

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ НА ОСНОВЕ НУКЛЕОЗИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ (НИОТ) – ФОСФАЗИДА И ЛАМИВУДИНА

А.Ф. Хохлов¹, Б.В. Бровченко^{1*}, А.А. Смирнов¹

Резюме. В статье рассматривается процесс разработки комбинированного лекарственного препарата Фосфаладин®, предназначенного для лечения ВИЧ-инфекции, на основе фосфазида и ламивудина. Приведен краткий обзор эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции с учетом политики импортозамещения в фармацевтической отрасли, а также вопросов обеспечения ВИЧ-инфицированных пациентов необходимой терапией. Рассмотрены этапы фармацевтической разработки комбинированного лекарственного препарата и особенности подготовки доклинического и клинического блоков регистрационного досье.

Ключевые слова: фосфазид, ламивудин, комбинированный лекарственный препарат, терапия ВИЧ-инфекции, фармразработка.

DEVELOPMENT AND REGISTRATION OF A COMBINED DRUG FOR THE TREATMENT OF HIV INFECTION ON THE BASIS OF ON NUCLEOSIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS (NRTI) PHOSPHAZIDE AND LAMIVUDINE

A.F. Khohlov¹, B.V. Brovchenko^{1*}, A.A. Smirnov¹

Abstract. The article discusses the development process of a combined medicinal product **Phosphaladin®** intended for the treatment of HIV infection, based on phosphazide and lamivudine. A brief review of epidemiological situation on HIV infection taking into account the import substitution policy in the pharmaceutical industry, as well as the problem of providing HIV-infected patients require therapy. Considers the issues of pharmaceutical development combined drug and preparation of preclinical and clinical units of the registration dossier.

Keywords: phosphazide, lamivudine, combined medicine, therapy of HIV infection, pharmaceutical development.

ВВЕДЕНИЕ

По статистике за 2014 год [1] и 10 месяцев 2015 года [2] эпидемическая ситуация по ВИЧ-инфекции в России продолжает ухудшаться. По итогам заседания Правительственной комиссии по вопросам охраны здоровья граждан [3], проходившей 23 октября 2015 г., министром здравоохранения В.И. Скворцовой и председателем Правительства РФ Д.И. Медведевым определена стратегия противодействия распространению ВИЧ-инфекции, которая должна быть реализована к ноябрю 2016 г. [3].

Главными направлениями противодействия распространению ВИЧ-инфекции на государственном уровне являются:

- масштабная информационная работа с привлечением средств массовой информации и общественных организаций об опасности инфекции, профилактики и факторах ее предупреждения;
 - совершенствование схем лечения ВИЧ-инфекции с позиций доступности, эффективности и безопасности;
 - концентрация усилий на уязвимых к инфекции группах населения, включая наркозависимых;
 - разработка и введение в оборот российских препаратов для лечения ВИЧ-инфекции в рамках федеральной целевой программы «Фарма-2020» [3].
- На текущем этапе доля импортных препаратов для лечения ВИЧ-инфекции достаточно велика [4] (распределение денежных средств по комбинированным препаратам группы НИОТ см. на рисунках 1 и 2). Помимо стратегии «Фарма-2020» Министерством промышленности и торговли

- бесперебойная поставка лекарственных препаратов для профилактики и лечения ВИЧ-инфекции во все субъекты федерации;

Российской Федерации в марте 2015 г. введен в действие приказ «Об утверждении отраслевого плана мероприятий по импортозамещению в отрасли фармацевтической промышленности Российской Федерации» [5], нормами которого предусмотрено значительное увеличение доли антиретровирусных препаратов российского производства к 2020 году.

Тем не менее прирост зарегистрированных случаев инфицирования ВИЧ наблюдается каждый год и составляет в среднем около 10% от общего числа выявленных случаев заражения. Данные Росстата и UNAIDS (подразделения ООН, занимающегося противодействием распространению ВИЧ-инфекции) разнятся, причем по данным UNAIDS распространенность ВИЧ-инфекции выше [3]. Текущий уровень финансирования (по данным за 2015 г.) позволяет обеспечить антиретровирусной терапией не более 23% от общего числа ВИЧ-инфицированных пациентов (около 200 тыс. пациентов [1–3]). И только при охвате лечением не менее чем 60% ВИЧ-инфицированных пациентов регресса заболевания, по мнению министра здравоохранения РФ, можно достигнуть к 2023 г., а «для кардинального изменения эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции необходимо увеличение охвата лиц лечением на основе современных схем, в том числе с использованием отечественных препаратов» [3].

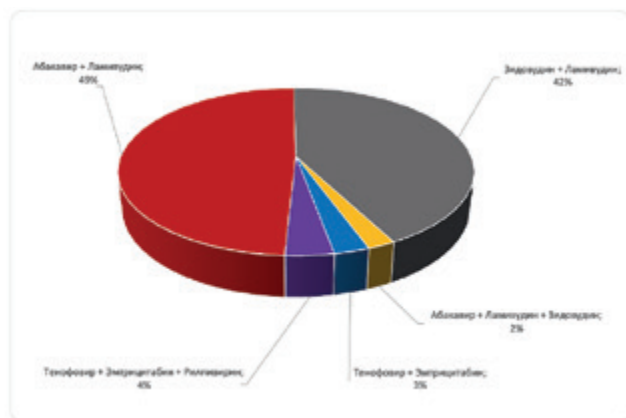


Рисунок 1. Распределение денежных средств по комбинированным лекарственным препаратам (ЛП) группы НИОТ (по МНН) за 2014–2015 гг. (данные с сайта zakupki.gov.ru)

В настоящее время единственным антиретровирусным препаратом отечественной разработки и производства группы НИОТ¹ является фосфазид, выпускаемый под торговым наименованием Никавир® компанией «АЗТ ФАРМА К.Б.» по полному циклу более 15 лет и зарекомендовавший себя для лечения и профилактики [4] ВИЧ-инфекции как доступное, эффективное и безопасное средство [6].

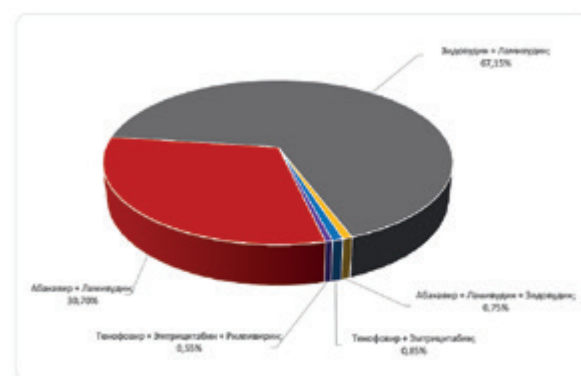


Рисунок 2. Распределение комбинированных ЛП группы НИОТ (по МНН) в процентном выражении от общего количества пациентов за 2014–2015 гг. (данные с сайта zakupki.gov.ru)

В 2012 г. в научно-медицинском периодическом издании «ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии» [7] коллективом авторов, представляющих Санкт-Петербургский Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (Санкт-Петербург, Россия) и Клиническую инфекционную больницу им. С.П. Боткина (Санкт-Петербург, Россия), была опубликована статья, содержащая обращение к компании-производителю препарата Никавир® с целью введения в обращение дополнительной дозировки – 400 мг. Обращение было основано на более чем десятилетнем опыте применения препарата и современных рекомендациях по оптимизации схем приема пациентом антиретровирусных препаратов, направленных на увеличение приверженности пациентов к терапии ВИЧ-инфекции.

Учитывая совершенствование схем антиретровирусной терапии и значимость введения в обращение дополнительной дозировки монопрепарата фосфазида (400 мг), группой разработки компании «АЗТ ФАРМА К.Б.» были проведены изучение и анализ современных клинических рекомендаций, национальных руководств по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции и СПИДа, протоколов диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией, соответствующих научных публикаций [8–11]. По результатам анализа был сделан вывод, что в Российской Федерации фосфазид наиболее часто применяется в комбинации с ламивудином как в предпочтительных, так и в альтернативных схемах антиретровирусной терапии (АРВТ) у взрослых пациентов. Исходя из этого, было принято решение о разработке комбинированного лекарственного препарата для лечения ВИЧ-инфекции на основе фосфазида и ламивудина.

¹НИОТ – нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы транскриптазы ВИЧ.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ФОСФАЗИДА И ЛАМИВУДИНА

В настоящее время согласно рекомендациям ICH (Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для человека) для препаратов, активные молекулы которых уже разработаны и изучены, применяется концепция, в основе которой лежит глубокое понимание свойств препарата с точки зрения возможных рисков для пациента, и основные усилия разработчика направлены на улучшение его качества в ходе производственного процесса [12].

В разрезе фармацевтической разработки комбинированного лекарственного препарата, действующие вещества которого хорошо изучены, безопасны, эффективны, а их комбинация применяется в медицинской практике в виде монопрепаратов, можно выделить следующие важные этапы [12]:

1. Выбор действующих веществ.
2. Выбор лекарственной формы.
3. Выбор вспомогательных веществ.
4. Определение показателей качества готовой лекарственной формы (ГЛФ).
5. Разработка технологии производства ГЛФ, включая методы контроля качества.
6. Проведение доклинических испытаний.
7. Проведение клинических испытаний.

1. Выбор действующих веществ

1.1. Физико-химические свойства действующих веществ.

Ламивудин, 4-амино-1-[(2R,5S)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]пиримидин-2(1H)-он, – белый или почти белый кристаллический порошок, без запаха, растворим в воде, умеренно растворим в метаноле, мало растворим в этаноле 96%.

Фосфазид, 3'-азидо-3'-дезокситимидин-5'-фосфонат натрия, – белый или белый с желтоватым оттенком порошок с характерным запахом, разлагается на свету, обладает высокой гигроскопичностью, очень легко растворим в воде, умеренно растворим в этаноле 95%.

1.2. Фармакологические свойства действующих веществ.

Фосфазид и ламивудин являются высокоэффективными избирательными ингибиторами обратной

транскриптазы ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Фосфазид является модифицированным аналогом природного нуклеозида тимидина. Ламивудин является синергистом фосфазида в отношении угнетения репликации ВИЧ.

Фосфазид и ламивудин, проникнув в инфицированную клетку, последовательно метаболизируются внутриклеточными киназами до 5'-трифосфатов (ТФ) – азидотимидина-ТФ и ламивудина-ТФ, которые являются субстратами для обратной транскриптазы ВИЧ и конкурентными ингибиторами этого фермента. Противовирусная активность препаратов обусловлена преимущественно включением их монофосфатной формы в цепь вирусной ДНК, в результате чего происходит разрыв цепи и остановка воспроизведения вирусных частиц. Азидотимидина-ТФ и ламивудина-ТФ обладают значительно меньшим сродством к ДНК-полимеразам человеческих клеток [13, 14].

1.3. Опыт клинического применения фосфазида и ламивудина.

Описанные ниже работы по изучению совместного применения фосфазида и ламивудина в клинической практике не являются единичными и приводятся в качестве примеров.

1.3.1. В 2008–2009 гг. на базе Пермского краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями был проведен сравнительный анализ эффективности и безопасности схем АРВТ у 46 больных ВИЧ-инфекцией. [15] Целью проводимого исследования было изучение клинической эффективности трехкомпонентной антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции с применением фосфазида.

Для проведения сравнительного анализа пациенты были разделены на 2 группы. 1-ю группу наблюдения составили 18 больных ВИЧ-инфекцией, получавших АРВТ, включающую в качестве нуклеозидной основы Никавир® (фосфазид) и Эпивир® (ламивудин) в сочетании с нуклеозидным препаратом Стокрин® (эфавиренз) или ингибитором протеазы (атазанавиром) или комбинированным препаратом Калетра® (лопинавир + ритонавир). Во 2-ю группу сравнения было включено 28 пациентов, получавших в качестве нуклеозидной основы препарат Комбивир® (зидовудин + ламивудин) в сочетании с нуклеозидным препаратом Стокрин® (эфавиренз), причем больные 1-й группы наблюдения отличались более тяжелым состоянием по основному, сопутствующим и вторичным диагнозам по сравнению с ВИЧ-инфицированными пациентами 2-й группы.

Полученные результаты позволили считать эффективными обе схемы АРВТ для лечения ВИЧ-инфекции. Снижение вирусной нагрузки происходило быстрее в первой группе. Основными показателями эффективности проводимой терапии являлись снижение или отсутствие прогрессирования симптомов ВИЧ-инфекции и вторичных заболеваний уже через

12 недель лечения в обеих группах. Эта тенденция сохранялась до конца исследования (48 недель), что подтверждает эффективность обеих применяемых схем лечения, однако в случае выявления у пациентов анемии, гранулоцитопении или сопутствующих заболеваний, таких как хронический гепатит С или туберкулез, схема с включением зидовудина и ламивудина в качестве нуклеозидной основы становится неприемлемой [15].

1.3.2. В Нижегородском областном Центре СПИД в 2013 г. [16] проведено исследование эффективности и безопасности применения фосфазида у 47 пациентов в альтернативных схемах антиретровирусной терапии. Все пациенты получали стандартную схему, состоящую из двух НИОТ и одного ННИОТ¹. При этом 37 больным в качестве нуклеозидной основы назначался Комбивир® (зидовудин + ламивудин), а 11 – Зерит® (ставудин) и Эпивир® (ламивудин). Из ННИОТ применялся Стокрин® (эфавиренз).

Причиной изменений схемы первого ряда, основу которой составляли препараты зидовудина и ставудина, являлось развитие побочных явлений, таких как анемия, тромбоцитопения, тромбоцитоз, липодистрофия, полинейропатия. При замене препаратов первого ряда на фосфазад сохранилась положительная динамика снижения уровня вирусной нагрузки, не было зафиксировано побочных явлений, требующих замены схемы, а уровень ферментов, свидетельствующих о гепатотоксичности при приеме зидовудина и ставудина, достиг нормы в течение 12 месяцев после изменения схемы [16].

1.3.3. В Санкт-Петербургском центре СПИД в 2012 г. [17] была проведена комплексная оценка 567 пациентов с тяжелым иммунодефицитом, находящихся под диспансерным наблюдением и получающих фосфазад в составе антиретровирусной терапии. Из контрольной группы, отобранной по случайному принципу, 130 пациентов получали в качестве нуклеозидной основы фосфазад и ламивудин. В ходе проведенного исследования такая комбинация показала хорошую иммунологическую и вирусологическую активность, а побочные эффекты, требующие ее замены, наблюдались в 13,2% случаев. Появление побочных эффектов при применении аналогичных препаратов встречается в среднем в диапазоне от 10% до 25% и зависит от тяжести заболевания, схемы лечения, приверженности к терапии и приема психоактивных веществ [17].

1.3.4. В 2012 г. были опубликованы результаты сравнительного исследования эффективности и безопасности лечения хронического гепатита С (ХГС) пегилированным интерфероном (ПегИФН) и рибавирином (РБВ) у 81 больного, получающего фосфазад или

абакавир в схемах АРВТ [18]. Целью данного исследования было определение частоты вирусологического и биохимического ответа, а также частоты и выраженности гематологических отклонений в течение терапии ХГС ПегИФН и рибавирином у больных с ВИЧ-инфекцией в зависимости от комбинации препаратов из группы НИОТ в составе схемы АРВТ.

В зависимости от схемы АРВТ пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (50 человек) – в составе схемы АРВТ был включен фосфазад; 2-я группа (31 человек) – получали абакавир. Кроме того, в составе схемы АРВТ все пациенты получали ламивудин в сочетании с эфавирензом или ингибитором протеазы ВИЧ. Выбор эфавиренза или ингибитора протеазы зависел от исходного уровня аланинаминотрансферазы.

О безопасности как схем АРВТ, так и схем терапии ХГС (ПегИФН + РБВ) судили по изменению показателей периферической крови (уровень гемоглобина, количество нейтрофилов и тромбоцитов), оценку которых в данном исследовании проводили до, через 4, 12 недель после начала терапии ХГС, после завершения курса лечения и спустя 24 недели.

Применение в составе схемы АРВТ препаратов фосфазида, ламивудина и эфавиренза позволило достичь максимальной частоты устойчивого вирусологического ответа – 76,2%. При использовании в составе схем АРВТ препарата фосфазад (по сравнению с абакавиром) как в сочетании с эфавирензом, так и с ингибитором протеазы снижение абсолютного количества CD4+-лимфоцитов в процессе терапии ХГС было менее выраженным. Более того, у больных, получавших фосфазад, через 6 месяцев после завершения курса терапии ХГС количество CD4+-лимфоцитов восстановилось до исходных значений. Применение фосфазида в комбинации с ламивудином и эфавирензом (или ингибитором протеазы) может быть назначено пациентам с ВИЧ-инфекцией и ХГС, которым необходима терапия ПегИФН и РБВ, безопасно, оно не оказывает существенного влияния на показатели периферической крови [18].

1.3.5. В 2010 г. на базе Санкт-Петербургского Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями и специализированного отделения по лечению туберкулеза у ВИЧ-инфицированных Городской туберкулезной больницы №2 г. Санкт-Петербурга были получены данные о результатах применения фосфазида у больных с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом [19]. Целью данного исследования являлось изучение опыта применения фосфазида в составе ВААРТ для лечения больных с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом.

Пациенты были разделены на две группы: 1-я получала в качестве нуклеозидной основы фосфазад в

¹ННИОТ – ненуклеозидные ингибиторы транскриптазы ВИЧ.

сочетании с ламивудином или диданозином, 2-я группа получала препарат Комбивир® (зидовудин + ламивудин), третьим препаратом в обеих группах был эфавиренз. По клиническим характеристикам (формы туберкулезного процесса, стадии ВИЧ-инфекции), возрастным, гендерным особенностям, длительности течения заболевания группы достоверно не отличались. Минимальный срок наблюдения составлял 24 недели. Оценивали вирусологическую и иммунологическую эффективность лечения, а также его безопасность и переносимость.

Через 48 недель терапии иммунологическая эффективность оставалась хорошей и также не отличалась в двух группах. Был зафиксирован прирост CD4+-лимфоцитов, однако применение комбинации, включающей зидовудин, приводило к угнетению гемопоэза, которое наблюдалось с максимальной интенсивностью на 2-м и 3-м месяцах от начала ВААРТ. Применение же фосфазида не приводило к значимым нарушениям уровня клеток крови. Кроме того, за 6 месяцев лечения в группе пациентов, получавших фосфазид, в 54,2% случаев регистрировали выраженную клинико-рентгенологическую динамику туберкулезного процесса, в 8,3% – стабилизацию течения туберкулеза, у 77,8% больных прекратилось бактериовыделение. Таким образом, применение фосфазида в составе различных схем АРВТ (в том числе и с включением ламивудина) у пациентов с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом показало положительный терапевтический эффект на фоне редкого возникновения нежелательных явлений [19].

2. Выбор лекарственной формы

Учитывая вышеописанный клинический опыт применения комбинации фосфазида и ламивудина, позволяющий судить об эффективности и безопасности их совместного применения, следующей стадией разработки является выбор лекарственной формы, который обусловлен прежде всего фармакокинетическими параметрами активных веществ. Ввиду того, что фосфазид и ламивудин хорошо всасываются из ЖКТ, была выбрана пероральная лекарственная форма – таблетка, покрытая пленочной оболочкой.

Использование твердой дозированной пероральной лекарственной формы предпочтительно по ряду неизвестных всем причин, но в данном случае акцент был сделан на таких особенностях высокоактивной антиретровирусной терапии, как прием не менее трех препаратов одновременно и пожизненное лечение. Удобство приема препарата в данном случае играет важнейшую роль. Сочетание в одной лекарственной форме двух действующих веществ позволяет сделать более удобным прием антиретровирусных препаратов, что значительно повышает приверженность к терапии ВИЧ-инфекции у больных, принимающих такие комбинированные препараты.

Ввиду того, что выбор вспомогательных веществ, определение показателей качества ГЛФ, разработка технологии производства ГЛФ, включая методы контроля качества, являются параллельными взаимосвязанными процессами, они были разделены на следующие этапы и стадии с целью получения ГЛФ, снабженной полным комплектом документации для подачи в регуляторные органы:

Этап 1. Лабораторная технология

Стадия 1. Изучение физико-химических свойств субстанций.

Стадия 2. Подбор состава лекарственной формы и наработка лабораторных образцов.

Стадия 3. Завершение разработки лабораторной технологии.

Этап 2. Методы контроля качества

Стадия 1. Разработка методики количественного определения действующих веществ.

Стадия 2. Разработка и валидация нефармакопейных аналитических методик по показателям «Подлинность», «Посторонние примеси», «Растворение». Отработка фармакопейных методик.

Стадия 3. Разработка проекта ФСП, включая разделы «Маркировка», «Упаковка», и проекта макетов первичной и вторичной (потребительской) упаковки.

Этап 3. Опытно-промышленная технология

Стадия 1. Подбор режимов работы оборудования по параметрам, полученным в ходе разработки лабораторной технологии.

Стадия 2. Отработка режимов работы оборудования, описание процесса производства и его валидация.

Стадия 3. Завершение разработки опытно-промышленной технологии.

Этап 1. Лабораторная технология

На этапе разработки лабораторной технологии проводилось изучение свойств субстанций с целью установления отсутствия их химического взаимодействия и подбор вспомогательных компонентов таблетки. Ввиду того, что все порошкообразные вещества – это кристаллические вещества или агломераты аморфных частиц, которые имеют различные физические свойства – сыпучесть, насыпная плотность, прессуемость и др., от них зависит не только технология получения готового продукта, но также и биодоступность препарата, время его распадаемости и растворения.

Основными стадиями данного этапа являются:

Стадия 1. Изучение физико-химических свойств субстанций.

Изучали такие свойства, как химическое взаимодействие при ускоренном хранении, форма кристаллов или их отсутствие, сыпучесть, насыпная плотность, фракционный состав, скорость растворения в воде и 0,1N растворе хлористоводородной кислоты.

Стадия 2. Подбор состава лекарственной формы и наработка лабораторных образцов.

В зависимости от того, какие результаты были получены на первой стадии, определяли способ получения массы для таблетирования. В данном случае был выбран метод сухого гранулирования ввиду высокой гигроскопичности субстанций.

Учитывая тот факт, что содержание действующих веществ превышает 500 мг на одну таблетку, а ее размеры и форма крайне важны при пожизненном применении, была поставлена задача максимально оптимизировать технологию производства и добиться наиболее низкого содержания вспомогательных веществ. В этой связи оказалось невозможным использование стандартных приемов добавления лубрикантов и антифрикционных веществ, и был проведен поиск инновационных решений, применяемых в этой области.

Результатом данного поиска явилось применение современных и усовершенствованных вспомогательных веществ:

- целлюлозы микрокристаллической силицированной (готовый продукт, выпускаемый по запатентованной технологии путем равномерного нанесения кремния диоксида коллоидного на поверхность микрокристаллической целлюлозы), что позволило снизить массу таблетки, сохранить прессуемость при хороших показателях сыпучести, а также обеспечить однородность смеси и, как следствие, оптимальную распадаемость готовой лекарственной формы;

- натрия стеарилфумарата – высокоэффективного лубриканта, обладающего свойствами ускорения распадаемости и растворения таблетки, не придающего неприятного металлического привкуса, обеспечивающего хорошую прочность таблетки, снижающего необходимую силу выталкивания и малочувствительного к увеличению времени перемешивания, что, в свою очередь, позволило объединить финальную стадию опудривания массы для таблетирования с ее гомогенизацией.

Ввиду гигроскопичности активных веществ при выборе покрытия таблетки оболочкой была поставлена задача – подобрать оптимальные условия процесса покрытия в части температуры нанесения пленочной оболочки, концентрации ее в суспензии и процентного соотношения массы оболочки к массе

ядра таблетки. Также подбирали покрытие с гидрофобными свойствами, чтобы предотвратить поглощение влаги таблеткой при ее хранении вне блистера перед приемом, например в таблеточнице. В результате выбор пал на готовое покрытие на основе гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), которое в ходе испытаний показало полное соответствие предъявляемым требованиям.

Также на этапе лабораторной технологии были подобраны материалы упаковки.

Стадия 3. Завершение разработки лабораторной технологии.

Результатом разработки лабораторной технологии являются:

- лабораторный регламент получения готовой лекарственной формы;

- отчет о проведении лабораторных экспериментов с указанием состава лекарственного средства в процентном соотношении, рекомендации по времени и очередности смешивания компонентов, технологических свойств массы для таблетирования и таблеток, таких как фракционный состав, сыпучесть, угол естественного откоса, прочность таблеток, истираемость, скорость и время нанесения покрытия, распадаемость таблеток и их форма;

- рекомендации к разработке опытно-промышленной технологии готовой лекарственной формы.

Этап 2. Методы контроля качества

Цель фармацевтической разработки – создать препарат соответствующего качества и обосновать процесс его производства, чтобы выпускать продукт с заданными функциональными характеристиками. Поскольку качество не может быть полностью проверено в создаваемом препарате, его необходимо заложить при разработке и обеспечить при производстве. Перед началом фармацевтической разработки должен быть определен предварительный набор показателей качества лекарственного препарата и соответствующих норм, достижение которых является гарантией желаемого качества препарата с учетом эффективности и безопасности.

Разработка методов контроля качества начинается на этапе разработки лабораторной технологии [26]. Комплекс параметров качества на этом этапе может включать контроль показателей, связанных с действующим веществом и вспомогательными веществами, взаимодействием препарата как с материалами упаковки, так и с условиями окружающей среды и функционирования оборудования, а также определение частоты мониторинга и контроля в процессе производства. В это же время проводят испытания стабильности препарата в стрессовых условиях, что позволяет

изучить влияние факторов окружающей среды и дает детальные сведения о профиле примесей и поведении лекарственного препарата при хранении и транспортировке в условиях, выходящих за границы норм, при которых обеспечивается стабильность препарата на протяжении заявляемого срока годности.

Стадия 1. Разработка методики количественного определения действующих веществ.

Разработка методики количественного определения действующих веществ методом ВЭЖХ проводилась в процессе разработки лабораторной технологии. К моменту завершения работ по изучению стабильности и написания лабораторного регламента методика была разработана и валидирована.

Стадия 2. Разработка и валидация нефармакопейных аналитических методик по показателям «Подлинность», «Посторонние примеси», «Растворение». Отработка фармакопейных методик.

Целью второй стадии разработки методов контроля качества являлось экспериментальное доказательство пригодности методик для определения подлинности, посторонних примесей и растворения методом ВЭЖХ. Определялись валидационные показатели, такие как специфичность, линейность, сходимость, внутрилабораторная прецизионность, правильность, а также критерии приемлемости. Испытания по показателю «Растворение» проводились в соответствии с ОФС 42-0003-04, а количество фосфазида и ламивудина, перешедшее в раствор, определялось методом ВЭЖХ.

Для подготовки к отработке опытно-промышленного регламента определялись методы контроля качества сырья и вспомогательных материалов.

Отработка фармакопейных методик, специфичных для лекарственной формы «таблетки», таких как «Однородность массы», «Микробиологическая чистота», определение содержания кремния диоксида коллоидного, а также выбор условий хранения и срока годности препарата были предусмотрены данной стадией.

Стадия 3. Разработка проекта ФСП, включая разделы «Маркировка», «Упаковка», и проекта макетов первичной и вторичной (потребительской) упаковки.

На данной стадии был подготовлен проект фармакопейной статьи предприятия, включающий все показатели качества, нормы по которым были установлены и обоснованы на этапах лабораторной технологии и при отработке режимов работы оборудования, описании процесса производства и его валидации на этапе опытно-промышленной технологии. Также была разработана первичная и вторичная упаковка (блистер из пленки ПВХ/ПВДХ и фольги алюминиевой; пачка картонная), учитывающая физико-химические свойства готовой лекарственной формы.

Этап 3. Опытнo-промышленная технология

На этапе разработки опытно-промышленной технологии учитываются все рекомендации, полученные при разработке лабораторной технологии, с целью переноса процесса на промышленное оборудование и определения критических контрольных точек для проведения валидации процесса. Иными словами, опытно-промышленная технология – это этап, на котором необходимо получить полное представление о том, каким будет процесс производства в итоге, т.е. учесть все аспекты разработки препарата, включающие методы внутриоперационного и межоперационного контроля, методы выпускающего контроля качества, а также доклинические и клинические исследования и регистрационные действия.

Стадия 1. Подбор режимов работы оборудования по параметрам, полученным в ходе разработки лабораторной технологии.

На данной стадии решались задачи по проверке режимов смешивания ингредиентов в процессе получения массы для таблетирования, подбор оптимального времени опудривания и гомогенизации полученной массы. Проведение процесса таблетирования и определение наилучших параметров свойств массы для таблетирования, таких как насыпная плотность, фракционный состав, сыпучесть. Были подобраны режимы обеспыливания и покрытия таблеток оболочкой на промышленной установке, отработаны режимы фасовки таблеток в контурную ячейковую упаковку (блистер), а также определены критерии оценки для методов внутриоперационного и межоперационного контроля.

Предварительно на всем оборудовании, планируемом к использованию для производства разрабатываемого препарата, были проведены работы по квалификации стадии PQ с целью установления возможности работы оборудования в соответствии со спецификацией при производстве данного продукта. Было установлено, что оборудование выходит на указанные в спецификациях рабочие режимы.

Стадия 2. Отработка режимов работы оборудования, описание процесса производства и его валидация.

На данной стадии была проведена отработка режимов процесса производства, установленных и описанных на первой стадии. В ходе испытаний была проведена валидация процесса, которая показала, что режимы подобраны верно и процесс воспроизводим. Для статистической обработки результатов, полученных в ходе проведения валидации процесса, были применены статистические методы с использованием карт Шухарта, представленных ниже, на примере валидации процесса производства таблеток-ядер (рисунок 3).

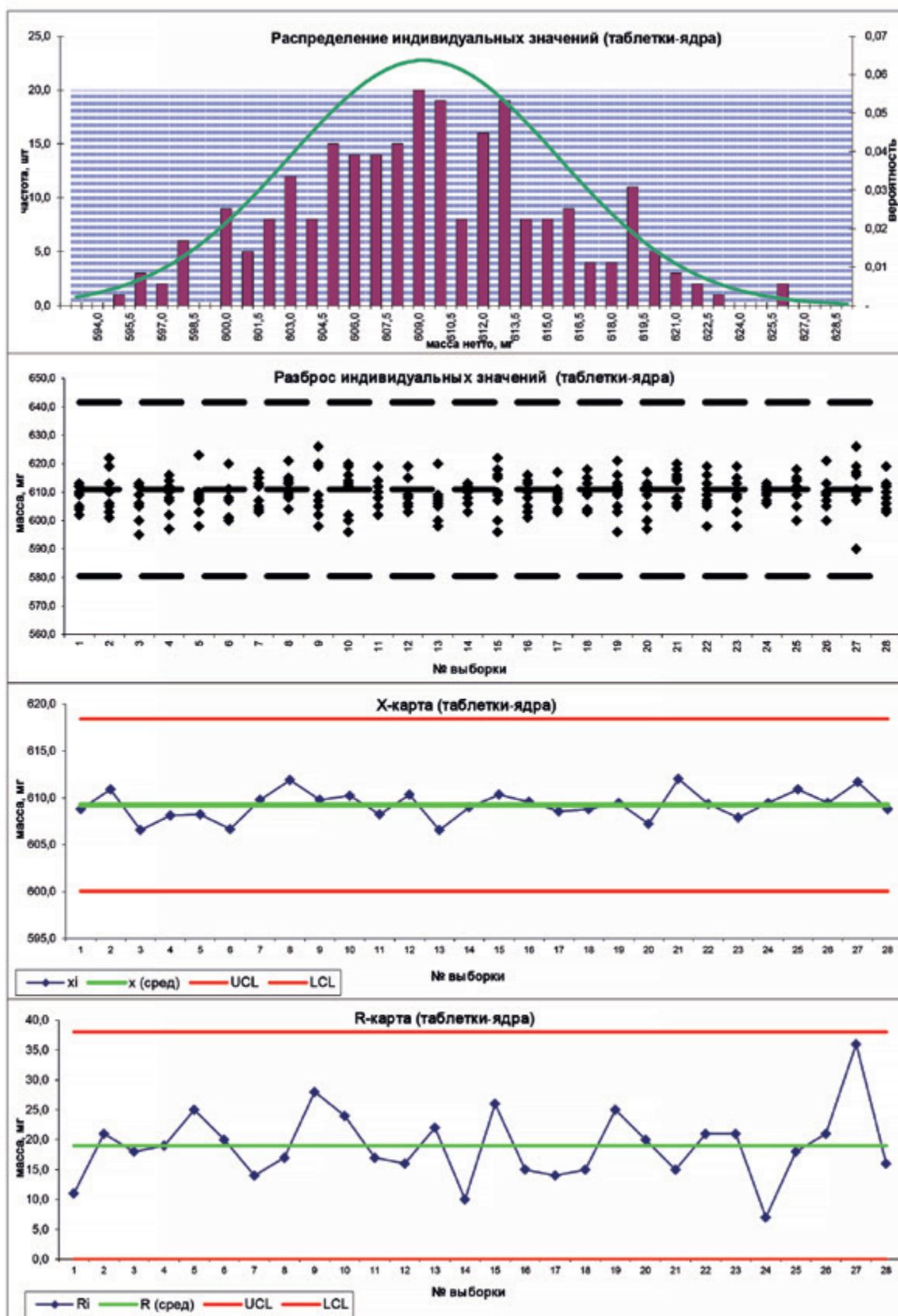


Рисунок 3. Статистический анализ стабильности процесса таблетирования

На графиках приведены данные по распределению значений масс таблеток в соответствии с законом нормального распределения и распределение их индивидуальных значений, из которых следует, что фактические значения масс таблеток в процессе таблетирования стремятся к заданному (номинальному) значению и не выходят за пределы допустимых отклонений при прессовании.

X-карты показывают распределение средних значений подгрупп в генеральной совокупности, а R-карты – разницу между максимальными и минимальными значениями внутри подгрупп выборки, что соответствует критерию стабильного процесса и дает возможность утверждать, что процесс стабилен и вероятное возникновение продукции, не соответствующей требованиям спецификации, на один миллион таблеток составляет менее 0,0066%. Для составления данного отчета использовался ГОСТ Р серии 50779 [20–25].

На основании данных, полученных по X- и R-картам, рассчитываются индексы возможности процесса. Для анализа возможностей процесса используются четыре индекса (таблица 1).

Таблица 1.

Анализ возможностей процесса таблетирования препарата Фосфаладин®

N	252
$\bar{X}_{\text{ср}}$	609,2
$R_{\text{ср}}$	19,0
UCL	381,0
LCL	370,0
Ном.	611,0
USL	641,6
LSL	580,5
$\delta_{\text{проц.}}$	6,3973
C_p	1,59
C_{pk}	1,50

Примечание: C_p и C_{pk} – для статистически стабильных процессов; C_p – индекс воспроизводимости процесса, оценивающий возможность соответствовать техническому допуску без учета положения среднего значения и применяемый для стабильных по разбросу процессов; C_{pk} – индекс воспроизводимости процесса, оценивающий возможность соответствовать техническому допуску с учетом фактического положения среднего значения и применяемый для стабильных и по разбросу, и по настройке процессов; $C_{pk} = C_p (1-k)$, где k – показатель того, насколько хорошо процесс настроен на заданное (номинальное) значение показателя качества; P_p и P_{pk} – для процессов, статистическая стабильность которых не подтверждена.

Индекс процесса C_p – используется для оценки ширины разброса данных по сравнению с диапазоном заданных (номинальных) значений (по данному показателю качества) без учета центрирования процесса.

Если $C_p = 1$, то, возможно, процесс воспроизводим (если центрирован по номинальному значению), если $C_p < 1$, то требуются улучшения процесса, связанные с уменьшением разброса анализируемого параметра.

Для фармацевтической промышленности значение C_p должно быть не менее 1,33 для действующего производства и 1,50 – для нового процесса, это означает, что процесс стабилен и воспроизводим.

Индекс процесса C_{pk} – отображает то, насколько большое количество продукции находится за верхней или нижней границей требований в зависимости от того, с какой стороны дефектной продукции больше.

Если $C_p = C_{pk}$, то процесс центрирован относительно номинального значения показателя качества и распределение значений параметра симметрично относительно номинального значения.

Ввиду соответствия индексов C_p и C_{pk} показателям стабильного процесса расчет индексов P_p и P_{pk} не требуется [20–25].

Стадия 3. Завершение разработки опытно-промышленной технологии.

Результатом разработки опытно-промышленной технологии являются:

- опытно-промышленный регламент получения готовой лекарственной формы;
- отчет о проведении работ по отработке режимов работы оборудования, технологических свойствах массы для таблетирования и таблеток, таких как фракционный состав, сыпучесть, угол естественного откоса, прочность таблеток, истираемость, скорость и время нанесения покрытия, распадемость таблеток и др.;
- рекомендации к разработке промышленной технологии готовой лекарственной формы в части оптимизации процесса производства и снижения уровня потерь;
- проект фармакопейной статьи предприятия.

Для проведения клинических исследований необходимо изготовить 3 промышленных серии, для которых также следует провести валидацию процесса производства.

Разработку и проведение доклинических и клинических испытаний комбинированного лекарственного препарата целесообразно рассмотреть с позиции регуляторных требований [27–33].

ОСОБЕННОСТИ ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ ДАННЫХ О ДОКЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ДОСЬЕ С ЦЕЛЬЮ ЕГО ГОСУДАРСТВЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ

Нормативную базу при доклинической разработке комбинированных лекарственных препаратов в настоящее время составляют: Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств», Ч. 1, а также «Руководство по экспертизе лекарственных средств», Т. III.

В качестве методической базы можно использовать рекомендации международного статуса: EMA. Guideline on the non-clinical development of fixed combination of medicinal products (2008); EMA. Guideline on the non-clinical documentation for mixed marketing authorisation applications (2005); EMA. Guideline on the investigation of drug interactions (2012); ICH M3 (R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (2009).

Комбинация фосфазида и ламивудина классифицируется как фиксированная, оригинальная (новая) комбинация действующих веществ, применяющихся в стандартных схемах комбинированной фармакотерапии, т.е. возможность комбинирования предусмотрено инструкцией по применению.

Целью доклинических исследований препарата являлась не только оценка профиля эффективности и безопасности комбинации, но и изучение свойств разрабатываемой комбинации, а также сравнение свойств комбинации со свойствами монопрепаратов и выявление эффектов взаимодействия (например, потенцирование действия одного из компонентов за счет синергизма).

Поскольку данная комбинация не является воспроизведенной, а данные о взаимодействии референтных препаратов в одной лекарственной форме отсутствуют, компанией-разработчиком «АЗТ ФАРМА К.Б.» были проведены доклинические исследования комбинированного препарата фосфазида и ламивудина в полном объеме.

Далее приводится перечень исследований, проведенных для формирования блока доклинической документации.

Доклиническая фармакология. Целью исследования являлось изучение эффективности комбинированного средства, специфической активности комбинации ламивудина и фосфазида и исследование синергического эффекта данной комбинации.

Исследования эффективности препарата проводились на модели клеток человека, инфицированных ВИЧ-1 (острая инфекция). На данном этапе изучению подлежали противовирусное и цитотоксическое действие лекарственных средств.

Полученные результаты исследования цитотоксического и противовирусного действия как отдельных действующих веществ, так и их комбинации показали, что исследуемые препараты не проявляли цитотоксического действия на клетки, обладали выраженным противовирусным действием в отношении вируса иммунодефицита человека. Также был обнаружен аддитивный и синергидный противовирусный эффект.

Фармакокинетика и метаболизм препарата у животных. Целью исследования являлось изучение фармакокинетических параметров комбинации и ее биодоступности относительно назначения референтных монопрепаратов.

Данный этап позволил обосновать режим дозирования разрабатываемого препарата.

Токсикология. Программа токсикологического исследования включала изучение токсичности и переносимости комбинации субстанций фосфазида и ламивудина в соотношении 8:3 и готового комбинированного лекарственного препарата на мышах, крысах и собаках. Кроме того, было проведено изучение потенциальных мутагенных, эмбриотоксических, тератогенных, аллергизирующих и иммунотоксических свойств препарата, а также исследовано его влияние на репродуктивную функцию.

Анализ результатов токсикологического исследования позволил обосновать дозировку разрабатываемого препарата.

Таким образом, программа доклинических исследований разрабатываемой комбинации, основанная на полноценном научном обосновании ее разработки, позволила судить о токсических свойствах компонентов, их возможном взаимодействии с выявлением эффекта взаимодействия в сравнении с отдельными компонентами и сделала возможной оценку отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения комбинированного лекарственного препарата в медицинской практике [27–30].

Нормативную базу при клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов в настоящее время составляют: Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и «Руководство по экспертизе лекарственных средств», Т. III.

В качестве методической базы можно использовать рекомендации международного статуса: EMA. Guideline on clinical development of fixed combination medicinal products (2009); EMA. Guideline on clinical development of fixed combination medicinal products (draft, 2015), взамен руководства 2009 г.; FDA. Guidance for Industry Codevelopment of Two or More New Investigational Drugs for Use in Combination (2013); WHO. Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products (2005). Также применимы национальные и международные рекомендации по диагностике и лечению целевого заболевания и национальные и международные рекомендации по применению действующих веществ, входящих в состав комбинированных лекарственных препаратов.

Планирование клинического исследования также основывается на классификации изучаемой комбинации. Истинные комбинированные препараты, содержащие фиксированные комбинации действующих веществ, характеризуются следующими признаками:

- единая лекарственная форма;
- заданное содержание активных компонентов;
- одновременный прием всех компонентов;
- невозможность случайной или произвольной отмены одного из компонентов.

Поскольку комбинированный ЛП фосфазида и ламивудина не является воспроизведенным, разработчиком препарата было предусмотрено выполнение следующих регуляторных ожиданий для его регистрации:

- существует высокая потребность практической медицины в предложенном комбинированном ЛП;
- состав действующих веществ комбинированного ЛП обоснован с фармакологической и клинической точек зрения;
- существенный вклад каждого из действующих веществ в общий терапевтический эффект комбинированного ЛП подтвержден результатами доклинических и клинических исследований;
- благоприятное отношение пользы к риску комбинированного ЛП подтверждено результатами доклинических исследований и должно быть под-

тверждено результатами сравнительных клинических исследований, которые в настоящее время близки к завершению.

Также разработчиком комбинированного препарата в процессе подготовки введения его в обращение предусмотрено, что опыт пострегистрационного применения комбинации будет рассматриваться в первую очередь при экспертизе досье препарата с целью подтверждения его государственной регистрации после 5 лет обращения препарата.

Для комбинированного препарата фосфазида и ламивудина в настоящее время проводится предусмотренное требованиями законодательства сравнительное исследование биоэквивалентности на здоровых добровольцах. Целью клинического исследования является оценка безопасности, биодоступности и фармакокинетики комбинированного препарата в сравнении с референтными монопрепаратами фосфазида и ламивудина. Для достижения поставленной цели необходимо выполнение следующих задач:

- оценка фармакокинетических параметров и относительной биодоступности комбинированного препарата по сравнению с референтными монопрепаратами;
- оценка биоэквивалентности исследуемого ЛП препаратам сравнения на основе статистического анализа фармакокинетических данных;
- оценка переносимости и безопасности исследуемого препарата в сравнении с референтными монопрепаратами фосфазида и ламивудина.

Подытоживая, можно определить следующие важнейшие аспекты клинического изучения разрабатываемой комбинации. Препарат должен быть востребован практической медициной, состав действующих веществ должен быть рационально обоснован со всех точек зрения (но не только с позиции маркетинга), а при разработке клинического изучения комбинированного лекарственного препарата необходимо учитывать как фармакологические свойства действующих веществ, так и особенности целевого заболевания [31–33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Осознание эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции в Российской Федерации и низкий охват лечением инфицированных пациентов позволяет сделать вывод, что внедрения стандартов лечения, предусматривающих применение современных схем антиретровирусной терапии на основе дорогостоящих импортных препаратов, недостаточно для улучшения эпидемиологической ситуации в целом [1–3].

Текущий уровень финансирования закупок антиретровирусных препаратов не позволяет в ближайшее время охватить лечением не менее чем 60% ВИЧ-инфицированных пациентов, что, по мнению министра здравоохранения РФ, позволило бы достигнуть к 2023 г. регресса заболевания [3], а значительное увеличение доли антиретровирусных препаратов российского производства планируется только к 2020 году [5]. Таким образом, с позиции фармацевтической промышленности на первый план в борьбе с распространением заболевания выходит разработка и введение в оборот эффективных, безопасных, а главное – доступных российских препаратов для лечения ВИЧ-инфекции в рамках федеральной целевой программы «Фарма-2020», позволяющих обеспечить бесперебойную поставку антиретровирусных препаратов для профилактики и лечения ВИЧ-инфекции во все субъекты Российской Федерации.

Разработанный компанией «АЗТ ФАРМА К.Б.» комбинированный антиретровирусный лекарственный препарат на основе фосфазида и ламивудина полностью укладывается в выбранную на государственном уровне стратегию противодействия распространению ВИЧ-инфекции. Оба действующих вещества хорошо изучены, безопасны, эффективны, широко применяются в схемах терапии ВИЧ-инфекции и входят в перечень ЖНВЛП. Химический синтез и производство фармацевтической субстанции фосфазида осуществляется на территории Российской Федерации. В мае 2015 года была внесена в государственный реестр лекарственных средств фармацевтическая субстанция ламивудина, химический синтез и производство которой налажено отечественным фармацевтическим предприятием. В настоящее время клинические испытания комбинированного лекарственного препарата близки к завершению, а планируемый срок его введения в обращение запланирован на начало 2017 г.

Для изготовления комбинированного лекарственного препарата на территории КП «Технопарк «Строгино»¹ была создана высококласная производственная площадка по выпуску твердых дозированных лекарственных форм с целью увеличения производственных мощностей и расширения научно-исследовательской базы. Инфраструктура технопарка позволяет обеспечить полный цикл разработки, производства и контроля качества лекарственных препаратов для лечения и профилактики вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) в соответствии с национальными стандартами качества и организации фармацевтического производства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2014 г.» (подготовлена в Федеральном научно-методическом центре по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора).
2. Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 1 ноября 2015 г.» (подготовлена в Федеральном научно-методическом центре по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора).
3. Стенограмма заседания Правительственной комиссии по вопросам охраны здоровья граждан. URL: <http://government.ru/news/20196/> (дата обращения 20.01.2016).
4. А.Ф. Хохлов, Б.В. Бровченко, А.А. Смирнов. Применение оригинального отечественного лекарственного препарата для терапии ВИЧ-инфекции в условиях импортозамещения // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 4 (13). С. 182–186.
5. Приказ Минпромторга России от 31 марта 2015 г. № 656 «Об утверждении отраслевого плана мероприятий по импортозамещению в отрасли фармацевтической промышленности Российской Федерации».
6. Приказ Министерств здравоохранения РФ о разрешении применения лекарственных средств № 358 от 05.10.1999 г.
7. Н.В. Сизова, З.В. Губа, С.Э. Торопов, Н.Г. Захарова, А.Г. Рахманова. Фосфазид – отечественный препарат для лечения ВИЧ. Второе рождение // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2012. Т. 4. № 2. С. 45–54.
8. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство / Под ред. акад. РАМН В.В. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. С. 25, 33, 322–324, 336, 489, 580, 584.
9. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых. Национальная вирусологическая ассоциация. Профильная комиссия Минздрава России по проблемам диагностики и лечения ВИЧ-инфекции. Утверждены 10 сентября 2013 г.
10. В.В. Покровский, О.Г. Юрин, А.В. Кравченко, В.В. Беляева, В.Г. Канестри, Л.Ю. Афонина, Т.Н. Ермак, Е.В. Буравцова, В.И. Шахгильдян, Н.В. Козырина,

¹Казенное предприятие «Технопарк «СТРОГИНО» создан в 2007 году правительством Москвы при поддержке Минэкономразвития РФ. Является технопарком полного цикла, состоит в международных организациях IASP и NBIA.

- Р.С. Нарсия, В.Н. Зими́на, А.В. Покровская, Д.С. Конов, В.В. Конов, М.А. Голиусова, О.С. Ефремова, А.А. Попова. Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2013. № 6. С. 18–24.
11. Дж. Бартлетт, Р. Редфилд, П. Фам, А.И. Мазус. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. Российское издание. – М: ГРАНАТ, 2013. С. 53–56, 273–276.
12. С.Н. Быковский, И.А. Василенко, Н.Б. Демина, И.Е. Шохин, О.В. Новожилов, А.П. Мешковский, О.Р. Спицкий. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли. – М. Изд-во Перо, 2015. 528 с.
13. Инструкция по применению лекарственного препарата Эпивир®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг; МНН действующего вещества – ламивудин (П N014918/02 от 11.12.2008), производитель «Глаксо Оперэйшенс Великобритания Лимитед», Великобритания.
14. Инструкция по применению лекарственного препарата Никавир®, таблетки 200 мг, группировочное название действующего вещества – фосфазид, (Р N003864/01 от 05.02.2010), производитель ООО «АЗТ ФАРМА К.Б., Россия.
15. Е.С. Иванова, Н.Н. Воробьева. Трехкомпонентная антиретровирусная терапия ВИЧ-инфекции с применением фосфазида // Материалы V Международной научной конференции «Онкология – XXI век». Сполетто. 2010. С. 170–174.
16. Г.Ф. Мошкович, С.В. Минаева. Исследование применения фосфазида в альтернативных схемах АРВТ у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2013. Т. 5. № 4. С. 57–61.
17. Н.В. Сизова, З.В. Губа, Г.А. Ефимов, К.А. Фадеев, М.Ю. Голиусова, Е.В. Степанова. Ретроспективный анализ применения у ВИЧ-инфицированных пациентов с тяжелым иммунодефицитом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2012. Т. 4. № 4. С. 57–62.
18. А.В. Кравченко, У.А. Куимова, В.Г. Канестри, Н.Ю. Ганкина, Л.В. Серебровская. Применение препарата фосазид в схемах АРВТ у больных с ВИЧ-инфекцией и хроническим гепатитом С, получавших лечение ХГС // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2012. Т. 4. № 2. С. 64–71.
19. А.М. Пантелеев, М.Ю. Голиусова, В.И. Кабанова. Результаты применения фосфазида (никавира) у больных ВИЧ-инфекцией и туберкулезом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2010. Т. 2. № 2. С. 75–79.
20. ГОСТ Р 50779.0-95. Статистические методы. Основные положения.
21. ГОСТ Р 50779.11-2000 (ИСО 3534-2-93). Статистическое управление качеством. Термины и определения.
22. ГОСТ Р 50779.22-2005 (ИСО 2602:1980). Статистические методы. Статистическое представление данных.
23. ГОСТ Р 50779.44-2001. Статистические методы. Показатели возможностей процессов. Основные методы расчета.
24. ГОСТ Р 50779.40-96 (ИСО 7870-93). Статистические методы. Контрольные карты. Общее руководство и введение.
25. ГОСТ Р 50779.42-99 (ИСО 8258-91). Статистические методы. Контрольные карты Шухарта.
26. С.Н. Быковский, И.А. Василенко, М.И. Харченко, А.Б. Белов, И.Е. Шохин, Е.А. Дорина. Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов. – М. Изд-во Перо, 2014. 674 с.
27. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. II. – М.: Гриф и К, 2013.
28. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. – М.: Гриф и К, 2013.
29. А.Н. Васильев. Программы доклинической и клинической разработки лекарственных препаратов // Материалы конференции «Фарммедобращение-2015». Москва.
30. А.Н. Васильев, О.В. Астапова. Материалы семинара «Экспертиза лекарственных средств, процедуры и требования к представляемым материалам». Москва. 2015.
31. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств. Ч. I. – М.: Гриф и К, 2012.
32. А.Н. Васильев, А.В. Добровольский. Материалы семинара «Экспертиза лекарственных средств, процедуры и требования к представляемым материалам». Москва. 2015.
33. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. – М.: Полиграф плюс, 2014.