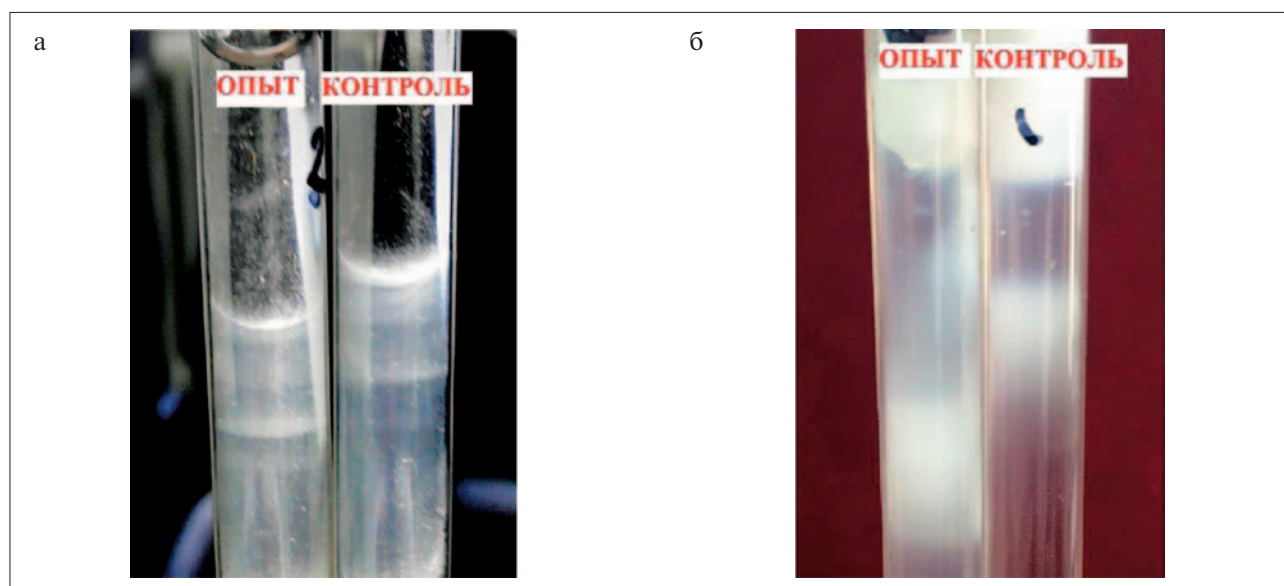


Рис. 3. Определение подлинности змеиного яда в субстанции яд гюрзы кавказской (а) и препарата в лекарственной форме мазь, с ядом гадюки в составе (б)

Таким образом, методы иммунодиффузии позволяют выявлять специфические антигены в таких сложных системах, как лекарственные средства. Однако их использование ограничено, так как они могут быть применены для анализа только растворимых антигенов и антител, при взаимодействии которых образуются преципитаты. Для визуальной регистрации результата РП необходимы высокие концентрации компонентов и длительное время проведения реакции. К тому же результаты такого анализа не всегда можно однозначно интерпретировать и в большинстве случаев они носят качественный или полуколичественный характер. Кроме того, визуальный учет результатов может быть затруднен в лекарственной форме «мазь» из-за мешающего влияния компонентов основы. Поэтому при разработке и/или пересмотре нормативной документации на мази, содержащие змеиный яд, следует уделить внимание выбору условий подготовки проб, чтобы повысить точность результатов анализа.

Вместе с тем необходимо признать, что иммунологические методы, и в частности реакция преципитации, в силу простоты исполнения имеют неоспоримое преимущество при рутинном контроле качества лекарственных средств по сравнению с инструментальными методами, которые больше подходят для решения исследовательских задач. Поэтому можно ожидать, что для совершенствования нормативной документации на препараты, содержащие змеиный яд, будут разрабатываться варианты иммунологических методов, например, иммуноферментный. Так, разработка чувствительных и специфичных тест-систем для определения ядов в биологических жидкостях, как описано в исследованиях [17, 18], могла бы решить вопрос не только диагностики отравлений, но и определения подлинности ядов в лекарственных препаратах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совершенствование методов оценки подлинности змеиных ядов в составе ЛП продолжает оставаться актуальной задачей при разработке нормативной документации на лекарственные средства. При этом представляется целесообразной разработка новых вариантов иммунологических методов, в частности иммуноферментного анализа.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Перелыгина ОВ, Комаровская ЕИ, Мухачева АВ, Саяпина ЛВ, Обухов ЮИ, Бондарев ВП. Гетерологичные сывороточные препараты в практике современной медицины. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017;17(1):41–7. [Perelygina OV, Komarovskaya EI, Mukhacheva AV, Sayarina LV, Obukhov Yul, Bondarev VP. Clinical Experience with Heterologous Serum Products. BIOpreparation. Prevention, Diagnosis, Treatment 2017;17(1):41–7 (In Russ.)]
2. Коноплева ММ. Лекарственное сырье животного происхождения и природные продукты. Вестник фармации 2012;(1):74–82. [Konopleva MM. The Medicinal Raw Materials of Animal Origin and Natural Products. Vestnik of Pharmacy 2012;(1):74–82 (In Russ.)]

3. Эгамбердиева ЛН. Иммуноактивные препараты животного происхождения. Журнал теоретической и клинической медицины 2017;(1):44–51. [Egamberdieva LN. Immunoactive Drugs of Animal Origin. Journal of Theoretical and Clinical Medicine 2017;(1):44–51 (In Russ.)]
4. Cushman DW, Ondetti MA. History of the Design of Captopril and Related Inhibitors of Angiotensin Converting Enzyme. Hypertension 1991;17(4):589–92.
5. Барнова ДВ, Шелухина ИВ, Кузьменков АИ, Кудрявцев ДС, Василевский АА, Фефанов АВ и др. Действие токсинов из ядов змей на потенциал-управляемые калиевые каналы. В кн.: Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии. М.; 2017. С. 88. [Barkova DV, Shelukhina IV, Kuzmenkov AI, Kudryatsev DS, Vasilevsky AA, Feofanov AV, et al. The Effect of Toxins from Snake Venoms on Potentially Controlled Potassium Channels. In: Prospective Directions of Physico-Chemical Biology and Biotechnology. Moscow; 2017. P. 88 (In Russ.)]
6. Мурзаева СВ, Маленев АЛ, Бакиев АГ, Миронова ГД. Перспективы использования ядов змей в медицинской практике. Успехи современного естествознания 2008;(7):104. [Murzaeva SV, Malenev AL, Bakiev AG, Mironova DG. Prospects for the Use of Snake Venoms in Medical Practice. Advances in Current Natural Sciences 2008;(7):104 (In Russ.)]
7. Корпачев ВВ. Целебная фауна. М.: Наука; 1989. [Korpachev VV. Healing Fauna. Moscow: Nauka; 1989 (In Russ.)]
8. Дханаджая БЛ, Д'Сауза КДЖМ. Общее представление о нуклеазах из яда змей: ДНКказа, РНКказа и фосфодиэстераза (обзор). Биохимия 2010;75(1):5–11. [Dhanadhaya BL, D'Souza CJM. An Overview on Nuclease Enzymes (DNase, RNase, and Phosphodiesterase) in Snake Venoms. Biochemistry 2010;75(1):5–11 (In Russ.)]
9. Chapeaurouge A, Reza MA, Mackessy SP, Carvalho PC, Valente RH, Teixeira-Ferreira A, et al. Interrogating the Venom of the Viperid Snake *Sistrurus Catenatus Edwardsii* by a Combined Approach of Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. PLoS One 2015;10(5):e0092091.
10. Melani RD, Skinner OS, Fornelli L, Domont GB, Compton PD, Kelleher NL. Mapping Proteoforms and Protein Complexes From King Cobra Venom Using Both Denaturing and Native Top-down Proteomics. Mol Cell Proteomics 2016;15(7):2423–34.
11. Дубровский ЯА, Подольская ЕП. Определение токсинов пептидной природы методом MALDI-MS (обзор). Научное приборостроение 2010;20(4):21–35. [Dubrovsky YaA, Podolskaya EP. Peptide Toxins Identification by MALDI-MS Method. Nauchnoe Priborostroenie 2010;20(4):21–35 (In Russ.)]
12. Дубровский ПВ, Уткин ЮН. Цитотоксины кобр: структурная организация и антибактериальная активность. Acta Naturae (русскоязычная версия) 2014;6(3):12–9. [Dubovsky PV, Utkin YuN. Cobra Cytotoxins: Structural Organization and Antibacterial Activity. Acta Naturae (Russian edition) 2014;6(3):12–9 (In Russ.)]
13. Гелашвили ДБ, Крылов ВН, Романова ЕБ. Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты. Нижний Новгород: Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского; 2015. [Gelashvili DB, Krylov VN, Romanova EB. Zootoxinology: Bioecological and Biomedical Aspects. Nizhny Novgorod: N. I. Lobachevsky National Research Nizhny Novgorod State University; 2015 (In Russ.)]
14. Горелов РА. Ядовитые змеи Самарской области и свойства их ядов. Тольятти: Кассандра; 2017. [Gorelov RA. Poisonous Snakes of the Samara Region and the Properties of their Poisons. Togliatti: Cassandra; 2017 (In Russ.)]
15. Исмаилова ЗС. Практическое значение горзы *Macrovipera lebetina* (Linnaeus, 1758) в Дагестане. Вестник Дагестанского государственного университета 2011;(6):175–7. [Ismailova ZS. The Practical Importance of the Gurez *Macrovipera lebetina* (Linnaeus, 1758) in Dagestan. Bulletin of Dagestan State University 2011;(6):175–7 (In Russ.)]
16. Ананьева НБ, Орлов НЛ, Халиков РГ, Даревский ИС, Рябов СА, Барабанов АВ. Атлас пресмыкающихся Северной Евразии: таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус. Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН; 2004. [Ananieva NB, Orlov NL, Khalikov RG, Darevsky IS,

- Ryabov SA, Barabanov AV. Atlas of Reptiles of Northern Eurasia: Taxonomic Diversity, Geographical Distribution and Environmental Status. Saint Petersburg: Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences; 2004 (In Russ.)]
17. Gao JF, Wang J, Qu YF, Ma XM, Ji X. Immunoreactivity Between Venoms and Commercial Antiserums in Four Chinese Snakes and Venom Identification by Species-specific Antibody. *J Immunol Methods* 2013;387(1–2):211–8.
 18. Shaikh IK, Dixit PP, Pawade BS, Waykar IG. Development of dot-ELISA for the Detection of Venoms of Major Indian Venomous Snakes. *Toxicol.* 2017;139:66–73.
 19. Brgles M, Kurtovic T, Kovacic L, Krizaj I, Barut M, Lang Balija M, et al. Identification of Proteins Interacting with Ammodytoxins in *Vipera ammodytes* Ammodytes Venom by Immuno-affinity Chromatography. *Anal Bioanal Chem.* 2014;406(1):293–304.
 20. Van Dong L, Quyen le K, Eng KH, Gopalakrishnakone P. Immunogenicity of Venoms from Four Common Snakes in the South of Vietnam and Development of ELISA Kit for Venom Detection. *J Immunol Methods* 2003;282(1–2):13–31.
 21. Рамазанова АС. Структурно-функциональные исследования новых токсичных белков яда гадюки *Vipera Nikoliskii*: автореф. дис. ... канд. хим. наук. М.; 2011. [Ramazanova AS. Structural and Functional Studies of New Toxic Proteins of Venom *Vipera Nikoliskii*. *Cand. Chem. Sci* [thesis]. Moscow; 2011 (In Russ.)]
 22. Bocian A, Urbanik M, Hus K, Lyskowski A, Petrilla V, Andrejczakova Z, et al. Proteomic Analyses of *Agkistrodon contortrix contortrix* Venom Using 2D Electrophoresis and MS Techniques. *Toxins* 2016;8(12):372.
 23. Brgles M, Bertosa B, Winkler W, Kurtovic T, Allmaier G, Marchetti-Deschmann M, et al. Chromatography, Mass Spectrometry, and Molecular Modeling Studies on Ammodytoxins. *Anal Bioanal Chem.* 2012;402(9):2737–48.
 24. Кухтина ВВ, Вайзе К, Осипов АВ, Старков ВГ, Титов МИ, Есипов СЕ и др. MALDI-масс-спектрометрия для идентификации новых белков в яде змей. *Биоорганическая химия* 2000;26(11):803–7. [Kukhtina VV, Vaize K, Osipov AV, Starkov VG, Titov MI, Esipov SE, et al. The MALDI Mass Spectrometry in the Identification of New Proteins in Snake Venoms. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 2000;26(11):721–4 (In Russ.)]
 25. Бакиев АГ, Гаранин ВИ, Гелашвили ДБ, Горелов РА, Доронин ИВ, Зайцева ОВ и др. Гадюки (*Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera*) Волжского бассейна. Ч. 3. Тольятти: Кассандра; 2015. [Bakiev AG, Gararin VI, Gelashvili DB, Gorelov RA, Doronin IV, Zaitseva OV, et al. *Vipers (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera)* of the Volga Basin. Part 3. Togliatti: Cassandra; 2015 (In Russ.)]
 26. Munawar A, Trusch M, Georgieva D, Hildebrand D, Kwiatkowski M, Behnken H, et al. Elapid Snake Venom Analyses Show the Specificity of the Peptide Composition at the Level of Genera *Naja* and *Notechis*. *Toxins* 2014;6(3):850–68.
 27. Краснобрижая ЕН, Волков ГЛ, Гаврилюк СП, Карбовский ВЛ, Буянбадрах Б, Бямбасурэн С и др. Контроль качества яда змей рода *Agkistrodon* на входном этапе технологического процесса. *Биофармацевтический журнал* 2009;1(4):42–8. [Krasnobrizhaya EN, Volkov GL, Gavriilyuk SP, Karbovskiy VL, Buyanbadrakh B, Byambasuren S, et al. The Incoming Quality Control of the Snake *Agkistrodon* Venom. *Biopharmaceutical Journal* 2009;1(4):42–8 (In Russ.)]
 28. Зайцева ОВ, Маленев АЛ, Бакиев АГ. Исследования свойств яда обыкновенной гадюки в Волжском бассейне: практическое значение полученных результатов. Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии 2011;20(1):180–4. [Zaitseva OV, Malenev AL, Bakiev AG. Research of Properties of the Common Viper's Venom in the Volga River Basin: Practical Value the Received Results. *Samara Bend: Problems of Regional and Global Ecology* 2011;20(1):180–4 (In Russ.)]
 29. Theakston RD, Laing GD. Diagnosis of Snakebite and the Importance of Immunological Tests in Venom Research. *Toxins* 2014;6(5):1667–95.

ОБ АВТОРАХ

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

Григорьева Виктория Эдуардовна. Эксперт 2-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Гунар Ольга Викторовна. Начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р фарм. наук

Сахно Надежда Геннадьевна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук

Булгакова Галина Михайловна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Молчан Нина Валерьевна. Научный редактор отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности Центра планирования и координации НИР, канд. фарм. наук

Статья поступила 22.02.2017

Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Viktoria E. Grigorieva. 2nd Professional Category Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Olga V. Gunar. Head of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Doctor of Pharmaceutical Sciences

Nadezhda G. Sakhno. Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Galina M. Bulgakova. Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Nina V. Molchan. Scientific Editor of the Department for Editorial and Publishing Activities, and Intellectual Property Protection of the Centre for Planning and Coordination of Scientific Activities. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Article was received 22 February 2017

Accepted for publication 14 May 2018