

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ISSN2305-2066

СТРАТЕГИЧЕСКИЙ ИНФОРМАЦИОННЫЙ ПАРТНЕР

ПРИ ПОДДЕРЖКЕ



Моноблок розлива и укупорки Spectrum

- ✓ розлив жидкостей в бутылки/флаконы малого объема до 6 тыс./ч
- ✓ укупорка различными крышками

26 – 29 ИЮНЯ 2018

Стенд № В217,
пав. 3, зал 15

стр. 238



В НОМЕРЕ:

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ
В ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЯХ
ВЕЛИКОБРИТАНИИ НА ПРИМЕРЕ
УНИВЕРСИТЕТА БАТА

КОМПЛЕКСНОЕ МАРКЕТИНГОВОЕ
ИЗУЧЕНИЕ РОССИЙСКОГО
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ
ИНСПЕКТИРОВАНИЯ ИНОСТРАННЫХ
ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПЛОЩАДОК
НА СООТВЕТСТВИЕ ТРЕБОВАНИЯМ
НАДЛЕЖАЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ
ПРАКТИКИ ЗА 2017 ГОД

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ
ОПТИМУМОВ ВАГИНАЛЬНЫХ ГЕЛЕЙ

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ
ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ
ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ
РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

СИСТЕМА ФАРМАКОНАДЗОРА НА
РЕАЛЬНОМ ПРЕДПРИЯТИИ



СОЗДАНИЕ И МОДЕРНИЗАЦИЯ ПРЕДПРИЯТИЙ «ПОД КЛЮЧ» ОТ ИДЕИ ДО ВЫПУСКА ПЕРВОЙ СЕРИИ ПРЕПАРАТА

ПРОЕКТИРОВАНИЕ

- Концептуальное проектирование
- Проектирование на стадии Проект (П) и Рабочая документация (Р)
- Прохождение экспертизы
- Проведение квалификации DQ
- Автоматизированное проектирование
- Авторский надзор
- Управление проектами

СТРОИТЕЛЬСТВО

- Модульные здания из легковозводимых конструкций
- Реконструкция объектов
- Прокладка инженерных сетей
- Электромонтажные работы
- Внутренние отделочные работы
- Фасадные работы

ИНЖИНИРИНГ И КОМПЛЕКС ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

- Проектирование чистых помещений
- Производство ограждающих конструкций
- Проектирование и монтаж инженерных систем
- Проектирование систем водоподготовки
- IQ/OQ/PQ квалификация и валидация

ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОСНАЩЕНИЕ

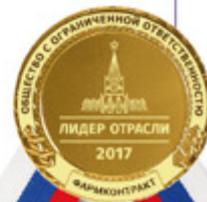
- Подготовка и согласование технического задания, формирование ТКП
- Разработка детальных спецификаций оборудования и сопровождающей документации
- Подбор и поставка оборудования для биотехнологических производств, синтеза субстанций, ГЛФ и упаковки
- Сопровождение поставки, включая SAT и FAT
- Сопровождение валидационных работ IQ/OQ

ЛАБОРАТОРНОЕ ОСНАЩЕНИЕ

- Лаборатории доклинических исследований
- Оснащение клинических лабораторий
- Исследовательские лаборатории
- Испытательные лаборатории
- Микробиологические лаборатории
- Контроль качества радифармпрепаратов
- Масштабирование процессов: от лабораторного до промышленного

СЕРВИС, ВАЛИДАЦИЯ, ОБУЧЕНИЕ

- Сервисное обслуживание
- Квалификация оборудования
- Калибровка
- Валидация
- Инсталляция
- Ввод в эксплуатацию
- Постановка методики
- Клиентский сервис
- Обучение персонала



РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ



Учредитель

Группа компаний «Фармконтракт»
ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет)
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

Директор журнала

Дорина Е.А., к.п.н.

Редакционная коллегия

Главный редактор:

Шохин И.Е., д.фарм.н.

info@pharmjournal.ru

Редактор раздела

«Фармацевтическая технология и нанотехнологии»:

Демина Н.Б., проф., д.фарм.н.

Редактор раздела

«Биотехнология»:

Гусаров Д.А., к.х.н.

Редактор раздела

«Аналитические методики и методы контроля»:

Медведев Ю.В., к.фарм.н.

Редактор раздела

«Эффективность и безопасность лекарственных средств»:

Малашенко Е.А., к.фарм.н.

Редактор раздела

«Регуляторные вопросы»:

Василенко И.А., проф., д.х.н.

Кулинич Ю.И., к.фарм.н.

Мустафин Р.И., к.фарм.н.

Павлов В.М., к.фарм.н.

Павлова Л.А., к.фарм.н.

Палева М.А., к.фарм.н.

Смирнов В.В., к.фарм.н.

Ташлицкий В.Н., к.х.н.

Хуторянский В., проф.

(Великобритания)

Боян Салия (Сербия)

Книттер Х.-Ю. (Германия)

Поль Смит (Великобритания)

Дизайн-концепция:

Григорьев В.А.

Михайлова Н.С.

info@phct-media.ru

Редактор-корректор:

Троицкая Е.Н.

Адрес редакции

Россия, 115516, Москва,
ул. Промышленная, д. 11/3, оф. 419
+7 (495) 720 42 20

info@pharmjournal.ru

www.pharmjournal.ru

Отпечатано в типографии

ООО «Юнион Принт»
Россия, 603022, Н. Новгород,
ул. Окский съезд, 2

Ответственность за опубликованные материалы несут авторы

Свидетельство о регистрации СМИ:

ПИ №ФС77-60744 от 11 февраля 2015 г.
выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций

ISSN 2305-2066

Журнал зарегистрирован в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ)

Тираж 40000 экземпляров

Журнал выходит один раз в квартал

Подписной индекс в каталоге

«Пресса России» 57964

Цена свободная

Founder

«Pharmcontract» Group of Companies
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Siberian State Medical University

Journal director

Dorina E.A., PhD

Editorial board

Editor-in-chief:

Shohin I.E., PhD

info@pharmjournal.ru

Editor of

«Pharmaceutical Technology and Nanotechnology» part:

Diomina N.B., prof., PhD

Editor of

«Biotechnology» part:

Gusarov D.A., PhD

Editor of

«Analytical and Quality Control Methods» part:

Medvedev Y.V., PhD

Editor of

«Drug Products Efficacy and Safety»

part:

Malashenko E.A., PhD

Editor of

«Regulatory Issues» part:

Vasilenko I.A., prof., PhD

Rusinov V.L., RAS c.-m., PhD

Belousov M.V., prof., PhD

Emshanova S.V., PhD

Knyazev A.S., as.prof., PhD

Makeev O.G., prof., PhD

Popov V.V., prof., PhD

Slivkin A.I., prof., PhD

Stanishevskiy Ya.M., prof., PhD

Smekhova I.E., PhD

Sysuev B.B., as.prof., PhD

Chuchalin V.S., PhD

Ammur Yu.I., PhD

Kulinich J.I., PhD

Moustafine R.I., PhD

Pavlov V.M., PhD

Pavlova L.A., PhD

Paleeva M.A., PhD

Smirnov V.V., PhD

Tashlitskiy V.N., PhD

Khutoryanskiy V., prof., PhD (UK)

Bojan Calija, as.prof., PhD (Serbia)

Knitter H.-J. (Germany)

Paul Smith (UK)

Design concept:

Grigoriev V.A.

Mikhaylova N.S.

info@phct-media.ru

Corrector:

Troitskaya E.N.

Media registration certificate:

ПИ №ФС77-60744, February 11, 2015,
given by Federal Service for Supervision
in the Sphere of Telecom, Information
Technologies and Mass Communications
(ROSKOMNADZOR)

ISSN 2305-2066

Journal is registered in Russian index of scientific citation

Circulation: 40000 copies

A peer-reviewed quarterly journal

Index listing

«The Russian Press» 57964

Free Price

Editorial office address

11/3, office 419, Promyshlennaya str.,
115516, Moscow, Russia
+7 (495) 720 42 20

info@pharmjournal.ru

www.pharmjournal.ru

Printing office

Union Print LLC
2, Okskiy s'ezd,
603022, N. Novgorod, Russia



Содержание

Contents

- | | | |
|--|-----------|---|
| От редакции | 6 | Introduction |
| Мероприятия | 8 | Events |
| Раздел «Фармацевтическая технология и нанотехнологии» | | «Pharmaceutical Technology and Nanotechnology» part |
| Секция «Современные технологии создания лекарственных форм» | | «Modern Technology of Creating Dosage Forms» section |
| <i>Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В., Минаев С.В.</i> | 26 | <i>Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseyev K.V., Minaev S.V.</i> |
| СОЗДАНИЕ ЛИОФИЛИЗАТА ГК-2 ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПОЛИОЛОВ | | CREATION OF LOOPHILISATE OF GK-2 FOR PREPARATION OF SOLUTION FOR INJECTIONS WITH USE OF POLYOLS |
| <i>Словеснова Н.В., Петров А.Ю., Главатских С.А., Бойко В.И., Кинев М.Ю., Кузнецов А.В.</i> | 32 | <i>Slovesnova N.V., Petrov A.Yu., Glavatskikh S.A., Boyko V.I., Kinev M.Yu., Kuznetsov A.V.</i> |
| ПОЛУЧЕНИЕ ТАБЛЕТОК С СОЧЕТАНИЕМ ЭКСТРАКТА ГИНКГО И ВИНПОЦЕТИНА | | PREPARATION TECHNOLOGY OF TABLETS WITH COMBINATIONS OF THE EXTRACT OF GINKGO AND VINPOCETIN |
| Секция «Создание новых лекарственных средств» | | «Creation of new drugs» section |
| <i>Кодина Г.Е., Малышева А.О., Таратоненкова Н.А., Лямцева Е.А., Константинов Н.А.</i> | 38 | <i>Kodina G.E., Malysheva A.O., Taratonenkova N.A., Lyamtseva E.A., Konstantinov N.A.</i> |
| СИНТЕЗ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА, МЕЧЕННОГО РЕНИЕМ-188 И СОДЕРЖАЩЕГО ЛИПИДОЛ | | SYNTHESIS OF RADIOPHARMACEUTICAL WITH RHENIUM-188 AND LIPIODOL |
| Секция «Технологический контроль лекарственных форм» | | «Technological control of dosage forms» section |
| <i>Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Подколзин А.М., Кречетов С.П.</i> | 46 | <i>Anurova M.N., Bakhrushina E.O., Podkolzin A.M., Krechetov S.P.</i> |
| ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ ОПТИМУМОВ ВАГИНАЛЬНЫХ ГЕЛЕЙ | | THE DETERMINATION OF RHEOLOGICAL OPTIMUM OF VAGINAL GELS |
| <i>Гуляев В.Г., Гуляев И.В.</i> | 52 | <i>Gulyaev V.G., Gulyaev I.V.</i> |
| СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ПНЕВОТРАНСПОРТИРУЕМОГО СЫПУЧЕГО МАТЕРИАЛА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ, ОСНОВАННЫЙ НА ЭФФЕКТЕ ПОККЕЛЬСА | | METHOD FOR MEASURING THE AMOUNT OF PNEUMATIC TRANSPORTED BULK MATERIAL IN PHARMACEUTICAL PRODUCTION, BASED ON THE POKKELS' EFFECT |
| Секция «Лекарственные средства из природного сырья» | | «Drugs from natural raw materials» section |
| <i>Комаров Б.А., Погорельская Л.В., Албулов А.И.</i> | 58 | <i>Komarov B.A., Pogorel'skaya L.V., Albulov A.I.</i> |
| ОБ ЭЛЕМЕНТЕ ГЕРМАНИЙ И ЕГО СОДЕРЖАНИИ В НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЯХ | | ON THE GERMANIUM ELEMENT AND ITS CONTENT IN SOME HERBAL PLANTS |
| Секция «Проекты профессиональных стандартов» | | «Projects of Professional Standards» section |
| <i>Печенников В.М., Кузина В.Н., Медведев Ю.В., Малашенко Е.А., Колганова М.А.</i> | 62 | <i>Pechennikov V.M., Kuzina V.N., Medvedev Y.V., Malashenko E.A., Kolganova M.A.</i> |
| ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ В ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЯХ ВЕЛИКОБРИТАНИИ НА ПРИМЕРЕ УНИВЕРСИТЕТА БАТА | | PHARMACEUTICAL EDUCATION IN THE GREAT BRITAIN ON THE EXAMPLE UNIVERSITY OF BATH |

**Раздел «Аналитические методики
и методы контроля»****Секция «Контроль качества
химико-фармацевтических препаратов»**

Успенская Е.В., Кешишян А.А., Никифорова М.В.,
Плетенева Т.В., Сыроешкин А.В.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ
КИНЕТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ РАСТВОРЕНИЯ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ СУБСТАНЦИИ ТОПИРАМАТ
МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДИФРАКЦИИ СВЕТА

Баклыков А.В., Тумашов А.А., Котовская С.К.,
Уломский Е.Н., Русинов Г.Л., Русинов В.Л.,
Артемьев Г.А., Копчук Д.С., Чарушин В.Н.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ 5-МЕТИЛ-6-НИТРО-
7-ОКСО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[1,5-*a*]ПИРИМИДИНИДА
/-АРГИНИНИА МОНОГИДРАТА – ДЕЙСТВУЮЩЕГО
ВЕЩЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА
«ТРИАЗИД» – МЕТОДОМ ВЭЖХ

**Секция «Поиск и разработка новых
лекарственных средств»**

Комесс С., Шампеттер Ф., Саркисян З.М.,
Карасавиди А.О., Кириллова Е.Н., Булангас С.

К ВОПРОСУ О СИНТЕЗЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ПИРИДИНА И ПИРРОЛА

Тарадейко Т.И., Галашева С.Н., Кутькина Д.Н.,
Щенникова О.Б., Иоэп А.А.

СИНТЕЗ N-АРИЛИДЕНГИДРАЗИДОВ
КАРБОКСИЭТИЛАЛЬГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Новикова В.В., Русских А.А.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ
АКТИВНОСТИ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ РЯДА
СЕРЕБРЯНЫХ СОЛЕЙ ПИРАЗОЛ-3-КАРБОКСАМИДОВ
IN VITRO

Кошевенко А.С., Юсковец В.Н., Ананьева Е.П.,
Яковлев И.П., Семакова Т.Л.

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1,3,4-ТИАДИАЗОЛА,
ОБЛАДАЮЩИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ

Секция «Контроль качества биопрепаратов»

Кукунина Т.В., Исрафилов А.Г., Романенкова М.Л.,
Гайнуллина Р.С., Федько Л.Г.

ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ ПРЕПАРАТОВ
АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА НА СОДЕРЖАНИЕ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ

Тринева О.В., Халахакун А.Д.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ
НОСИТЕЛЕЙ И КЛЕТОЧНЫХ ФОРМ ВИНКРИСТИНА И
ВИНБЛАСТИНА ПРИ ХРАНЕНИИ

**«Analytical and Quality Control Methods»
part****«Quality Control of Chemical Drug Products»
section**

72 Uspenskaya E.V., Keshishian A.A., Nikiforova M.V.,
Pletneva T.V., Syroeshkin A.V.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD
OF KINETIC EVALUATION OF MEDICAL SUBSTANCE
TOPIRAMAT DISSOLUTION BY LASER DIFFRACTION
OF LIGHT METHOD

78 Baklykov A.V., Tumashov A.A., Kotovskaya S.K.,
Ulomsky E.N., Rusinov G.L., Rusinov V.L.,
Artem'ev G.A., Kopchuk D.S., Charushin V.N.

METHOD OF DETERMINATION OF 5-METHYL-6-NITRO-
7-OXO-1,2,4-TRIAZOLO[1,5-*a*]PIRIMIDINIDE
/-ARGININE – THE ACTIVE COMPONENT OF DRUG
«TRIAZID» BY HPLC METHOD

**«New Drug Search and Development»
section**

84 Comesse S., Champetter Ph., Sarkissyan Z.M.,
Karasavidi A.O., Kirillova E.N., Bulangas S.

TO THE QUESTION OF SYNTHESIS AND
STANDARDIZATION OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE
PYRIDINE AND PYRROLE DERIVATIVES

86 Taradeyko T.I., Galasheva S.N., Kutkina D.N.,
Schennikova O.B., Iozepe A.A.

SYNTHESIS OF N-ARILIDENHYDRAZIDE
OF CARBOXYETHYLALGINIC ACID

92 Novikova V.V., Russkih A.A.

THE INVESTIGATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY
OF NEW SILVER SALT OF PYRAZOL-3-CARBOXAMIDES
IN VITRO

96 Koshevenko A.S., Yuskovets V.N., Ananyeva E.P.,
Yakovlev I.P., Semakova T.L.

NEW 1,3,4-TIADIAZOLE DERIVATIVES WITH
ANTIBACTERIAL ACTIVITY

«Biochemicals Quality Control» section

100 Kukunina T.V., Israfilov A.G., Romanenkova M.L.,
Gaynullina R.S., Fedko L.G.

PECULIARITIES OF CONTROL OF HUMAN
ALBUMIN DRUGS ON THE CONTENT OF BACTERIAL
ENDOTOXINS

110 Trineeva O.V., Halahakoon A.J.

STUDY OF STABILITY OF CELL CARRIERS
AND CELLULAR FORMS OF VINKRISTIN
AND VINBLASTIN IN STORAGE



Секция «Контроль качества лекарственного растительного сырья»

*Чебышев Н.В., Черкас В.В., Стреляев Н.Д.,
Кузнецов Р.М., Сологова Д.И., Давосыр Е.П.*

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СПИРТОВОГО
ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПИЖМЫ БАЛЬЗАМИЧЕСКОЙ

Дьякова Н.А., Мындра А.А., Сливкин А.И.

БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО, СОБРАННОГО В
РАЙОНАХ, ИСПЫТЫВАЮЩИХ АНТРОПОГЕННУЮ
НАГРУЗКУ

**Раздел «Эффективность
и безопасность лекарственных
средств»**

Секция «Кинетика растворения»

*Гребенкин Д.Ю., Устинова Е.Д., Горбачева С.Ю.,
Фаева А.К., Казей В.И., Рябова А.В.*

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ
ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ ВАЛЬПРОЕВОЙ
КИСЛОТЫ РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Секция «Доклинические исследования»

*Лунёва К.А., Лунёв А.С., Клементьева О.Е.,
Терновская К.Э., Астрелина Т.А.*

ИЗУЧЕНИЕ ПУТЕЙ МИГРАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ЖИВОТНЫХ С
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ЛУЧЕВЫМ ОЖОГОМ
КОЖНЫХ ПОКРОВОВ

Колотова Н.В., Рудакова И.П.

АНТИАРРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
МОНОЗАМЕЩЕННЫХ АМИДОВ И ГИДРАЗИДОВ
1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

*Голованенко А.Л., Рудакова И.П., Алексеева И.В.,
Березина Е.С., Новикова В.В.*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ
АКТИВНОСТИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ
ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ДЕНТИНА

Секция «Клинические исследования»

Косенкова С.И., Краснюк И.И., Краснюк (мл.) И.И.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАФТИФИНА ГИДРОХЛОРИДА И
ПРЕИМУЩЕСТВА ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Раздел «Регуляторные вопросы»

Орлов В.А.

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ ИНСПЕКТИРОВАНИЯ
ИНОСТРАННЫХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ
ПЛОЩАДОК НА СООТВЕТСТВИЕ ТРЕБОВАНИЯМ
НАДЛЕЖАЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКИ
ЗА 2017 ГОД

**«Quality Control of Herbal Drug Products»
section**

116 *Chebyshev N.V., Cherkas V.V., Strelaev N.D.,
Kuznecov R.M., Sologova D.I., Davosir E.P.*

STUDING THE CHEMICAL COMPOSITION
OF ALCOHOL EXTRACTION TANSY BALSAMIC

120 *Dyakova N.A., Mundra A.A., Slivkin A.Y.*

SAFETY AND EFFICIENCY OF MEDICINAL VEGETABLE
RAW MATERIALS OF THE *TARAXACUM OFFICINALE*,
COLLECTED IN THE DISTRICTS EXPERIENCING THE
ANTHROPOGENIC STRAIN

**«Drug Products Efficacy and Safety»
part**

«Dissolution Profile Test» section

124 *Grebenkin D.Yu., Ustinova E.D., Gorbacheva S.Yu.,
Faeva A.K., Kazey V.I., Ryabova A.V.*

DISSOLUTION PROFILE STUDY OF EXTENDED RELEASE
VALPROIC ACID DRUG PRODUCTS FROM DIFFERENT
MANUFACTURERS

«Preclinical Trials» section

130 *Lunyova K.A., Lunyov A.S., Klementyeva O.E.,
Ternovskaya K.E., Astrelina T.A.*

STUDY OF THE WAYS OF MESENCHYMAL STEM
CELLS MIGRATION IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL
RADIATION SKIN BURNS

136 *Kolotova N.V., Rudakova I.P.*

ANTIARRHYTHMIC ACTIVITY MONOGAMISTIC
AMIDES AND HYDRAZIDES 1,4-DICARBOXYLIC
ACIDS

140 *Golovanenko A.L., Rudakova I.P., Alekseeva I.V.,
Berezina E.S., Novikova V.V.*

THE STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY
OF NEW MEDICINAL FORMS FOR THE TREATMENT
OF CARIES OF THE DENTIN

«Clinical Trials» section

144 *Kosenkova S.I., Krasnyuk I.I., Krasnyuk (Jr.) I.I.*

THE USE OF NAFTIFINI HYDROCHLORIDE AND ITS
ADVANTAGES IN THE TREATMENT OF VARIOUS TYPERS
OF FUNGAL DISEASES

«Regulatory Issues» part

150 *Orlov V.A.*

OVERVIEW OF GMP INSPECTIONS RESULTS OF
FOREIGN MANUFACTURING SITES IN 2017

Трухин В.П., Наркевич И.А., Начарова Е.П., Уйба С.В.,
Басакина И.И.

ПОТЕНЦИАЛ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В
ЭКСПОРТЕ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН В
СТРАНЫ ЛАТИНОАМЕРИКАНСКОГО РЕГИОНА

Зверева В.И., Семкин О.А., Грибкова Е.И.

КОМПЛЕКСНОЕ МАРКЕТИНГОВОЕ ИЗУЧЕНИЕ
РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И
ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ

Секция «Фармаконадзор»

Ситникова Е.А., Марданлы С.Г., Рогожникова Е.П.

СИСТЕМА ФАРМАКОНАДЗОРА НА РЕАЛЬНОМ
ПРЕДПРИЯТИИ

156 Trukhin V.P., Narkevich I.A., Nacharova E.P., Uiba S.V.,
Basakina I.I.

POTENTIAL OF THE RUSSIAN FEDERATION IN
EXPORTS OF ANTI-INFLUENZA VACCINES IN LATIN
AMERICAN COUNTRIES

164 Zvereva V.I., Semkina O.A., Gribkova E.I.

COMPREHENSIVE MARKETING STUDY
OF THE RUSSIAN PHARMACEUTICAL MARKET DRUGS
FOR PREVENTION AND TREATMENT OF DISEASES
OF THE THYROID GLAND

«Pharmacovigilance» section

170 Sitnikova E.A., Mardanly S.G., Rogozhnikova E.P.

THE SYSTEM OF PHARMACOVIGILANCE
AT A PHARMACEUTICAL PLANT

Публикации партнеров 174 Partner Publications

visiopharma
Serialization Solutions

Стр. 232

**IJS -
200
Series**

**КОМПЛЕКСНОЕ РЕШЕНИЕ
по сериализации и агрегации**



Уважаемые коллеги, рады представить вам майский номер журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Каждый новый выпуск журнала – это не только интересные и актуальные материалы, отражающие динамику фармацевтического рынка России, сообщающие о перспективных разработках фармкомпаний, лабораторий и научных сотрудников лучших медико-фармацевтических вузов России. Практически в каждом номере у нас появляются новые секции, которые со временем становятся постоянными. Так случилось с секцией о проектах профессиональных стандартов. В прошлом номере здесь были размещены материалы, посвященные разработке наноструктурированной фармацевтической продукции, в этом номере – об образовании. Последняя тема всегда была и будет актуальна не только для нашей страны. Именно поэтому мы стараемся представить вам, наши дорогие читатели, наиболее успешные кейсы по консолидации вузов и фармзаводов различных стран. Данная тема всегда вызывала и будет вызывать большой интерес, поскольку практически ни один выпускник вуза сразу после его окончания не готов приступить к полноценной работе, а вопросы кадрового дефицита на фармпредприятиях страны, с одной стороны, и проблем трудоустройства молодых специалистов, окончивших фармфакультет, с другой стороны, остаются нерешенными. Инициированная премьер-министром России реформа Министерства образования и науки во многом обусловлена серьезным разрывом между теоретической подготовкой молодых кадров и их практическими навыками, спрос на которые формируют работодатели. В секции о профессиональных стандартах мы стараемся рассказать вам обо всех планируемых изменениях, а также приглашаем вас представить свои проекты профстандартов.

Среди новых – старых секций в этом номере вы сможете познакомиться с особенностями организации системы фармаконадзора на реальном предприятии. В постоянном разделе «Регуляторные вопросы» сотрудники ФБУ «ГИЛС и НП»

представили для вас результаты инспектирования иностранных фармпроизводств за 2017 год на соответствие стандартам надлежащей производственной практики, а наши партнеры из Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета со своими коллегами провели анализ экспортного потенциала противогриппозных вакцин.

Изменилась и политика журнала в области освещения мероприятий.

Как вы знаете, ровно год назад нами был запущен новостной информационный ресурс, посвященный вопросам надлежащей лабораторной практики, – Новости GLP. Мы рады, что проект оказался полезным для вас и пользуется популярностью, привлекает с каждым днем все больше подписчиков. В этой связи на страницах ежеквартального научно-производственного журнала из перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, теперь будут публиковаться материалы о прошедших мероприятиях, ранее не вошедших в новостную ленту информационного ресурса, либо расширенные материалы о ключевых для фармрынка событиях.

Еще одним нововведением, которое так долго ждали наши читатели, становится появление электронной версии как самого журнала, который вы теперь можете читать со всех своих гаджетов, не дожидаясь выхода номера из типографии, так и иных научных изданий, когда-либо вышедших при поддержке нашего СМИ.

Надеемся, что новый номер и все произошедшие изменения будут полезны для вас.

*С уважением, Редакция журнала
«Разработка и регистрация
лекарственных средств»*

САМЫЕ ЧИТАЕМЫЕ И ВОСТРЕБОВАННЫЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМ РЫНКОМ

бесплатные*
ЖУРНАЛЫ
от ГК "Фармконтракт"



www.pharmjournal.ru

Научно-производственный
рецензируемый журнал
**«Разработка и регистрация
лекарственных средств»**

www.gmpnews.ru

Первый информационный
проект о надлежащих
производственных практиках
«Новости GMP»

www.cleanrooms.ru

Научно-практический
журнала
**«Чистые помещения
и технологические среды»**

Только проверенная актуальная информация и экспертные мнения!

* Подробности уточняйте в редакциях

«РОССИЙСКИЙ ДЕНЬ РЕДКИХ ЗЕМЕЛЬ» – ЭТО НЕ ПРО ЗЕМЛИ, А ПРО РЕДКИЕ МЕТАЛЛЫ

15–16 февраля в ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова прошла IV Всероссийская конференция с международным участием, посвящённая важнейшим аспектам и общемировым тенденциям в химии редкоземельных металлов. Именитые ученые-химики, специализирующиеся в области металлоорганической, координационной, биомедицинской химии, а также материаловедения и катализа, не только обсудили свои достижения, но и познакомились с новинками в области оборудования, которое помогает если не открывать новые материалы, то осуществлять исследование их свойств.



15 февраля в Москве без шума и помпезности открылась конференция «**Российский день редких земель**». Однако конференция была посвящена не исследованию почвы или показателям ее плодородия, как можно подумать исходя из названия. Тема конференции – химия редкоземельных металлов (РЗМ), включая органические, неорганические, координационные и гибридные производные, а также неорганические материалы на основе РЗМ.

Приветствуя гостей конференции, академики **И.Л. Еременко**, **А.М. Музафаров**, профессор **М.Н. Бочкарев** отметили, что ежегодные многочисленные международные и национальные конференции, посвященные синтезу, строению, химическим, люминесцентным, магнитным свойствам органических и неорганических производных лантаноидов, отражают непреходящую актуальность этой тематики. На конференции обсуждались вопросы разработки новых природосберегающих синтетических методов, создания материалов органической фотоники, полифункциона-

льных магнитных материалов, специальных композитных материалов, обладающих заданным комплексом свойств, физиологически активных препаратов и соединений для биомедицинского применения. Эти исследования трудно представить без соответствующего парка оборудования.

Например, представленная партнером конференции **ГК «Фармконтракт»** флэш-система **Reveleris X2** позволяет обнаруживать вещества и примеси даже при работе с максимальным спектром образцов. А партнеры холдинга познакомили участников мероприятия с методом лазерной дифракции при исследовании кристаллических частиц бисфосфонатов лантана, празеодима, неодима, европия и гадолиния на анализаторе размеров частиц **Beckman-Coulter LS 13320**. Анализатор LS 13320 представляет собой современный надёжный, удобный инструмент для оперативного получения достоверных и воспроизводимых данных по распределению частиц по разме-



рам, в том числе форма которых сильно отличается от сферы.

Стоит отметить, что лантаниды находят широкое применение и в области фармации. Об этом как раз и говорила **Асия Мустафина**: «Уникальные фотофизические характеристики лантанид-центральной люминесценции являются причиной огромного интереса к солям, оксидам и комплексам лантанидов при создании биомаркеров и биосенсоров. При этом наибольшее использование в качестве биомаркеров в условиях *in vitro* нашли оксиды лантанидов как компоненты наночастиц. Однако низкий квантовый выход люминесценции, многоступенчатый синтез, требующий высоких температур и органических растворителей, наночастиц на основе оксидов лантанидов являются причиной поиска альтернативных наночастиц с лантанид-центральной люминесценцией. Более того, нано-



частицы на основе оксидов лантанидов являются менее перспективной платформой для создания сенсоров, чем комплексы лантанидов и наночастицы на их основе». Докладчик представила результаты проекта по созданию в ИОФХ им. **А.Е. Арбузова** контрастных агентов и сенсоров энзиматического гидролиза ацетилхолина в мышечных тканях для мониторинга выделения эндогенного ацетилхолина и его энзиматического гидролиза при электростимуляции мышечных тканей и воздействии веществ-ингибиторов эндогенного энзима – ацетилхолинэстеразы.

Что еще происходило на конференции?

Тайный мир химии: networking с теми, кого мы знаем по учебникам. Научное сообщество – это особый мир, который интересуется не только новинками оборудования, но и опытом коллег, который можно интегрировать в свою работу. Потому в кулуарах конференции были слышны не абстрактные разговоры об актуальных проблемах развития химии редкоземельных элементов, выборе приоритетных направлений исследований с точки зрения коммерциализации последних. Все больше можно было уловить разговоры о синтезе и каталитической активности алкильных комплексов Ln(II) с бензгидрильными лигандами. Или попасть на доклад о лантанидах в качестве основы для сенсоров и маркеров *ex vivo* и *in vivo*. Темы очень специфичны, но крайне интересны для тех, кто посвятил свою жизнь органической и неорганической химии.

Молодежь не обошли стороной. Как обычно, на конференции не забыли и про молодых ученых, которым предоставили право рассказать о своих первых шагах в исследовании мира лантаноидов. Специально для этого в программу конференции включили молодежную школу «Соединения лантаноидов для органической фотоники и функциональных материалов», которая проводится в рамках проекта РНФ 17-73-30036

В целом IV Всероссийская конференция «Российский день редких земель», по отзывам участников, оказалась крайне интересной и плодотворной.



16-Я МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА «АНАЛИТИКА ЭКСПО»

24 апреля в КВЦ «Сокольники» стартовала ежегодная выставка лабораторного оборудования и химических реактивов – «Аналитика Экспо». В этом году сроки выставки немного сдвинуты и вместо традиционного Дня космонавтики мероприятие начало работать 24 апреля. Отечественная конгрессно-выставочная индустрия вынуждена была сдвинуть график из-за пересечения дат с важнейшим событием в мире аналитического приборостроения и решений для оснащения лабораторий – выставкой *Analitica* (г. Мюнхен). Но это несколько не повлияло на традиционное обилие уже в первый день знаковых событий. А вот количество представляемого экспонентами оборудования существенно сократилось, хотя ряд производителей аналитического оборудования, контрольно-измерительных приборов и лабораторной мебели все же оставил некоторые новинки для российского рынка.



«Аналитика Экспо» — выставка контрольно-измерительных приборов, лабораторной мебели, химических реактивов и материалов, биотехнологий и диагностики, а также оборудования для исследования наноматериалов и наноструктур, приборов и систем для нанотехнологии. А еще это место проведения лучших мастер-классов и семинаров, привлекающих в конгрессно-выставочный центр не только химиков-аналитиков, но и сотрудников лабораторий пищевой и фармпромышленности. Во многом обусловлено это тем фактом, что на «Аналитика Экспо» представлен самый обширный ряд оборудования для всех типов лабораторий.

В первый день выставки стал очевиден интерес посетителей к весовому оборудованию, которое в ассортименте было представлено на стенде ГК «Фармконтракт»:

- аналитические весы **VIBRA HT 224RCE** со специальным классом точности (I) по OIML R 76-1-2011,
- многофункциональные электронные весы **VibRA LN 423RCE** с дискретностью 0,001 г высокого класса точности с MAX до 420 г и встроенной калибровкой,
- электронные лабораторные весы **VibRA ALE-6202R** для высокоточного измерения массы твёрдых, жидких и сыпучих веществ,
- лабораторно-промышленные весы **VIBRA FS 15001-i02** с высоким классом точности (II) по OIML R 76-1-2011;
- лабораторные весы **OHAUS NVL2101** с точностью 0,1 г,



- лабораторные весы **Radwag AS220** с увеличенным количеством единиц измерения, в которых может проводиться взвешивание,
- профессиональные аналитические весы **Radwag XA 210.4Y**, позволяющие брать навески массой несколько грамм с точностью до 7 знака и с дискретностью 0,00001.

Особый интерес у микробиологов вызвал впервые представленный автоматический бактериологический анализатор **bioMérieux VITEK2 Compact 30**, предназначенный для идентификации грамотрицательных палочек, грамположительных кокков, анаэробных бактерий, нейссерий, гемофильных палочек, коринбактерий, лактобактерий, бацилл и грибов. Не обошли стороной микробиологи и продукцию Sartorius. В частности, только на стенде ГК «Фармконтракт» можно было увидеть систему водоподготовки **arium mini UV**, позволяющую получать ультрачистую воду. Здесь же можно было познакомиться с механическими дозаторами **серии LH** и с новой, младшей моделью в семействе ферментеров **BIOSTAT® – Biostat A**, разработанной для легкого контроля над ростом клеток или процессом ферментации.



Из новинок, представленных на самом крупном стенде выставочной экспозиции «Аналитика Экспо», следует отметить продукцию корейской компании Daihan, способную составить ценовую конкуренцию при сохранении высокого уровня качества европейс-

ким производителям схожего сегмента оборудования. В этот раз российский лидер отрасли представил из немалого спектра возможностей Daihan водяную баню **WB-11** с цифровым управлением для нагрева, выпаривания и других задач термической обработки проб, и циркуляционную водяную баню **WCB-6** для точного поддержания температуры при проведении измерений физико-химических свойств веществ. Помимо этого, гости выставочного комплекса могли увидеть в действии микроцентрифуги **MaXpin C-6mt** и **Cef-8**, гомогенизатор **HG-15A-Set-A**, позволяющий получать эмульсии и суспензии высокой дисперсности; муфельную печь **FX-12** для отжига, прокаливания, сплавления и иных высокотемпературных операций.



«АНАЛИТИКА ЭКСПО-2018» ОПРОВЕРГЛА ВЕКОВЫЕ ТРЕНДЫ

Второй день любой выставки считается самым важным и наиболее посещаемым, однако «Аналитика Экспо» опровергла укоренившийся в мозгах экспонентов миф. Пожалуй, в этот раз на выставке в самый пиковый день было чуть больше гостей, чем в день открытия. И даже анонсируемые новинки не смогли привлечь специалистов из лабораторий различных отраслей. Среди таких новинок стоит отметить абсолютно новый для отечественного рынка корейский бренд **Daihan**, представляющий решения как для аналитических исследований, так и для пробоподготовки и хранения образцов. В частности, на стенде крупнейшего дистрибьютора технологического и лабораторного оборудования, ГК «Фармконтракт», можно было увидеть термостат с сухой баней **Maxtable H10**, нагревающий и термостатирующий образцы до 150 °С с точностью 0,1 °С. Помимо этого, среди нагревательного оборудования для сушки, высокотемпературного нагрева, расплавления и выпаривания можно было увидеть нагревательную плитку **Maxtir 500H** и высокопроизводительную магнитную мешалку **Maxtir 500S**. Последняя позволяет смешивать до 20 л различных субстанций со скоростью 80-1 500 об/мин. Здесь же был представлен широкий ассортимент оборудова-



ния для перемешивания: многофункциональный вихревой смеситель **VM-10**, позволяющий смешивать субстанции со скоростью до 3 300 об/мин; орбитальный встряхиватель **SHO** для культивирования гибридных клеток, окрашивания и приготовления гелей, смешивания культуральных сред со скоростью

10–300 об/мин. В портфеле корейского производителя можно найти и общелaborаторное оборудование. Так, в рамках коллективной экспозиции для очистки инструментов и лабораторной посуды сложной конфигурации без применения сильнодействующих чистящих веществ от различных типов загрязнения демонстрировались ультразвуковая ванна **WUC-A10H**; нагреватель для пробирок и химических стаканов **AI-case, w/control**; диспергирующие насадки и проч.

С чем же связан спад посещаемости или мы становимся свидетелями заката выставочной индустрии?

В каком-то смысле высказываемое многими маркетологами незавидное будущее выставочной индустрии справедливо – практически 80% стендов всех участников отведено под переговорные зоны, а количество демонстрируемого аналитического оборудования редко превышает 10 позиций. С другой стороны, если обратить внимание и заглянуть в конгрессные залы самых ожидаемых мероприятий деловой программы выставки, можно отметить, что обилие интересных семинаров не оставляет времени на знакомство с представленным оборудованием. Такой крен в сторону конгрессной деятельности – ответ на запросы рынка. А значит, компаниям, планирующим формат своего



участия в отраслевых выставках стоит пересмотреть механизмы привлечения клиентов и интеграции в мероприятия.

Например, ведущий химико-фармацевтический холдинг России **ГК «Фармконтракт»** уже более 5 лет подряд не только представляет самый обширный ряд лабораторного оборудования для химической, фармацевтической, пищевой и нефтеперерабатывающей отраслей, проводит в первый день выставки сбор фармацевтов-аналитиков на полюбившемся им семинаре **«Разработка и регистрация лекарственных средств»**, но и активно участвует в формировании деловой программы всей выставки. В этом году сотрудники проектно-строительного отдела холдинга познакомили участников семинара **«Анализ пищевых продуктов»** с подходами к проектированию фармацевтических и пищевых производств. Как оказалось, у отраслей в этой сфере много общего. Как в фармацевтике нельзя перекрещивать бактерии, так в сыродельной продукции нельзя перекрещивать споры при производстве плесневых сыров с параллельными продуктами производства. Это значит, что на этапе создания проекта следует учитывать такие пункты, как

- автоматизация системы управления технологическим оборудованием (АСУТП), система управления и поддержания микроклимата, а также система управления инженерным оборудованием (АСУЭ), интеграция систем контроля и диспетчеризации в один пункт управления SCADA;
- соблюдение требований безопасности производства, пожарных норм, защиты окружающей среды, взрывозащищенное исполнение изделий и механизмов;
- оптимизация расходов для получения достаточной нормы прибыли, позволяющей обеспечивать развитие производства и выпуск новых видов продукции.



Говоря о ряде общих принципиальных этапов проектирования фармацевтического и пищевого производства, ведущий инженер биотехнолог проектно-строительного отдела ГК «Фармконтракт» **Василий Кутуков** отметил следующие.

- **Конструктив** – чистые помещения, сэндвич-панели, отделка из материалов, позволяющих проводить дезинфекцию агрессивными растворами. От-



сутствие непромываемых зон, доступ к элементам конструктива или инженерным коммуникациям, требующим техобслуживания, при этом без потери герметичности конструктива.

- **Система мониторинга микроклимата** – постоянный контроль и поддержание температуры, влажности внутри чистых помещений. Вывод информации на узел диспетчеризации.
- **Принцип сохранения чистоты (количество частиц)** – ламинарные потоки воздуха, фильтры высокого класса чистоты (HEPA, ULPA). Регулярные регламентные, либо постоянные поточные процедуры замера количества частиц в воздухе, с помощью специализированного, поверенного оборудования. Системы дезинфекции подаваемого в контролируемые помещения приточного воздуха.
- **Принцип разграничения зон** – каскады перепадов давления для предотвращения попадания извне/выхода наружу опасных сред и факторов. Формирование зон с избыточным, либо отрицательным давлением, в зависимости от преобладающих рисков перекрестной контаминации.
- Персональные и материальные шлюзы с автоматизированной системой шлюзования дверей (Interlock).
- **Резервирование критического инженерного оборудования** – автоматизированные алгоритмы переключения оборудования для предотвращения возникновения факторов, способных негативно повлиять на технологический процесс, либо нести угрозу персоналу.
- **Взрыво-пожарозащищенное исполнение критических элементов и механизмов** – недопущение возможности возникновения ситуации, опасной для жизни и здоровья персонала, нанесения ущерба окружающей среде и возникновении техногенных катастроф.
- **Процедура переодевания** – выполнение стандартных операционных процедур по переодеванию персонала в рабочую одежду, технологическую одежду.

- **Процедура подготовки персонала** – регламентные проверки персонала на предмет состояния здоровья, переаттестация персонала на знание норм и требований производства, квалификация персонала.

КАКОВЫ ЖЕ ИТОГИ И СТОИТ ЛИ В СЛЕДУЮЩЕМ ГОДУ ИДТИ НА «АНАЛИТИКА ЭКСПО»?

Впервые, «Аналитика Экспо» не оправдала ожидания своих постоянных участников, каждый год планирующих презентацию новинок на площадке мероприятия на апрель. Как отмечали практически все экспоненты, в этом году наблюдалось существенное сокращение гостей. Но не у всех все выглядело столь пессимистично. Например, на стенде крупнейшего дистрибьютора технологического и лабораторного оборудования в России и СНГ можно было заметить ажиотаж вокруг представленного лабораторного города. И эта тенденция продолжалась даже в последний день работы выставочной экспозиции! Более того, ГК «Фармконтракт» – единственная компания на «Аналитика Экспо», демонстрировавшая обширный модельный ряд весового оборудования, приборов, являющихся неотъемлемыми при оснащении микробиологических лабораторий как на фармпредприятиях, так и пищевых производств, отделов R&D. Только здесь можно было увидеть новинки, которых не было на Analitika в Мюнхене.

И конечно же, крупнейший химико-фармацевтический холдинг России представил аналитическое оборудование для различных отраслей промышленности. В частности, гости выставки могли увидеть автоматический проточный анализатор **Skalar SAN++**, позволяющий осуществлять рутинный анализ широ-



кого ряда питательных веществ (азот, фосфор, калий, бор, кальций, магний) и применяемый в ветеринарии, пищевом секторе и агрохимии. Помимо новинок здесь же было представлено оборудование для испарения различных образцов – ротационный испаритель **BUCHI Rotavapor R300** и промышленный ротационный испаритель **R-220 PRO**; система экстракции по Сокслету **E812SOX** и ряд дистилляторов **K-375** и минерализаторов **K-439**, скрубберов **K-415**.

В целом, по словам заместителя генерального директора по маркетингу и PR ГК «Фармконтракт» **Евгении Дориной**, выставка для холдинга прошла успешно и впервые за много лет позволила не только встретиться и пообщаться с давними клиентами холдинга, но и представить свою продукцию новым заказчикам.

Международная выставка «Аналитика Экспо», которая ежегодно связывает воедино поставщиков аналитического лабораторного оборудования и специалистов различных научных и производственных лабораторий, в следующем году изменит свою постоянную локацию и будет проходить в МВЦ «Крокус Экспо» с 23 по 26 апреля.



По словам организаторов, смена площадки даст новые перспективы для развития выставки и преимущества для её участников. С этим согласилось большинство экспонентов, что подтверждает высокий уровень бронирования на следующий год. Итоговая площадь полученных заявок во время выставки составляет 105% от общей площади выставки 2018 года. Это означает, что на будущий год участники не просто забронировали стенды, но и увеличили их метражи, а также уже есть новые участники. Возможность увеличить стенд – это одно из самых важных преимуществ переезда в «Крокус Экспо». Смена места проведения – это потенциал для роста выставки по количеству представленного оборудования и привлечению дебютантов, а, следовательно, увеличению профессиональных посетителей, заинтересованных в новых поставщиках.

с этим впервые в дни выставки планируется проведение крупного съезда Всероссийского масс-спектрометрического общества. Также деловая программа выставки будет усилена еще большим количеством презентаций и семинаров участников, для чего будет создана новая открытая зона для диалогов со слушателями.

При смене площадки «Аналитика Экспо» приобретет выгодное соседство с другим проектом компании ITE – выставкой MiningWorld Russia, ориентированной на производителей и поставщиков машин и оборудования для добычи, обогащения и транспортировки полезных ископаемых. Плюсом данного соседства станет синергетический эффект для посетителей обеих выставок и участников «Аналитика Экспо». Посетители MiningWorld – специалисты гор-



«Крокус Экспо» – это многофункциональная бизнес-арена с качественным сервисом и высоким техническим оснащением. У комплекса хорошая транспортная доступность, как для автомобилистов, так и пользователей метро. Поэтому нет никаких сомнений, что с организационной стороны смена площадки принесет только плюсы.

Дополнительной точкой роста при увеличении выставочной площади является возможность для качественного развития контентной составляющей выставки. «Крокус Экспо» располагает более комфортными и современными конференц-залами с большей вместимостью слушателей. В связи

содобывающих предприятий и горно-обогатительных комбинатов из различных регионов России будут заинтересованы в такой продукции как муфельные печи, вакуумные системы, вибросита, испарители, сжигатели и многое другое, которую представляют участники «Аналитика Экспо».

И это лишь основные очевидные преимущества смены площадки для «Аналитика Экспо» 2019. Мы уверены в том, что при проведении в «Крокус Экспо» 17-й по счету выставки участники и посетители на практике ощутят еще больше плюсов, и этот этап откроет новые перспективы для стабильного ежегодного роста «Аналитика Экспо».

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ СЕМИНАР «РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

Без чего уже невозможно представить ежегодную выставку «Аналитика Экспо», кроме как обширнейшей экспозиции самого широкого ряда лабораторного оборудования и химических реактивов? Конечно же, это деловая программа, в рамках которой гости КВЦ «Сокольники» могут пообщаться со специалистами отрасли, обсудить текущие проблемы и решить прикладные задачи. Более того, символом, с которым ассоциируется первый день выставки, стал уже всем хорошо знакомый семинар для аналитиков фармпредприятий и руководителей лабораторных комплексов – «Разработка и регистрация лекарственных средств: аналитические аспекты». В этом году среди заявленных к обсуждению тем организаторы (ГК «Фармконтракт» и журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств») выбрали особенности организации деятельности GLP-лаборатории в условиях единого рынка ЕАЭС и правила оценки пригодности методики при испытании лекарственных средств на стерильность при разработке фармакопейной статьи. И, конечно же, не обошлось без практических кейсов об актуальнейших методах анализа от представителей самих лабораторных комплексов, а также мастер-классов от Sartorius и Proteinsimple.



Ежегодно в России проводятся тысячи конференций, форумов, семинаров и других образовательных мероприятий. Как решить, какое событие не просто достойно внимания, а окажется полезным именно для вас, учитывая, что в 96% они имеют схожую тематику и на 70% здесь выступают одни и те же спикеры? Более того, компании-работодатели все реже готовы отпускать своих сотрудников на эти события, отдавая предпочтение внутреннему обучению и системе менторства, наставничества. В результате организаторы таких событий сегодня все чаще объединяются

с выставочными площадками для формирования повестки деловой программы. И самыми популярными и востребованными гостями выставок становятся семинары и конференции, где сочетаются практические аспекты и раскрываются секреты работы коллегами из компаний той же отрасли с кейсами от производителей оборудования, готовыми не просто представлять всю обширную линейку своего бренда, но, прежде всего, отвечать на конкретные вопросы и решать в какой-то степени уникальные задачи пользователей. Такой микс из опыта теоретиков и практиков, разработчиков

лекарственных средств и производителей оборудования во многом и обуславливает популярность научно-практических семинаров под брендом «Разработка и регистрация лекарственных средств».

В этом году на «Аналитика Экспо» семинар открыл главный редактор нашего журнала, д.фарм.н. **Игорь Шохин**, представив информацию о новых правилах работы лабораторных комплексов в связи с переходом фармрынка на единые нормы ЕАЭС. Так, спикер отметил, что новые нормативные документы устанавливают единые для всех стран-членов ЕАЭС правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств, а руководство по валидации аналитических методик ЕАЭС закрепляет проведение данной процедуры в отношении 4-х наиболее распространенных типов (таблица 1):

- испытания на идентификацию (в том числе подлинность);
- испытания для определения количественного содержания примесей (quantitative tests for impurities content);
- испытания для определения предельного содержания примесей (limit tests for the control impurities);
- количественные испытания (содержание или активность) (quantitative tests of the active moiety) для определения действующего вещества или активной части молекулы в испытуемом образце (пробе) фармацевтической субстанции, лекарственном препарате, иных компонентах лекарственного препарата.

Говоря об единых правилах проведения исследований биоэквивалентности, **Игорь Шохин** отметил особенности данной процедуры для методик связывания лиганда (например, ИФА), которые впервые освещены в руководстве:

- возможность использовать готовые наборы;
- другие нормы RSD/RME: $\pm 20\%$ для всего диапазона и $\pm 25\%$ для нПКО (общая ошибка 30 и 40%);
- эффект переноса для автоматических дозаторов;
- нелинейные зависимости;
- необходимость разведения образцов (узкий аналитический диапазон);
- желателен анализ в двух повторностях.

Более того, в правилах проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств ЕАЭС процедура «Биоэвейвер» стала принципиально новым аспектом руководства. «Биоэвейвер (biowaiver) – процедура оценки биоэквивалентности воспроизведенного лекарственного препарата без проведения исследования *in vivo*». В то же время процедура имеет ряд ограничений, которые надо индивидуально рассматривать для каждого лекарственного средства», – убежден **Игорь Евгеньевич**. Также спикер обращает наше внимание на тот аспект, что «биоэвейвер» – это комплексное исследование. «Лаборатория гарантиру-

ет выполнение процедуры строго по всем современным требованиям и на современном оборудовании, но не может гарантировать отсутствие регистрационных рисков».

Таблица 1.

Валидация аналитических методик

Валидационные характеристики	Тип аналитической методики			
	Испытания на идентификацию	испытания на примеси		количественные испытания
		Количественное содержание	Предельное содержание	
Правильность	-	+	-	+
Прецизионность:		+		
• повторяемость	-	+1	-	+
• промежуточная прецизионность	-		-	+1
Специфичность ²	+	+	+	+
Предел обнаружения	-	-3	+	-
Предел количественного определения	-	+	-	-
Линейность	-	+	-	+
Диапазон применения	-	+	-	+

Примечание: условные обозначения, принятые в таблице:

«-» – данную характеристику не оценивают;

«+» – данную характеристику оценивают.

¹Если определена воспроизводимость, определение промежуточной прецизионности не требуется.

²Недостаточная специфичность одной аналитической методики может быть компенсирована использованием одной или нескольких дополнительных аналитических методик.

³Может потребоваться в некоторых случаях (например, когда предел обнаружения и нормируемый предел содержания определяемой примеси близки).

В продолжение выступления генерального директора ЦФА **Игоря Шохина** возможности по оптимизации процесса испытания физических параметров твердых лекарственных форм представила немецкая компания ERWEKA, центральное место в портфеле которой занимают тестеры растворения, позволяющие проводить тестирование по самому широкому спектру методов: от методов «проточная ячейка», «вращающаяся корзинка» и «лопастная мешалка» до более редких методов – USP 3,7 – «качающийся цилиндр» и 5,6 – «вращающийся цилиндр».

Оборудование для исследования и разработок твердых, жидких, мягких лекарственных форм представлено универсальным приводом AR 403 и различными насадками для смешения, измельчения, грануляции, пеллетирования, нанесения покрытий. «Все насадки подсоединяются к одному приводу и их смена не составляет особого труда», – обратил внимание участников семинара **Артем Кузнецов**.



Рисунок 1. Тестеры растворения по USP 1,2



Рисунок 2. Шаровая мельница KM 5

Для входного контроля и контроля качества порошков и гранулятов применяются приборы для определения сыпучести и насыпной плотности. В семействе ERWEKA для этого направления созданы тестер насыпной плотности SVM, работающий по методам USP 1, USP 2, и тестеры сыпучести, разные модели которых позволяют измерять либо только время высыпания порошка, либо еще и его массу, угол естественного откоса.



Рисунок 3. Тестеры контроля порошков и гранулятов

Особое место в линейке тестеров ERWEKA занимают тестеры контроля качества суппозиторий. Помимо растворения суппозиторий, существует несколько важных физических показателей качества. Это прочность, точка плавления, распадаемость, проницаемость. Для определения этих показателей представитель немецкой компании продемонстрировал соответствующий модельный ряд тестеров и рассказал о принципах их работы.

Конечно же, в портфеле ERWEKA есть решение и для контроля герметичности блистеров и других упаковок.

Любая лаборатория фармпредприятия, занимающаяся контролем качества лекарственных средств, имеет в своем арсенале и немецкие или швейцарские тестеры распадаемости. Год назад на выставке «Аналитика Экспо» ERWEKA представила свою новую модель ZT720. В чем же ее принципиальное отличие от предыдущих версий?

Как отметил **Артем Кузнецов**, у предыдущих версий автоматическое определение времени распадаемости было неразрывно связано с подключением основного прибора к ПК – для тестера ZT 720 не требуется подключение компьютера, что значительно упрощает работу. «После запуска теста корзинки автоматически опускаются, с помощью магнитных дисков определяется время распадаемости образцов и по окончании теста корзины поднимаются. Сенсорный дисплей и интуитивное меню позволяют с легкостью управлять тестированием, создавать методы, проводить квалификацию, а также обращаться к базе данных результатов тестов. Память объемом 4 Гб позволяет хранить до 100 методов, а также около миллиона отчетов о тестировании. Прибор поддерживает экспорт данных через USB и LAN-интерфейсы или вывод на печать протоколов теста».



Рисунок 4. Тестеры контроля качества суппозитория



Рисунок 5. Тестер контроля герметичности блистеров VDT5

Не менее актуальным для фармлабораторий является и такое фармакопейное испытание, как определение прочности и геометрических размеров твердых лекарственных форм. Многообразие тестеров определяется различной степенью автоматизации. Именно поэтому в портфеле ERWEKA можно увидеть как ручные тестеры, хорошо знакомые и известные всем фармпредприятиям мира, – ТВН 125 и ТВН 325, полуавтоматические – ТВН 425 и EasyCheck, так и полностью автоматические – Multicheck 6.

Предваряя вопросы из зала о принципиальных различиях моделей полуавтоматического тестера EasyCheck (Basic и Pro), представитель компании отметил, что разница состоит в применении тестеров: конфигурация EasyCheck Basic применима для круглых таблеток и позволяет измерить 4 параметра – прочность, массу, диаметр и высоту, – а в конфигурации EasyCheck Pro добавляется пятый параметр – ширина облонга, который измеряется с помощью технологии «облонг слайдер».

Преимущества использования в R&D различных тестеров от ERWEKA подтвердил следующий докладчик – **Юрий Шилов**, научный сотрудник аналитической лаборатории «НоваМедика Иннотех», где данное оборудование уже как год используется при разработке собственной продукции компании. Но в этот раз речь пошла о дериватизации в аналитической химии. Основываясь на опыте и технологиях R&D-центра «НоваМедика Иннотех», **Юрий Шилов** рассказал коллегам о новых возможностях химической модификации анализируемых соединений, не поглощающих в ультрафиолете, с последующим детектированием оптическими методами, как альтернативы использованию дорогостоящего масс-спектрометрического оборудования.



Рисунок 6. Тестеры прочности и геометрических параметров таблеток и облонгов

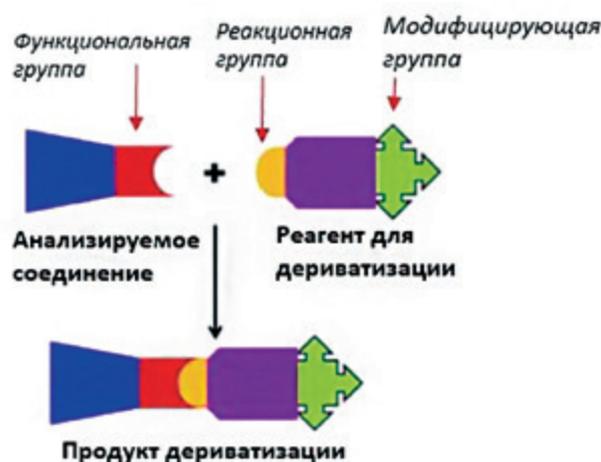
Для профессионалов в области фармацевтических исследований этот вопрос на практике зачастую бывает непростым, поскольку разработчики лекарственных препаратов и, соответственно, аналитики часто сталкиваются с лекарственными веществами, которые не поглощают в ультрафиолете и поэтому их содержание нельзя измерить напрямую с помощью широко распространенных УФ-спектрофотометров или ВЭЖХ с УФ-детектором. Более того, нередко возникает необходимость задействовать для этих целей масс-спектрометрические методы. «Но не каждая компания может позволить себе такое дорогостоящее оборудование, – не понаслышке знает **Юрий Шилов**. – Кроме того, хоть масс-спектрометрия и включена в фармакопею, в мире еще только зарождается практика регистрации таких методов для контроля качества готовых лекарственных форм, и разработчики могут столкнуться со сложностями в этом направлении».

Так что же за зверь дериватизация и почему она является хорошей альтернативой?

Дериватизация – химическая модификация анализируемого соединения, превращающая его в продукт (дериват) с улучшенными аналитическими свойствами.

Среди особенностей разработки метода **Юрий Шилов** отметил следующие.

- ✓ Реакция надежна, воспроизводима и протекает до конца.
- ✓ Реакция специфична для конкретной функциональной группы.
- ✓ Продукты реакции относительно стабильны и не распадаются в течение разумного периода времени, позволяя их анализировать.
- ✓ Сигнал от самой метки не интерферирует с сигналом от целевого производного (хорошее разделение на ВЭЖХ или непоглощающая метка).



Отвечая на вопрос, зачем же нам может понадобиться дериватизация, спикер пояснил: «Мы можем химически прикрепить к веществу особое соединение, которое будет придавать ему новое свойство – способность поглощать в ультрафиолете или даже флуоресцировать. А после этого мы сможем увидеть его с помощью стандартных УФ- и флуориметрических детекторов, с высокой чувствительностью и селективностью».

Приведя ряд кейсов по определению мемантина, прегабалина и его примесей в готовых лекарственных формах, а также генотоксических примесей в активных фармацевтических субстанциях, поделившись опытом определения карбоновых кислот с помощью ВЭЖХ и определения колистина флуориметрическим методом, научный сотрудник аналитической лаборатории «НоваМедика Иннотех» заметил, что сегодня в фармразработке методы анализа с УФ- и ФЛ-детекцией предпочтительнее методов с другими типами детекции (например, масс-спектрометрической), а большое количество активных фармсубстанций не поглощают или слабо поглощают в УФ-диапазоне и не флуоресцируют. «Именно в таких случаях дериватиза-

ция становится хорошей альтернативой», – убежден спикер. Более того, он считает, что данные методы не сложно валидировать, а сложно разработать: «К этому этапу нужно подходить максимально комплексно. Еще на стадии разработки необходимо провести серии разнообразных экспериментов по подбору оптимальных условий пробоподготовки и анализа, чтобы обеспечить последующую успешную валидацию метода».



Деятельность любой аналитической лаборатории обеспечивается не только специализированным оборудованием, позволяющим решать особые пользовательские задачи, но и типовыми общелабораторными приборами. Об использовании дозирующих устройств и источниках возможных ошибок при дозировании как раз и рассказала представитель компании Sartorius **Ольга Лаптева**. К таким источникам относятся состояние дозатора и наконечника, условия окружающей среды, навыки и опыт оператора и выбранные им техники дозирования. Среди последних известны прямое и обратное дозирование, а также ряд техник для электронных дозаторов: многократное и автоматическое, последовательное дозирование, разведение и разведение и смешивание и т.д. (рисунки 7 и 8).

Что же делать для исключения возможности появления ошибок? Прежде чем приступить к дозированию, Sartorius рекомендует 3–5 раз промыть наконечник, во время набора жидкости держать дозатор вертикально и погружать наконечник в жидкость на 2–3 мм, после набора жидкости выдержать паузу. Дозирование следует проводить под углом 30–45°, а чтобы извлечь последнюю каплю из наконечника, следует коснуться внутренней стенки колбы. Немаловажным является и плавное равномерное нажатие на плунжер. В перерывах между дозированием дозатор следует хранить в вертикальном положении. Для этого, например, в комплекте с дозирующими устройствами Sartorius всегда поставляются специальные стойки.

На что еще обратить внимание для получения точных, надежных и воспроизводимых результатов?

1. Термоизоляция дозатора, позволяющая получать воспроизводимые и точные результаты, предотвращая повышение температуры вытесняющего жидкость воздуха.
2. Техническое состояние дозатора.
Точные дозирующие устройства состоят из электронных и механических конструктивных элементов, которые могут изнашиваться и ломаться. Чтобы обеспечить работоспособное состояние дозаторов, необходимо проводить регулярное профилактическое обслуживание и калибровку.
3. Контаминация.

«Избегайте загрязнения ваших наконечников и дозаторов! – призывают в Sartorius. – Ведь чистота оборудования – залог правильного результата».

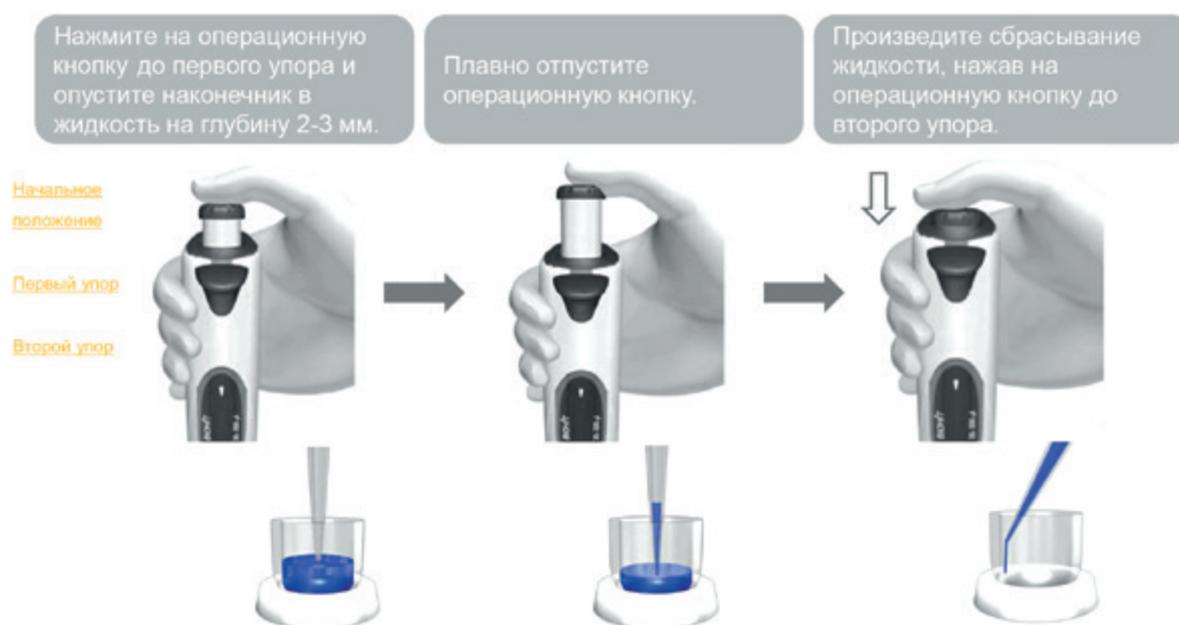


Рисунок 7. Прямое дозирование

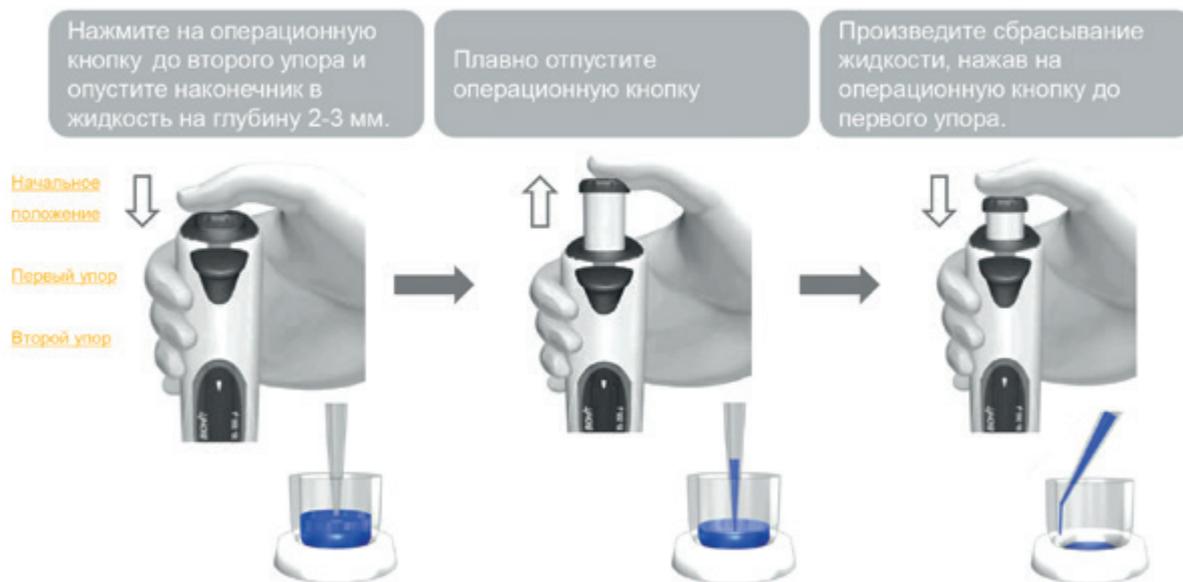


Рисунок 8. Обратное дозирование



Рисунок 9. Дозаторы. Контаминация

4. Выбранные наконечники должны соответствовать дозатору по качеству, форме и размеру, материалу.

Наконечник должен всегда полностью плотно прилегать к посадочному конусу дозатора.

«При дозировании жидкостей с высоким поверхностным натяжением, например детергентов, наконечники Low Retention обеспечивают лучшие результаты в сравнении с обычными наконечниками. Однако наконечники разных производителей демонстрируют разные результаты, – акцентировала **Ольга Лаптева**. – При тестировании нового бренда тщательно проводите контроль качества наконечников».

5. Не стоит исключать факторы окружающей среды:

- температура. Чем меньше разница в температурах дозатора, наконечника и дозируемой жидкости, тем более точным будет результат;

- влажность. Испарение жидкости можно предотвратить путём повышения влажности воздуха; чем ниже влажность воздуха, тем выше испарение жидкости;
- атмосферное давление. При калибровке дозатора необходимо учитывать атмосферное давление для расчёта Z-фактора. Чем ближе вы находитесь к уровню моря, тем ниже влияние атмосферного давления. Но чем вы выше над уровнем моря, тем больше становится влияние атмосферного давления на результаты дозирования.

Руководитель испытательной лаборатории «ОЛ-ФАРМ» **Елена Трутнева** познакомила участников семинара «Разработка и регистрация лекарственных средств» с правилами оценки пригодности методики испытания лекарственных средств на стерильность при разработке фармакопейной статьи.

При разработке новых стерильных препаратов, изменении в технологическом процессе или составе лекарственного средств в фармакопейную статью и нормативную документацию следует включать сведения о наличии/отсутствии антимикробного действия препарата с рекомендациями по его устранению и информацию о методе испытания на стерильность. Для чего это необходимо? Показатель «Стерильность» включается в нормативную документацию с целью подтверждения полного отсутствия жизнеспособных бактерий и грибов в испытуемом объекте:

- лекарственные средства для парентерального применения (растворы, лиофильно высушенные и стерильно расфасованные порошки для инъекций и инфузий);

- офтальмологические лекарственные средства;
- растворы антисептиков для наружного применения;
- мази, гели для наружного применения (для нанесения на раневую поверхность);
- АФС, предназначенные для производства лекарственных средств в форме стерильно расфасованных порошков и др.

Среди методов, с помощью которых рекомендуется определять стерильность, **Елена Трутнева** указала прямой посев и мембранную фильтрацию. Первый используется для испытания лекарственных средств, не обладающих антимикробным действием, АД которых можно устранить разведением или инактивированием. Второй – для определения стерильности лекарственных средств, обладающих АД, за исключением нерастворимых в воде и изопропилмиристате (ИПМ). При этом каждый метод имеет как свои преимущества, так и ограничения (таблица 2).

Таблица 2.

Методы определения стерильности

Прямой посев	Мембранная фильтрация
<p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • быстрый, простой, экономичный; • нерастворимые образцы 	<p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • устранение АД; • возможность фильтрования большого объёма
<p>Ограничения:</p> <ul style="list-style-type: none"> • АД 	<p>Ограничения:</p> <ul style="list-style-type: none"> • нерастворимые образцы; • закупоривание мембраны

Во избежание неправильной оценки результатов, полученных при определении стерильности тем или иным методом, **Елена Трутнева** рекомендует перед испытанием определить возможность проявления лекарственным средством антимикробного действия в отношении определенных видов микроорганизмов и тем самым провести оценку пригодности метода.

В основе метода определения АД лежит сравнение интенсивности роста тест-штаммов микроорганизмов в присутствии и без испытуемого препарата. Само же определение АД лекарственного средства для оценки пригодности методики испытания на стерильность следует проводить в соответствии с методами, изложенными в ГФ XIII изд., т. 1, раздел «Стерильность» (ОФС. 1.2.4.0003.15). В общем виде схему определения стерильности можно представить так, как показано на рисунке 10.

Доклад специалиста ИЦ «ОЛФАРМ» продолжили эксперты в области анализа биологических объектов из ProteinSimple, уделив особое внимание инструментальным решениям для разработки, контроля качества и высвобождения действующего вещества. Как один из



Рисунок 10. Схема определения стерильности

наиболее известных производителей оборудования для анализа в биофармацевтике, компания предлагает широкий ряд инструментальных решений для различных этапов биопроцесса: отбор клонов, оптимизация процесса, разработка состава, характеристика конечного продукта. В частности, для этого был сконструирован прибор, применяемый на этапе отбора клонов, на базе методики вестерн-блоттинга – **Wes™**.

Simple Westerns™ имеет высокую чувствительность и позволяет работать с образцами объемом от 3 мкл, позволяет разделять и анализировать белки по размеру от 2 до 440 kDa либо путем иммунохимического анализа или анализа общего белка всего за 3 часа.

«Традиционные методики Traditional Westerns имеют ряд недостатков: они довольно плохо воспроизводятся, требуют длительно периода обучения и после тщательной отработки работают далеко не всегда воспроизводимо, – отметил доктор **Carsten Lück**. – Поэтому в основу системы Wes ProteinSimple заложила методику вестерн-блоттинга, которая позволяет разделять и анализировать белки размером от 2–440 kDa, и гарантирует получение воспроизводимых результатов за считанные часы, а не дни. Таким образом, недостатки традиционной методики вестерн-блоттинга теперь полностью устранены».

Завершился семинар обзором о важности соблюдения единства и целостности данных при анализе микроорганизмов. Согласно требованиям 21 CFR11 FDA данные должны быть надежными и четкими. С целью соблюдения целостности данных необходимо следовать принципу ALCOA (Attributable, Legible, Contemporaneously recorded, Original or true copy, Accurate).

- **Attributable** – различные уровни доступа для разных пользователей и уникальная идентификация обеспечивает полную прослеживаемость, кто проводил анализ => результаты связаны с конкретным пользователем. После ввода данных невозможно создать нового пользователя.

Учитывая требования 21 CFR11 FDA о различных уровнях доступа пользователей, специалисты одного из производителей оборудования в области лабораторной диагностики – компании bioMerieux – в системе автоматической идентификации **Vitek 2 Compact** создали разные пароли доступа для лаборантов и начальников лабораторий. «Это позволяет гарантировать полную прослеживаемость анализов», – отметила **Ольга Зайцева**.

- **Legible** – электронные данные являются понятными. Данные доступны для аудита в любое время.



«В системе Vitek 2 Compact предусмотрена возможность выгрузки данных по названию микроорганизма; лаборанту, проводившему измерение; дате и за любой период времени использования прибора», – отметила спикер.

- **Contemporaneous** – дата и время отображаются на каждом отчете, при любых действиях и вносимых изменениях, что гарантирует их прослеживаемость.

- **Original** – автоматически созданный отчет – гарантия подлинности данных.

«Система Vitek 2 Compact позволяет производить загрузку данных с использованием специального штрих-кода, что полностью исключает риск возникновения ошибки при внесении данных:

- **Accurate** – автоматическое считывание результатов – гарантия стандартизации и постоянства данных. При получении результатов происходит их автоматическое считывание.
- **Complete** – данные невозможно изменить и удалить без отметки в системе.
- **Consistent** – последовательность данных сохраняется, дата и время отображаются на каждом отчете. Внесение данных → интерпретация результата → проверка данных лаборантом → подтверждение данных начальником лаборатории путем электронной подписи.
- **Enduring** – все данные доступны и автоматически архивируются.
- **Availuable** – все данные, находящиеся в архиве, при необходимости возможно извлечь.

Таким образом, решение компании bioMerieux полностью соответствует требованиям 21 CFR11 FDA. Благодаря использованию автоматических систем данный прибор позволяет получать полностью прослеживаемые результаты, исключая риск возникновения ошибки и фальсификации данных», – резюмировала представитель российского подразделения французской компании.

Стоит отметить, что данный прибор, на основе которого **Ольга Зайцева** проиллюстрировала крайнюю значимость соблюдения единства и целостности данных при анализе микроорганизмов, вызвал живой интерес у участников выставки «Аналитика Экспо».

В целом, подводя итоги семинара, который проходит в подобном формате (когда пользователи рассказывают о решении типовых задач с помощью конкретного оборудования, а поставщики этого оборудования дополняют их презентациями о дополнительных возможностях устройства, и все это сопряжено актуальнейшими нормативными требованиями ЕС, ЕАЭС и Российской Федерации), можно констатировать, что упоминаемые и используемые для иллюстрации докладов приборы, представленные на выставочной экспозиции «Аналитика Экспо», не просто вызывают больший интерес, но и лучше реализуются. Очевидно, что в индустрии конференций и семинаров формируется новый тренд: участники хотят больше знать о прикладных аспектах, знакомиться с новыми методиками и практиками в области R&D и контроля качества лекарственных средств.



ЛАБОРАТОРНЫЙ ИНЖИНИРИНГ ОТ ГК «ФАРМКОНТРАКТ»



ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ФАРМОБОРОНА

ЛАБОРАТОРНАЯ МЕБЕЛЬ



ОБЩЕЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ



НоваМедика

АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ – ЛАБОРАТОРИЯ ОКК



ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ УЧАСТОК R&D – ЛАБОРАТОРИИ



УДК 615.3

СОЗДАНИЕ ЛИОФИЛИЗАТА ГК-2 ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПОЛИОЛОВ

Е.В. Блынская¹, С.В. Тишков^{1*}, К.В. Алексеев¹, С.В. Минаев¹

Резюме. В рамках разработки состава и технологии лиофилизированной лекарственной формы с фармацевтической субстанцией (ФС) ГК-2, обладающей нейропротекторной активностью, исследованы модельные составы, технологические свойства при отличающихся температурных режимах производства. В связи с пептидной структурой и низкой стабильностью ФС предложено использование вспомогательных веществ (ВВ), стабилизирующих лекарственную форму (ЛФ) во время цикла лиофилизации (криопротекторы и лиопротекторы). В данном исследовании осуществлён подбор соотношений крио- и лиопротекторов при использовании в качестве криопротектора маннита или сорбита, а в качестве лиопротектора – сахарозы. Модельные составы с различными соотношениями ВВ изучены с помощью оптической микроскопии в поляризованном свете, чтобы продемонстрировать физическое состояние маннита при различных соотношениях ВВ. С помощью функции обобщённой желательности Харрингтона выбран наиболее оптимальный состав, соответствующий необходимым требованиям ГФ XIII и обладающий наиболее приемлемыми технологическими характеристиками и оптимальным технологическим процессом.

Ключевые слова: лиофилизат ГК-2 для приготовления раствора для инъекций, криопротектор, маннит, сорбит, лиопротектор.

CREATION OF LOOPHILISATE OF GK-2 FOR PREPARATION OF SOLUTION FOR INJECTIONS WITH USE OF POLYOLS

E.V. Blynskaya¹, S.V. Tishkov^{1*}, K.V. Alekseyev¹, S.V. Minaev¹

Abstract. As part of the development of the composition and technology of the lyophilized dosage form with the pharmaceutical substance (FS) GK-2, which possesses neuroprotective activity, model compositions and technological properties are studied with different temperature regimes of production. In connection with the peptide structure and low stability of the FS, the use of excipients stabilizing dosage form during the lyophilization cycle (cryoprotectants and lyoprotectors) was suggested. In this study, we selected the ratios of cryo- and lyoprotectors when using mannitol or sorbitol as a cryoprotectant, and as a lyoprotector for sucrose. Model compositions with different excipients ratios were studied by optical microscopy in polarized light to demonstrate the physical state of mannitol at different ratios of explosives. Using the Harrington generalized desirability function, the most optimal composition is chosen, which meets the requirements of SF XIII and has the most acceptable technological characteristics and optimal technological process.

Keywords: lyophilizate GK-2 for solution for injection, cryoprotectant, mannitol, sorbitol, lyoprotector.

1 – ФГБНУ «Научно исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова», 125315, Россия, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8

1 – Research Zakusov Institute of Pharmacology, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: Sergey-tishkov@ya.ru

ВВЕДЕНИЕ

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в отделе химии лекарственных средств (ЛС) под руководством Т.А. Гудашевой синтезирован низкомолекулярный дипептидный миметик 4-й петли NGF – гексаметилендиамид бис-(моносукинил-глутамил-лизина), получивший рабочий шифр ГК-2. В исследованиях *in vitro* и на животных изучено влияние ГК-2 на основные эффекты, вызываемые нативным NGF, – нейропротекторное и дифференцировочное действие. Фармацевтическая субстанция (ФС) ГК-2 проявляет нейропротективную активность [3, 5]. Предполагается предпочтительный инъекционный путь введения при использовании дипептида ГК-2, однако пептидные субстанции об-

ладают низкой устойчивостью в традиционных жидких лекарственных формах (ЛФ), где происходит гидролиз и другие виды деструктивных процессов, окисление, дезаминирование в водной среде. Сроки хранения многих пептидных ЛС, находящихся в жидком виде, не превышают 24–48 ч [1]. Поэтому для пептидных и белковых молекул при создании лекарственных препаратов (ЛП) применяется технология лиофилизации, во время которой происходит удаление растворителя из замороженного материала, при этом не используются высокие температуры, приводящие к необратимой денатурации пептидной структуры [2]. Однако метод лиофилизации имеет ряд недостатков, связанных с физическими процессами, происходящими во время замораживания, первичной сублимации и досушивания, напри-

мер явления сверхконцентрации, кристаллизации или изменения конформации пептида при удалении воды из гидратной оболочки. Поэтому необходимо использовать крио- и лиопротекторы, помимо других видов вспомогательных веществ (ВВ) в технологии лиофилизации для предотвращения нежелательных эффектов на протяжении всего технологического процесса.

Криопротекторы применяют для поддержания стабильности пептидной субстанции преимущественно во время замораживания и частично первичной сублимации, лиопротекторы используются для конформационной устойчивости пептидной субстанции на этапе досушивания [1, 6, 7]. В качестве криопротекторов наиболее часто находят применение полиолы (маннит, сорбит), полимеры, такие как низкомолекулярные поливинилпирроллидоны, а в качестве лиопротекторов в основном сахара (сахароза, лактоза, трегалоза).

Маннит и другие полиолы наиболее распространены среди используемых криопротекторов в технологии лиофилизации из-за своей способности кристаллизоваться во время замораживания и сохранять макроскопическую структуру лиофилизата в широком диапазоне температур. Однако использование полиолов, и в частности маннита, ограничено способностью стабилизировать ФС во время замораживания и частично первичной сублимации, тогда как в течение этапа досушивания необходимо применение лиопротекторов [2, 6]. Поэтому в нашей разработке лиофилизата для парентерального применения использовали комбинации криопротекторов и лиопротектора. В представленном исследовании разработаны модельные составы и технология получения ЛФ лиофилизата для приготовления растворов для инъекций с использованием полиолов в качестве криопротекторов в соединении с лиопротектором для получения лиофилизата, соответствующего требованиям ГФ XIII.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Субстанция: ГК-2 [гексаметиленамид бис-(N-моносуццинил-L-глутамил-L-лизина)] (ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Россия) (рисунок 1); вспомогательные вещества, предназначенные для парентерального применения: лиопротектор – сахароза (CompriSugar®, CristalUnion, Франция), криопротекторы – маннит/маннитол (Pearlitol®, Roquette, Франция), сорбитол/сорбит [«Неосорб» (Neosorb®, Roquette, Франция)].

Используемое оборудование и методики

- лиофильная сушилка Edwards EF-6;
- методика определения времени растворения (ГФ XIII, ОФС.1.4.1.0010.15 «Порошки»);
- методика определения потери в массе при высушивании (по ГФ XIII, ОФС 1.2.1.0010.15), влагомер Sartorius MA-35;

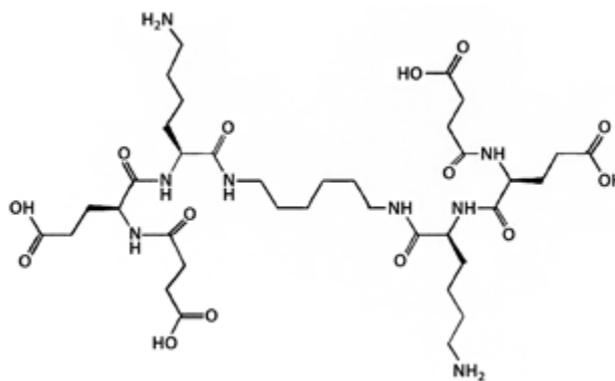


Рисунок 1. Структурная формула ГК-2

- методика определения pH (ГФ XIII, ОФС 1.2.1.0004.15), измеритель уровня кислотности (pH) раствора Sartorius Basic Meter PB-11;
- методика определения кристалличности (оптическая микроскопия в поляризованном свете; ГФ XIII, ОФС 1.1.0018.15), поляризационный микроскоп Olympus CX31-P;
- дифференциальная сканирующая калориметрия, дифференциальный сканирующий калориметр STA 449 F1 Jupiter®.

Методика расчёта обобщённой желательности Харрингтона

Функция желательности отражает зависимость оценок или показателей желательности (d) от безразмерных показателей (y), в которые переводят размерные (натуральные) показатели качества. Эта зависимость выражается уравнением:

$$d = e^{-e^{-y}}. \quad (1)$$

Обобщенный показатель желательности (D_j) рассчитывается по формулам:

– без учета коэффициентов весомости:

$$D = \sqrt[n]{\prod_i d_i}, \quad (2)$$

– с учетом коэффициентов весомости:

$$D' = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n (d_i)^{m_i}}, \quad (3)$$

где m_i – коэффициент весомости, причем $\sum_{i=1}^n m_i$ очность комплексной оценки повышается при учете коэффициентов весомости показателей свойств. Перевести значения размерных (натуральных) показателей

(x) качества гранулята и модельных таблеток в безразмерные (y) при линейной зависимости между ними можно по формуле:

$$y = a_0 + a_1x \quad (4)$$

и при нелинейной (в частности, квадратичной) связи [4]:

$$y = a_0 + a_1x + a_2x^2 \quad [4]. \quad (5)$$

где a_0, a_1, a_2 – коэффициенты уравнения линейной зависимости между исследуемым показателем и безразмерными значениями.

Температурный режим замораживания

Медленное замораживание: препарат загружали на полку лиофильной сушилки при температуре $+24 \pm 2$ °С, охлаждали полку до -25 ± 2 °С за 1 ч при скорости $0,84$ °С/мин. Далее полки охлаждали от -25 ± 2 до -35 ± 2 °С за 1 ч при скорости $0,167$ °С/мин, затем понижали температуру полок от -35 ± 2 до -45 ± 2 °С за 1 ч и выдерживали 2 ч. Общее время заморозки – 5 ч и средняя скорость заморозки – $0,383$ °С/мин.

Быстрое замораживание: препарат загружали на полку лиофильной сушилки при температуре $+24 \pm 2$ °С, охлаждали полку за 0,5 ч до -25 ± 2 °С, за 1 ч – до -45 ± 2 °С. Выдерживали при данной температуре 2 ч. Общее время заморозки – 3 ч, скорость заморозки – $1,15$ °С/мин.

Условия проведения лиофилизации

Флаконы с модельными составами ГК-2, а также крио- и лиопротекторами в различных соотношениях, растворенными в воде для инъекций, устанавливаются на полку камеры сублимационной установки Edwards. Затем герметично закрывают камеру сушки и включают охлаждение полки до -45 ± 2 °С и ведут охлаждение при описанных ранее режимах замораживания до достижения указанной температуры. Процесс заморозки идёт до достижения температуры -45 ± 2 °С примерно 3–5 ч в зависимости от режима замораживания. За 30 мин до начала сублимации начинают охлаждение конденсатора. После охлаждения конденсатора до -60 ± 4 °С включают вакуумный насос. Выключают охлаждение полок, включают нагрев полок до температуры от -33 ± 2 до -35 ± 2 °С в зависимости от состава модельной смеси.

Вакуум в пределах $0,08$ мбар достигается в течение 15 мин. Процесс первичной сушки длится приблизительно 20 ч. После завершения этапа первичной сублимации, фиксируемого манометром Пирани, поднимают температуру до $+8 \pm 2$ °С и сушат флаконы при указанной температуре. Процесс вторичной сушки длится 21 ч. По истечении указанного времени выключают

нагрев полок, вакуум и конденсатор, выравнивают давление в камере, укупорируют флаконы резиновыми крышками и вынимают флаконы с продуктом. Об окончании процесса досушивания можно судить по изменению давления в камере.

Вакуум создают по завершении этапа замораживания, он инициирует процесс первичной сублимации, когда давление в камере падает ниже $0,01$ мбар. В течение первичной сублимации (20 ч) давление в камере равно $(6,8–8,0) \cdot 10^{-2}$ мбар. На этапе досушивания (21 ч) давление опускается примерно до $(5,9–6,0) \cdot 10^{-2}$ мбар. Окончание сушки определяют с помощью измерения давления в камере при закрытии переходного клапана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор температурных режимов замораживания и сублимации

Основными параметрами при выборе температурных режимов лиофилизации, влияющими на качество конечного продукта, являются режимы замораживания и температура первичной сублимации. Модельные составы исследовались при двух режимах замораживания, подробно описанных в разделе «Материалы и методы»: быстром и медленном, скорость снижения температуры при которых составляет $1,15$ °С/мин и $0,383$ °С/мин соответственно. Два режима замораживания исследовались в связи с полиморфизмом маннита, который в зависимости от скорости замораживания и состава рецептуры может кристаллизоваться или затвердевать в аморфном состоянии [9]. В конечном итоге структура маннита оказывает влияние на стабильность ФС, а также на сложность трансфера и масштабирования на производственной площадке [8]. Поэтому при разработке состава необходимо нивелировать воздействие скорости замораживания на ФС.

Режимы первичной сублимации подобраны исходя из эвтектических температур замораживания модельных смесей, исследованных на дифференциальном сканирующем калориметре (ДСК): температура первичной сублимации для предупреждения «коллапса» должна быть более чем на два градуса ниже эвтектической температуры лиофилизата. Температура досушки определена исходя из стабильности субстанции и требуемого уровня содержания воды в полученном лиофилизате, поэтому с учетом свойств субстанции ГК-2, а именно термолабильности (так как субстанция подвергается деструкции при температуре выше 10 °С), выбран режим досушивания при температуре 8 ± 2 °С и соответственно времени досушивания 21 ч.

Таблица 1.

Составы лиофилизатов ГК-2 с сахарозой и маннитом

Номер образца	ГК-2, мг	Сахароза, мг	Маннит, мг	Режим заморозки	Прозрачность	T _э , °С
1	1	2	8	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-32,6
2	1	10	10	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,3
3	1	10	20	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,6
4	1	10	30	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-34,2
5	1	10	40	Медленный/ Быстрый	непроз./ прозр.	-34,5
6	1	10	50	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-34,5
7	1	20	20	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,5
8	1	20	40	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,6
9	1	20	60	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,7
10	1	20	80	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-34,5
11	1	20	10	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-32,6
12	1	35	15	Медленный/ Быстрый	прозр./ прозр.	-32,6
13	1	40	10	Медленный/ Быстрый	прозр./ прозр.	-32,6
14	1	45	5	Медленный/ Быстрый	прозр./ прозр.	-32,6
15	1	60	10	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-32,4
16	1	80	10	Медленный/ Быстрый	непроз./ прозр.	-32,5
17	1	90	10	Медленный/ Быстрый	прозр./ прозр.	-32,3
18	1	40	20	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-32,6
19	1	60	20	Медленный/ Быстрый	прозр./ непроз.	-32,7
20	1	80	20	Медленный/ Быстрый	прозр./ прозр.	-32,6
21	1	30	30	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,5
22	1	50	30	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-32,5
23	1	70	30	Медленный/ Быстрый	прозр./ прозр.	-32,9
24	1	60	40	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-33,2
25	1	50	50	Медленный/ Быстрый	непроз./ непроз.	-30

В данной разработке лиофилизирование ФС без ВВ оказалось невозможным, так как полученный лиофилизат не соответствовал показателям, изложенным в ГФ XIII, поэтому на первом этапе исследовали сублимацию различных ВВ и моносмеси с криопротекторами, лиопротекторами, однако оптимальное соотношение показали только комбинированные модельные составы, содержащие крио- и лиопротектор, соответственно полиолы (маннит, сорбитол) и сахарозу. Модельные составы с сорбитолом и сахарозой показали низкую устойчивость ФС и не соответствовали ГФ XIII, к тому же из-за низкой температуры эвтектики (менее 50 °С) использование сорбитола нецелесообразно.

В таблице 1 приведены модельные составы с маннитом в качестве криопротектора, эвтектические температуры, режимы замораживания и результаты теста на прозрачность, характеризующие стабильность ФС и соответствие ГФ XIII.

Среди разработанных модельных составов для дальнейшего исследования и выбора наиболее оптимального состава отобраны 6 составов, показавших прозрачность в сравнении с растворителем (в качестве эталона) при повторном разведении водой после лиофилизации, то есть сохранившие стабильность и структуру ФС в процессе лиофилизации. В ходе исследований выявлены оптимальные соотношения криопротектора и лиопротектора – 70:30, 80:20, 90:10. Представленные значения согласуются с положениями о том, что при преобладании аморфных ВВ маннит при замораживании практически не образует кристаллов и соответственно меньше подвергает ФС деструктивным процессам. Кристалличность структуры лиофилизата изучена оптической микроскопией в поляризованном свете, на рисунке 2 показаны кристаллы маннита после лиофилизации и кристалличность ВВ в модельных составах.

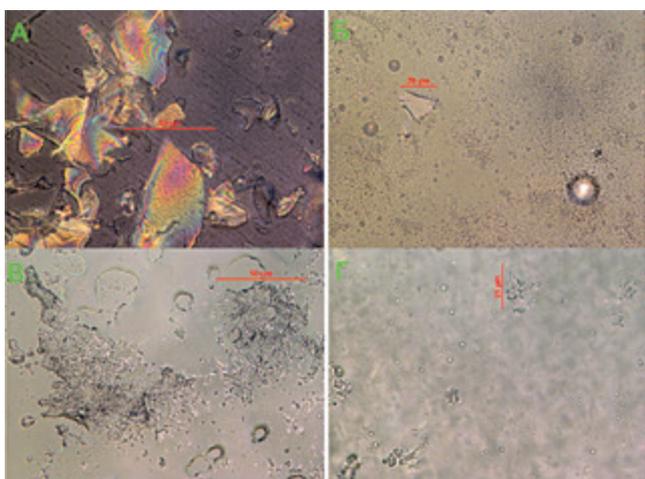


Рисунок 2. Оптическая микроскопия в поляризованном свете лиофилизатов (50х): а) ГК-2 : маннит – 1:30 (мг); б) ГК-2 : сахароза : маннит – 1:70:30 (мг); в) ГК-2 : сахароза : маннит – 1:80:20 (мг); г) ГК-2 : сахароза : маннит – 1:90:10 (мг)

Данные оптической микроскопии в поляризованном свете наглядно демонстрируют физическое состояние, в котором находится маннит при различных соотношениях сахарозы и без её добавления. Более высокая степень аморфизации компонентов может служить в качестве способа дополнительной термодинамической стабилизации во время вторичного досушивания.

Обоснование выбора состава лиофилизата для приготовления инъекций функцией обобщенной желательности Харрингтона

Оптимальный состав определяли методом математической обработки данных, используя функцию обобщенной желательности Харрингтона. Для определения значения обобщенной желательности изучались следующие параметры: время растворения (с), значение pH после лиофилизации, остаточная влажность (%). Значение обобщенной желательности получали из суммы частных желательностей (d) по каждому параметру, так как функция обобщенной желательности Харрингтона представляет собой среднее геометрическое частных желательностей. Частная и соответственно обобщенная желательности, равные нулю, определяются как абсолютно неудовлетворительные, а желательности, равные единице, как наиболее приемлемые.

Анализ полученных значений функции частных и обобщенных желательностей показал, что абсолютно неудовлетворительные модельные составы ($D > 0,2$) отсутствуют. Составы 12, 23, 20 имеют самые близкие к единице значения функции обобщенной желательности (D), однако состав № 23 обладает наибольшей функцией обобщенной желательности 0,872, данное значение находится в промежутке 0,8–1,0 и соответ-

ствует отличному значению желательности. Модельные составы также сравнивались по технологическим параметрам лиофилизации. На рисунках 3, 4 продемонстрированы графики изменения температур на полках и в препаратах при быстром и медленном замораживании.

Таблица 2.

Значения параметров, частных желательностей и обобщенной желательности Харрингтона

Номер серии	Время растворения, с	Значение pH после лиофилизации	Остаточная влажность, %	d1	d2	d3	D
12	15,47±0,05	4,15±0,02	2,76±0,11	0,802	0,372	0,642	0,718
13	19,81±0,05	4,25±0,02	3,21±0,11	0,73	0,460	0,541	0,711
14	21,51±0,05	4,38±0,02	3,57±0,11	0,696	0,567	0,451	0,708
23	16,22±0,05	4,75±0,02	1,8±0,11	0,791	0,793	0,802	0,872
20	27,26±0,05	4,62±0,02	2,83±0,11	0,561	0,728	0,628	0,761
17	33,83±0,05	4,77±0,02	3,87±0,11	0,372	0,802	0,372	0,644

Различия в температурных профилях препаратов небольшие и обусловлены различным количественным и качественным составом, при этом со схожими значениями эвтектических температур, которые были измерены на ДСК: так, для состава 12 температура $t = -32,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 – $t = -32,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, 23 – $t = -32,9\text{ }^{\circ}\text{C}$. Исходя из приведённых данных, самым приемлемым является состав 23, который обладает наибольшим значением желательности Харрингтона и при этом характеризуется оптимальным технологическим процессом.

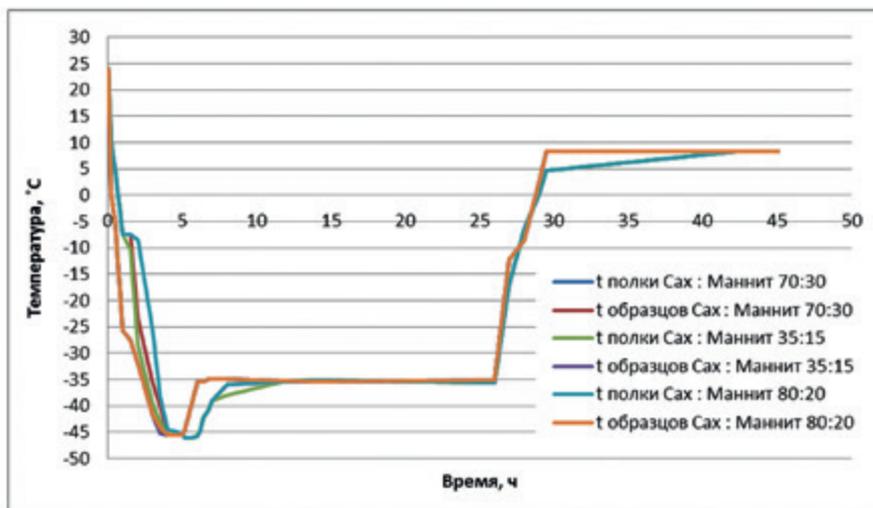


Рисунок 3. Изменение температуры полки и раствора ГК-2 в течение лиофильной сушки при использовании медленного режима заморозки

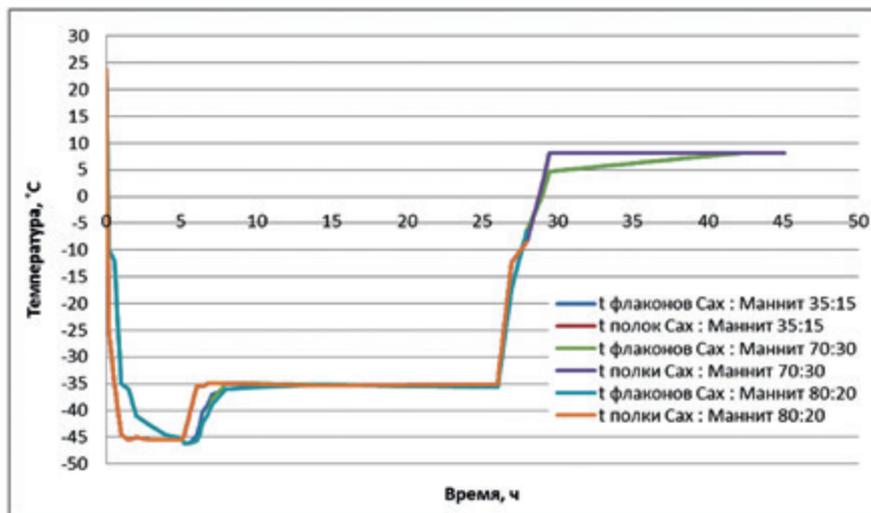


Рисунок 4. Изменение температуры полок и раствора ГК-2 в течение лиофильной сушки при использовании быстрого режима заморозки

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследовались рецептуры с различными соотношениями и количеством крио- и лиопротекторов методом математического обобщения Харрингтона подобран состав, сохраняющий ФС и ВВ в аморфном состоянии в течение всего цикла лиофилизации, стабилизирующий ФС и отвечающий требованиям ГФ XIII, обладающий наиболее приемлемыми технологическими характеристиками, и оптимизирован технологический процесс получения лиофилизата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.В. Блынская, С.В. Тишков, К.В. Алексеев. Технологические подходы к совершенствованию процесса лиофилизации белковых и пептидных лекарственных препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2017. № 1. С. 6–11.
2. Е.В. Блынская, С.В. Тишков, К.В. Алексеев, А.И. Марахова. Вспомогательные вещества в технологии лиофилизации пептидов и белков // Фармация. 2017. Т. 66. № 1. С. 14–18.
3. В.А. Крайнева, Т.А. Гудашева, С.О. Котельникова, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 ограничивает проявления геморрагического инсульта у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 154. № 11. С. 598–601.
4. А.С. Михеева, Е.В. Блынская, К.В. Алексеев. Применение дисперсионного анализа при разработке состава и технологии таблеток кемантана с модифицированным высвобождением // Фундаментальные исследования. 2015. Т. 2. № 2.
5. П.Ю. Поварнина, О.Н. Воронцова, Т.А. Гудашева, Р.У. Островская, С.Б. Середенин. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 восстанавливает нарушенные когнитивные функции в крысиных моделях болезни Альцгеймера // Acta Naturae (русскаяязычная версия). 2013. Т. 5. № 3(48).
6. B.S. Chang, S.Y. Patro. Freeze-drying process development for protein pharmaceuticals // Lyophilization of Biopharmaceuticals. 2004. Т. 2.
7. J.F. Carpenter et al. Rational design of stable lyophilized protein formulations: theory and practice // Rational design of stable protein formulations. – Boston: Springer, 2002. С. 109–133.
8. K. Izutsu, S. Yoshioka, T. Terao. Effect of mannitol crystallinity on the stabilization of enzymes during freeze-drying // Chemical and pharmaceutical bulletin. 1994. Т. 42. № 1. С. 5–8.
9. A.I. Kim, M.J. Akers, S.L. Nail. The physical state of mannitol after freeze-drying: Effects of mannitol concentration, freezing rate, and a noncrystallizing cosolute // Journal of pharmaceutical sciences. 1998. Т. 87. № 8. С. 931–935.

УДК 615.453; 615.011.4

ПОЛУЧЕНИЕ ТАБЛЕТОК С СОЧЕТАНИЕМ ЭКСТРАКТА ГИНКГО И ВИНПОЦЕТИНА

Н.В. Словеснова^{1*}, А.Ю. Петров¹, С.А. Главатских¹, В.И. Бойко¹, М.Ю. Кинев¹,
А.В. Кузнецов²

Резюме. В работе рассмотрен выбор вспомогательных веществ для получения таблеток, содержащих в качестве действующих веществ экстракт гинкго и винпоцетин. Использованы метод планирования эксперимента и оценка результатов с помощью функции желательности. Показана возможность использования косвенных показателей распадаемости на этапе выбора состава вспомогательных веществ. Установлен оптимальный состав, содержащий в качестве наполнителей микрокристаллическую целлюлозу и гидроксипропилцеллюлозу низкой степени замещения.

Ключевые слова: экстракт гинкго, винпоцетин, функция желательности, планирование эксперимента.

PREPARATION TECHNOLOGY OF TABLETS WITH COMBINATIONS OF THE EXTRACT OF GINKGO AND VINPOCETIN

N.V. Slovesnova^{1*}, A.Yu. Petrov¹, S.A. Glavatskikh¹, V.I. Boyko¹, M.Yu. Kinev¹, A.V. Kuznetsov²

Abstract. The paper discusses the process selection of excipients to obtain tablets containing as active ingredients Ginkgo biloba extract and vinpocetine. We used the method of experiment planning and evaluation of the results using the desirability function. Shown the ability to use indirect indicators of quality tablets at the stage of preliminary selection of excipient composition. The result of experiment planning and evaluation of it for desirability function was able to select the optimal composition of ingredients to create the drug in the form of tablets containing a combination of vinpocetine and Ginkgo biloba extract.

Keywords: ginkgo, vinpocetine, desirability function, design of experiments.

1 – ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 620026, Россия, г. Екатеринбург, ул. Декабристов, д. 32

2 – Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11

1 – Ural State Medical University, 32, Dekabristov str., Ekaterinburg, 620026, Russia

2 – Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare, 11, Kalinina av., Pyatigorsk, 357532, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: saarge@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В ряде случаев при создании таблетированных форм экстрактов лекарственных растений возникают проблемы с распадаемостью таблеток. Чаще всего это связано со способностью экстрактов склеивать таблеточную массу и препятствовать процессам набухания и дезинтеграции таблетки, а следовательно, и высвобождения из таблетки действующих веществ. Поэтому при разработке состава и технологии получения таблеток, содержащих водонерастворимые экстракты, важно выбрать вспомогательные вещества, которые обеспечили бы получение лекарственной формы с заданными характеристиками.

Ранее была показана целесообразность создания лекарственной формы для перорального применения, содержащей одновременно экстракт гинкго и винпоцетин [1, 2]. Целью настоящей работы является получение таблетированной лекарственной формы, содержащей 10 мг винпоцетина и 62 мг экстракта гинкго.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

В работе использовали зарегистрированные в РФ доступные и вспомогательные вещества: винпоцетин (Covex, Испания), содержание винпоцетина – 98,8% (не менее 98,5%), потеря в массе при высушивании – 0,26% (не более 0,5%); экстракт гинкго сухой (Finzelberg, Германия), содержание терпеновых трилактонов – 6,1% (от 6%), флавоноидов – 24,2% (от 24%), 96% субстанции проходит через сито с размером отверстий 0,3 мм, влажность при измерении методом Фишера – не более 5%;

МКЦ для прямого прессования (HEWETENType 200, JRSPharma, Германия), МКЦ для гранулирования (Flocel 101, GMW, Германия), диоксид кремния (Aerosil 200 Pharma, Evonik, Германия), гидрофобный диоксид кремния (Aerosil 202 Pharma, Evonik, Германия), комплексный наполнитель на силицированной МКЦ (Prosolv SMCC 90, JRS Pharma, Германия), декстраты (Emdex, JRS

Pharma, Германия), гидроксипропилцеллюлоза (ГПЦ, L-HPC-21, ShinEtsu, Япония), гипромеллоза (Pharmacoat 603, ShinEtsu, Япония), ПВП (Kollidon 25, BASF, Германия), лактоза (ParteckL 100, Merck, Германия), маннит (ParteckM 100, Merck, Германия), циклодекстраны (Cavamax), прежелатинизированный крахмал (Starch 1500), кросповидоны (Polyplasdon XL и XL-10, ISP, США), натрия кроскармеллоза (Disolcel), частично прежелатинизированный крахмал (Starch 1500, Colorcon, Великобритания), твин-80 (полисорбат-80, Panreac, Испания). На момент проведения исследований субстанции и вспомогательные вещества имели неистекший срок годности.

Методы

Получение модельных смесей и таблеток

Системный поиск состава проводили с использованием планирования эксперимента методом латинского квадрата. В качестве факторов были выбраны три группы вспомогательных веществ.

1. Наполнители: а – лактоза, b – маннит, с – декстраты, d – микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ, марка для гранулирования).
2. Связующие вещества: у – вода очищенная, х – повидон (1% водный раствор), z – гипромеллоза (1% водный раствор), w – крахмальный клейстер 5% (далее клейстер).
3. Дезинтегранты: N – крахмал картофельный, M – натрия карбоксиметилкрахмал, K – кросповидон (Polyplasdon, марка XL), L – кросповидон (Polyplasdon, марка XL-10).

Предварительно построили матрицу латинского квадрата путем случайного перемешивания подуровней факторов (таблица 1).

Таблица 1.

Матрица случайного распределения образцов методом латинского квадрата

Дезинтегранты*		Наполнители			
		D	C	B	A
Связующие	W	K ₁	N ₂	M ₃	L ₄
	Z	L ₅	K ₆	N ₇	M ₈
	X	N ₉	M ₁₀	K ₁₁	N ₁₂
	Y	M ₁₃	L ₁₄	L ₁₅	K ₁₆

Примечание: * подстрочным шрифтом указан номер образца.

Состав таблеток: винпоцетина 10 мг, экстракта гинкго 62 мг, наполнителя 219 мг, дезинтегранта 6 мг, связующего раствора до получения достаточно увлажненной массы, магния стеарата 3 мг; средняя масса таблеток – 0,3 г.

Общий способ получения гранулятов

В лабораторном смесителе смешивали винпоцетин, экстракт гинкго и наполнитель до однородности (в течение 20 мин), смачивали полученную смесь свя-

зующим раствором до получения однородной массы, через пробивное сито с размером отверстий 1,5 мм вручную протирали и высушивали в сушильном шкафу до остаточной влажности 5% при температуре 60 °С. Через сито с размером отверстий 1 мм повторно вручную протирали гранулят. Полученный гранулят опудривали смесью дезинтегранта и магния стеарата. Измеряли сыпучесть согласно общепринятой методике [4]. Прессовали на ручном гидравлическом таблеточном прессе с диаметром пуансона 9 мм при давлении 90 кг/см² (соответствует 8 МПа).

Определение фармацевтико-технологических показателей

В качестве откликов [5] рассматривали следующие показатели: сыпучесть таблетмассы, прочность таблеток на истирание, распадаемость. Фармако-технологические испытания проводили согласно общепринятым методам: для таблетмасс, гранулятов и опудренных гранулятов – согласно ОФС.1.4.2.0016.15, для таблеток – согласно ОФС.1.4.1.0015.15, ОФС.1.4.2.0013.15, ОФС.1.4.2.0011.15. Прочность на истирании определяли посредством прибора 1 (согласно ОФС).

Высоту таблеток определяли визуальным методом: таблетку помещали между опорой и рабочей поверхностью прибора. Далее фиксировали результат по циферблату. Измерения проводили индикатором часового типа ИЧ02 (ГОСТ 577-68).

Также использовали косвенные показатели распадаемости [доля поглощенной влаги после удерживания на смоченной поверхности (капиллярный эффект) и несмоченный остаток таблетки].

Для оценки вклада капиллярного эффекта, вызванного набуханием дезинтегранта и/или наполнителя, проводили определение доли поглощения влаги. Так, из используемых дезинтегрантов Na-КМК и кросповидоны относятся к набухающим, крахмал – к смешанному типу (и к набухающим, и к капиллярным). Предварительно взвешенную таблетку помещали на часовое стекло, установленное в анализаторе влажности MA-30 (Sartorius, Германия). Стандартным каплемером на таблетку наносили по 5 капель воды, при этом остаток жидкости оставался на стекле. Лишнюю влагу удаляли фильтровальной бумагой. Определяли долю полученного увеличения массы таблетки. Остаток таблетки взвешивали на аналитических весах с точностью до 0,00001 г. Находили отношение массовой доли (%) несмоченного остатка к массе сухой таблетки.

Несмоченный остаток представлял собой сухой, прочный центральный участок таблетки. Использование данного метода позволяет оценить степень проникновения воды внутрь таблетки. Испытания проводили в одинаковых условиях. Методики использовались исключительно для экспресс-сравнения данных внутри одного эксперимента, что соответствует концепции получения функции желательности и огра-

ничивает их использование выявлением наиболее подходящих вспомогательных веществ на этапах выбора состава.

Обработку результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel 2007. Для расчетов использовали стандартное квадратичное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор начального состава

Первые опыты были посвящены попыткам выбора состава для прямого прессования. Рассматривали наиболее распространенные вещества, повышающие сыпучесть смесей (наполнители – МКЦ для прямого прессования, циклодекстраны, маннит, лактоза; скользящие – аэросил, гидрофобный аэросил), а также комбинированный наполнитель, который согласно литературными данным применяли для прямого прессования экстрактов, – силицированную микрокристаллическую целлюлозу (PROSOLV SMCC 90) [3].

Таблица 2.

Показатели сыпучести смесей винпоцетина и экстракта гинкго при добавлении исследуемых вспомогательных веществ

Образец	Вспомогательные вещества	Доля вспомогательного вещества, %	Сыпучесть, г/с
1"	• МКЦ для прямого прессования (Type 200)	50	0,26±0,21
2"		63	0,55±0,19
3"	• МКЦ для прямого прессования (Type 200)	50	0,31±0,17
	• тальк	3	
4"	• циклодекстраны	68	отсутствует
5"	комплексный наполнитель на силицированной МКЦ (PROSOLV®)	52	0,37±0,16
5-1"	• комплексный наполнитель на силицированной МКЦ (PROSOLV®)	58	1,0±0,3
	• гидрофобный аэросил	10	
6"	гранулят, полученный с использованием МКЦ для гранулирования (FLOCEL® 101) и воды	50	6,30±0,37*

Примечание: * Таблетки не распадаются.

Как видно из таблицы 2, наилучшие показатели сыпучести продемонстрировали смеси, содержащие в качестве наполнителя силицированную микрокристаллическую целлюлозу. Самые низкие показатели сыпучести давали в качестве наполнителя циклодекстраны. Остальные наполнители давали сравнимые результаты.

Однако ни одно сочетание не дало положительных результатов (таблица 2, составы первого этапа помечены индексом «"»).

В связи с тем, что метод прямого прессования не привел к положительным результатам, далее рассматривали только способ влажной грануляции. Для сравнения показаны данные сыпучести для гранулята, полученного с использованием наполнителя МКЦ для гранулирования (образец 6").

В то же время таблетки, полученные из гранулята на основе МКЦ для гранулирования, имели прочность, превышающую требования ОФС ГФ XIII. Следовательно, было необходимо ввести дополнительные вспомогательные вещества и оптимизировать их количество. Экспериментальные исследования составов исследуемой субстанции в сочетании со всеми вспомогательными веществами требуют значительных затрат времени и материалов, рационального использования методов планирования эксперимента. В рамках дальнейших исследований оценивали влияние различных вспомогательных веществ на прочность и распадаемость таблеток.

Эксперимент проводили согласно матрице (таблица 1). У таблеточных масс определяли сыпучесть, насыпную плотность без уплотнения, насыпную плотность при уплотнении; у таблеток – прочность на истирание, прочность на раздавливание, время распадаемости. Показатели, рассматриваемые в эксперименте, неоднородны по единицам измерения и значимости. Поэтому было решено применить функцию желательности. Функция желательности Харрингтона нашла достаточно широкое применение в фармацевтических разработках благодаря возможности выявлять оптимальный вариант из имеющихся и вместе с тем помочь привести к единой оценке множества разнородных критериев [9, 10].

С помощью общепринятых оценок рассматриваемых показателей задавали граничные значения функций желательности (d_j). Значения сыпучести не имеют критериев оценки ни с точки зрения ОФС (ГФ РФ, ОФС «Порошки», «Таблетки» и «Степень сыпучести порошков»), ни с точки зрения USP [4]. Поэтому для формирования функции желательности показателя сыпучести (d_1) использовали принятые в технологии границы (таблица 3).

Далее, принимая зависимость между ними линейной на выбранных интервалах, пересчитывали значения измеряемых параметров (X_j) в значение функции желательности (d_j).

Полученные таблетки имели более 30Н – минимума по требованию ОФС.1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание».

Из-за низкой распадаемости образцов (более 50 мин) обобщенная функция желательности не позволила оценить влияние вспомогательных веществ. Поэтому рассматривали: 1) обобщенную функцию же-

лательности только по двум откликам (сыпучести X1 и прочности на истирание X2) и 2) обобщенную функцию желательности трех запланированных показателей. Расчет обобщенной оценки проводили по формулам (1) и (2) [8, 9] соответственно:

$$D_i = \sqrt[2]{d_{1i} \cdot d_{2i}}, \quad (1)$$

и

$$D_i = \sqrt[3]{d_{1i} \cdot d_{2i} \cdot d_{3i}}, \quad (2)$$

где D – обобщенная функция желательности, d_i – функция желательности.

Таблица 3.

Соответствие номинальных оценок, интервалов функции желательности и значений откликов

Оценка	Значение функции	Сыпучесть, г/с	Прочность на истирание, %	Косвенные показатели	
				Поглощение влаги, %	Твердый остаток, %
Очень плохо	0–0,2	0–3	92–95	0–1	100–90
Плохо	0,2–0,37	3–6	95–97	1–5	90–80
Удовлетворительно	0,37–0,63	6–9	97–98	5–20	80–20
Хорошо	0,63–0,8	9–13	98–99	20–40	20–5
Отлично	0,8–1	13–16	99–100	40–100	5–0

Таблица 4.

Прочность таблеток на раздавливание

Образец	Прочность, Н	Образец	Прочность, Н
1	N/A	9	161,7±28,7
2	N/A	10	65,5±8,8
3	N/A	11	150,8±19,0
4	N/A	12	39,3±5,7
5	160,2±30,1	13	168,4±0,6
6	53,2±13,1	14	137,6±36,5
7	64,7±19,3	15	174,5±12,5
8	40,9±7,8	16	66,8±4,2

Примечание: * N/A – проанализировать образец не удалось – прочность намного превышает требуемые пределы.

Дальнейший перевод обобщенной оценки в категориальное значение проводился согласно общепринятой шкале. Результаты расчетов представлены в таблице 5.

Результаты с использованием только двух откликов – сыпучести и прочности на истирание – не позволяют отобрать вещества так, чтобы обеспечить приемлемую скорость высвобождения веществ (в том числе по оценке показателя «распадаемость»). Поэтому для оптимизации выбора наполнителей и приблизительной оценки влияния выбранных вспомогательных веществ у всех образцов измеряли два искусственно введенных показателя. Во-первых, измеряли увеличение массы таблетки после выдерживания на смочен-

Таблица 5.

Значения откликов для опытов по плану латинского квадрата

п/п	Наполнитель	Связующий раствор	Дезинтеграт	Средняя масса таблетки, г	Высота таблетки, мм	Сыпучесть X_1 , г/с	Прочность на истирание, %	Распадаемость X_3 , мин	Оценка результатов в категориях без учета распадаемости	Оценка с учетом распадаемости
1	МКЦ	Клейстер	ПВП XL	0,294	3,56±0,01	6,61±0,10	99,50	Более 50 минут	Хорошо	удовлетворительно
2	Декстраты	Клейстер	Крахмал	0,295	3,54±0,01	9,71±0,28	99,30		Хорошо	удовлетворительно
3	Маннит	Клейстер	Na-KMK	0,296	3,55±0,01	9,14±0,17	99,50		Хорошо	удовлетворительно
4	Лактоза	Клейстер	ПВП XL-10	0,293	3,4±0,02	12,10±1,18	98,60		Хорошо	удовлетворительно
5	МКЦ	Раствор ГПМЦ	ПВП XL-10	0,292	3,60±0,01	7,43±0,27	99,79		Хорошо	удовлетворительно
6	Декстраты	Раствор ГПМЦ	ПВП XL	0,299	2,9±0,01	11,49±0,24	92,55		Хорошо	удовлетворительно
7	Маннит	Раствор ГПМЦ	Крахмал	0,297	3,55±0,02	8,62±0,18	94,78		Хорошо	удовлетворительно
8	Лактоза	Раствор ГПМЦ	Na-KMK	0,294	3,5±0,01	11,04±0,59	97,00		Удовлетворительно	плохо
9	МКЦ	Раствор ПВП	Крахмал	0,220	2,98±0,02	7,59±0,72	99,81		Хорошо	удовлетворительно
10	Декстраты	Раствор ПВП	Na-KMK	0,295	3,50±0,00	11,60±0,25	98,91		Хорошо	удовлетворительно
11	Маннит	Раствор ПВП	ПВП XL-10	0,295	3,58±0,00	9,40±0,94	99,63		Хорошо	удовлетворительно
12	Лактоза	Раствор ПВП	ПВП XL	0,283	3,33±0,00	11,75±0,86	99,01		Хорошо	удовлетворительно
13	МКЦ	Вода	Na-KMK	0,228	2,88±0,01	7,00±0,79	99,65		Хорошо	удовлетворительно
14	Декстраты	Вода	ПВП XL-10	0,290	3,52±0,01	12,98±7,38	99,52		Очень хорошо	удовлетворительно
15	Маннит	Вода	ПВП XL	0,291	3,52±0,01	11,19±1,29	99,55		Очень хорошо	удовлетворительно
16	Лактоза	Вода	Крахмал	0,287	3,40±0,02	9,55±0,13	98,50		Хорошо	удовлетворительно

ной водой фильтровальной бумаге в течение 30 минут (отклик X'_1). Во-вторых, после выдерживания таблетки на фильтровальной бумаге нераспавшийся остаток таблетки удаляли сухой фильтровальной бумагой и взвешивали (отклик X'_2). По двум данным показателям составы проявили себя по-разному (таблица 6) [10].

С помощью допущения о линейности зависимости функции желательности (D) от отклика (X) в указанных выше интервалах (таблица 3) находили значение функций желательности d_{X1} и d_{X2} . Такой подход оказался наиболее простым и одновременно информативным. Так как два косвенных показателя могут дать дополнительную информацию о влиянии выбранных веществ на способность таблетки к дезинтеграции, то для ранжирования вспомогательных веществ разумно включить их в функцию желательности, так чтобы их влияние на значение обобщенной функции (D) было меньше двух остальных. Поэтому второй анализ функции желательности проводили с использованием среднего арифметического откликов X'_1 и X'_2 по уравнению (3).

$$D_i = \sqrt[3]{d_{i1} \cdot d_{i2} \cdot \frac{(d_{X1} + d_{X2})}{2}}, \quad (3)$$

где D – обобщенная функция желательности; d_i – функции желательности, соответствующие откликам «сыпучесть» и «прочность на истирание»; d_{X1} и d_{X2} – функции желательности, полученные из косвенных характеристик.

Значения косвенных показателей, обобщенной функции желательности D и оценка результата приведены в таблица 6.

С учетом косвенных показателей наилучшими свойствами по распадеемости обладают образцы 1, 4 и 5 (таблица 6).

С целью выявления влияния значимости каждого из факторов – показатели и обобщенный критерий желательности – был проведен дисперсный анализ с последующей оценкой достоверности различий по критерию Фишера и Дункана [10]. На косвенные показатели распадеемости значимо влияли вид связующего раствора и наполнитель, в то время как используемый дезинтегрант такого влияния не оказывал. Исходя из того, что в экспериментах были использованы оба типа дезинтегрантов и существенной разницы между ними не выявлено, разумно предположить, что проблема заключается в смачиваемости таблетки.

Тем не менее, несмотря на отсутствие достоверных различий в значениях факторов, мы, основываясь на существующих различиях, составили ряды желательности вспомогательных веществ (таблица 7).

Таблица 7.

Ряды желательности вспомогательных веществ

Вспомогательное вещество	Ряд желательности
Наполнитель	МКЦ > лактоза > декстраты > маннит
Связующее	Крахмальный клейстер = раствор гипромеллозы > раствор ПВП > вода
Дезинтегрант	Полипласдон XL > полипласдон XL-10 > NaКМК > крахмал

По результатам исследования наиболее подходящим наполнителем для таблетированной формы оказалась микрокристаллическая целлюлоза, связующим раствором – крахмальный клейстер или раствор гипромеллозы, дезинтегрантом – полипласдон XL.

При выборе между крахмальным клейстером и раствором гипромеллозы следует учитывать высокие затраты времени на приготовление клейстера, включающее операции приготовления суспензии и варки

Таблица 6.

Оценка функции желательности по результатам включения двух косвенных показателей

п/п	Наполнитель	Связующий раствор	Дезинтегрант	X'_1 , %	X'_2 , %	D	Оценка результата
1	МКЦ	Клейстер	ПВП XL	64,75	0	0,79	Хорошо
2	Декстраты	Клейстер	Крахмал	64,75	0	0,39	Удовлетворительно
3	Маннит	Клейстер	Na-КМК	0	89,73	0,40	Удовлетворительно
4	Лактоза	Клейстер	ПВП XL-10	0,97	94,5	0,74	Хорошо
5	МКЦ	Раствор ГПМЦ	ПВП XL-10	10,64	0	0,70	Хорошо
6	Декстраты	Раствор ГПМЦ	ПВП XL	47,13	26,11	0,56	Удовлетворительно
7	Маннит	Раствор ГПМЦ	Крахмал	1,37	40,45	0,56	Удовлетворительно
8	Лактоза	Раствор ГПМЦ	Na-КМК	2,25	80,13	0,50	Удовлетворительно
9	МКЦ	Раствор ПВП	Крахмал	6,67	45,7	0,47	Удовлетворительно
10	Декстраты	Раствор ПВП	Na-КМК	7,55	95,49	0,42	Удовлетворительно
11	Маннит	Раствор ПВП	ПВП XL-10	0	86,68	0,15	Очень плохо
12	Лактоза	Раствор ПВП	ПВП XL	0	96,82	0,57	Удовлетворительно
13	МКЦ	Вода	Na-КМК	2,15	78,79	0,44	Удовлетворительно
14	Декстраты	Вода	ПВП XL-10	5,59	96,64	0,47	Удовлетворительно
15	Маннит	Вода	ПВП XL	0	85,71	0,28	Плохо
16	Лактоза	Вода	Крахмал	0	93,4	0,17	Очень плохо

клейстера. Раствор гипромеллозы же готовится простым растворением, не требующим дополнительных стадий и затрат электроэнергии на нагревание. Поэтому предпочтение отдано раствору ГПМЦ.

Исследование влияния различных наполнителей на сыпучесть смеси показало неудовлетворительные результаты и невозможность использования прямого прессования. В ходе проведенного по плану латинского квадрата эксперимента был выбран следующий состав таблетированной формы: винпоцетин – 3,3%, экстракт гинкго – 20,7%, микрокристаллическая целлюлоза – 73%, гипромеллоза (в виде 1% раствора) – 0,2%, полипласдон XL – 2%, магния стеарат – 1%.

Полученный модельный состав показал плохую распадаемость (более 40 мин), что потребовало провести его модификацию введением частично прежелатинизированного крахмала – дезинтегранта с усиленным набуханием по сравнению с обычным крахмалом, твина-80 – капиллярного дезинтегранта, способствующего намоканию гранул, и ГПЦ – наполнителя со свойствами набухающего дезинтегранта (таблица 8). Использование твина-80 и ГПЦ приводило к уменьшению времени распадаемости таблеток до приемлемого уровня.

Таким образом, использование косвенных методов позволило определить базовый состав, а также направление дальнейшего поиска. Базовый состав был скорректирован добавлением веществ, способствующих набуханию и смачиванию частиц гранулята. В результате был выбран оптимальный состав вспомогательных веществ (образец 20).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований по созданию таблетированной формы на основе экстракта гинкго двулопастного и винпоцетина получены результаты, свидетельствующие о необходимости предварительной грануляции ингредиентов и моди-

фикации состава введением дополнительных дезинтегрантов. Получен наиболее перспективный состав: наполнитель – микрокристаллическая целлюлоза, связующий раствор – крахмальный клейстер или раствор гипромеллозы, дезинтегрант – полипласдон XL. Для удовлетворения фармакопейных требований к распадаемости таблеток скорректирован состав дезинтегрантов путем замены части МКЦ на ГПЦ в соотношении ГПЦ : МКЦ – 1:1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н.В. Словеснова, Л.П. Ларионов, А.Ю. Петров. Влияние совместного применения винпоцетина и экстракта гинкго двулопастного на функции центральной нервной системы крыс // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. № 1. С. 82–85.
2. Патент РФ 2500415. Комбинированный лекарственный препарат / Н.В. Словеснова, А.Ю. Петров; патентообладатель Уральская государственная медицинская академия. – Заявл. 24.11.11; опубл. 10.12.13.
3. Э.В. Стоянов, Р. Воллмер. Успешный опыт применения PROSOLV SMCC® // Фармацевтические технологии и упаковка. 2015. № 4. С. 68–71.
4. ОФС 1.4.2.0013.15. Распадаемость таблеток и капсул // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд., вып. 2. – М.: ФЭМБ, 2015.
5. ГОСТ 24026-80. Исследовательские испытания. Планирование эксперимента. Термины и определения.
6. Т. Хесс. От влажного гранулирования к прямому прессованию // Фармацевтические технологии и упаковка. 2013. № 6. С. 106–109.
7. Н.В. Меньшутина, Е.А. Ершова, А.О. Касимова. Моделирование процесса нанесения покрытия на микросферы // Тонкие химические технологии. 2010. Т. 5. № 2. С. 42–45.
8. И.В. Алексеева и др. Биофармацевтические исследования биоразстворимых лекарственных пленок с анилокаином // Химико-фармацевтический журнал. 2005. Т. 41. № 9. С. 49–52.
9. Ю.А. Макаричев, Ю.Н. Иванников. Методы планирования эксперимента и обработки данных: учеб. пособие. – Самара: СамГТУ, 2016. 131 с.
10. В.Н. Костин, Н.А. Тишина. Статистические методы и модели: учебное пособие. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2004. 138 с.

Таблица 8.

Влияние дополнительных дезинтегрантов на свойства полученных таблеток

Состав №	17	18	19	20
	Состав, г			
Экстракт гинкго билоба	10,00	10,00	10,00	10,00
Винпоцетин	1,61	1,61	1,61	1,61
МКЦ РН-101	33,00 (71,6%)	29,78 (62,0%)	35,04 (72,5%)	16,50 (36,0%)
ГПЦ	–	–	–	16,50 (36,0%)
Крахмал (Starch 1500)	–	5,26 (10,9%)	–	–
Твин-80	–	–	0,24 (0,5%)	–
Раствор ГПМЦ 0,05% (Pharmcoat 603)	2,3 мл (0,001172 г) (0,0025%)	2,3 мл (0,001172 г) (0,0024%)	2,3 мл (0,001172 г) (0,0024%)	2,3 мл (0,001172 г) (0,0025%)
Стеарат магния	0,48 (1%)	0,48 (1%)	0,48 (1%)	0,41 (1%)
ПВП (Polyplasdone XL-10)	0,97 (2%)	0,96 (2%)	0,97 (2%)	0,83 (2%)
Фармацевтико-технологические показатели				
Распадаемость, мин	Более 40	Более 40	26,7±9,6	9,25±0,25
Сыпучесть, г/с	11,6±2,0	10,7±1,2	11,4±1,3	11,2±2,0

УДК 621.039.8

СИНТЕЗ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА, МЕЧЕННОГО РЕНИЕМ-188 И СОДЕРЖАЩЕГО ЛИПИДОЛ

Г.Е. Кодина¹, А.О. Малышева^{1*}, Н.А. Таратоненкова¹, Е.А. Лямцева¹, Н.А. Константинов¹

Резюме. Радиофармацевтический лекарственный препарат, меченный рением-188 и содержащий липидол, синтезируют в медицинских организациях из набора реагентов и элюата из генератора ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re. Набор реагентов состоит из трех флаконов: лиофилизированного реагента № 1, содержащего олова дихлорид, лиофилизированного реагента № 2, содержащего натрия дитиобензоат, и раствора липиодола. Была разработана технология получения лиофилизированного реагента, содержащего олова дихлорид. Перед синтезом радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП) проводили контроль качества раствора натрия перрената, ¹⁸⁸Re, получаемого из генератора (элюат). Результаты контроля качества РФЛП, полученного с использованием лиофилизированного реагента № 1 отечественного и импортного производства, показали их идентичность по показателю «радиохимическая чистота».

Ключевые слова: радиофармацевтические лекарственные препараты, рений-188, липидол, гепатоцеллюлярная карцинома, контроль качества, радиохимическая чистота.

SYNTHESIS OF RADIOPHARMACEUTICAL WITH RHENIUM-188 AND LIPIODOL

G.E. Kodina¹, A.O. Malysheva^{1*}, N.A. Taratonenkova¹, E.A. Lyamtseva¹, N.A. Konstantinov¹

Abstract. Radiopharmaceutical with rhenium-188 and lipiodol is synthesized in medical organizations from a kit of reagents and eluate from the ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re generator. The kit of reagents consists of three vials: lyophilized reagent N 1 containing tin dichloride, lyophilized reagent N 2 – sodium dithiobenzoate, and reagent N 3 – lipiodol. A domestic technology was developed for obtaining a lyophilized reagent containing tin dichloride. Quality control of the sodium perhenate, ¹⁸⁸Re solution obtained from the generator (eluate) should be carried out before each synthesis of the radiopharmaceutical. The results of quality control of radiopharmaceuticals synthesized from lyophilized reagent N 1 of domestic and imported production, showed their identity by index «radiochemical purity».

Keywords: radiopharmaceuticals, rhenium-188, lipiodol, hepatocellular carcinoma, quality control, radiochemical purity.

1 – ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России), 123182, Россия, г. Москва, ул. Живописная, д. 46

1 – A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, 46, Zhivopisnaya str., Moscow, 123182, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: an-malysheva@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Радиофармацевтический лекарственный препарат (РФЛП), меченный рением-188 и содержащий липидол, предназначен для внутриартериальной радионуклидной терапии (ВАРТ) гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). ГЦК – наиболее распространённая опухоль печени, результат злокачественного перерождения гепатоцитов. Является пятой самой распространённой опухолью по всему миру и даже занимает второе место с точки зрения смертности (около 1 миллиона смертей ежегодно). Частота возникновения ГЦК значительно варьируется по регионам. Наиболее высокий уровень заболеваемости отмечается в Юго-Восточной Азии и Африке, но частота возникновения этой опухоли в развитых странах, особенно в Европе, стремительно возрастает [1].

Механизм действия РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липидол, основан на эмболизации (блокировании кровотока) питающей опухоль артерии и воздействии на раковые клетки ионизирующим излучением. В настоящее время в мире выпускается только один РФЛП для радионуклидной терапии ГЦК – ¹³¹I-липидол (Lipiodol[®], Франция).

В последнее десятилетие для лечения опухолей печени многие исследователи за рубежом предлагают использовать РФЛП, меченный рением-188 и содержащий липидол. Это связано с тем, что, с одной стороны, появились коммерческие генераторы ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re, позволяющие получать в медицинских учреждениях рений-188. Радионуклид является бета-гамма-излучателем, $E_{\beta\text{max}}=2,1$ МэВ, $E_{\gamma}=155$ кэВ, $T_{1/2}=17$ ч. Максималь-

ный пробег бета-частиц в тканях – 11 мм при средней глубине проникновения 3,8 мм. Наличие лиофилизированных наборов реагентов, с другой стороны, позволило синтезировать радиофармацевтический препарат непосредственно в медицинском учреждении перед его использованием. Полученные первичные данные клинических исследований РФЛП, меченного ^{188}Re и содержащего липиодол, показали, что он хорошо переносится больными и достаточно эффективен [2–4]. По сравнению с ^{131}I -липиодолом РФЛП, меченный ^{188}Re , оказывает меньший цитотоксический эффект на клетки периферической крови [5, 6].

Липиодол представляет собой смесь моно-, ди- и трийодированных этиловых эфиров линолевой, олеиновой и стеариновой кислот; обычно он содержит до 38% йода. В 1979 году К. Nakakuma и др. [7] обнаружили селективную задержку йодированного масла в очагах ГЦК после введения в печеночную артерию. Установлено, что липиодол задерживается в ГЦК на срок от нескольких недель до полугода и более, тогда как выведение его из нормальной паренхимы печени происходит в течение 7 суток [8].

Эффективный и надежный способ получения РФЛП, меченного ^{188}Re и содержащего липиодол, из лиофилизированных наборов реагентов «Lipo-SSS», которые выпускает для исследовательских целей IZOTOP (Institute of Isotopes Co., Будапешт, Венгрия), и элюата из генератора (раствор натрия перрената, ^{188}Re) был разработан совместно сотрудниками Всестороннего онкологического центра маркиза Эжена и Национальной высшей школы химии в г. Ренне (ENSCR, Франция) [9].

РФЛП, меченный рением-188, представляет собой комплекс ^{188}Re с дитиобензоатом, экстрагированный липиодолом. В этом соединении атом металла окружен шестью атомами серы и находится в 3-валентном состоянии, в котором он более устойчив, чем в пятивалентном состоянии [10, 11].

Набор лиофилизированных реагентов Lipo-SSS состоит из двух флаконов с реагентами: флакон № 1 содержит лиофилизированную композицию восстановителя, в качестве которого используется олова дихлорида дигидрат, флакон № 2 содержит комплексообразователь в лиофилизированном виде. В настоящее время в России данный набор не производится и не закупается и, следовательно, не проводится синтез РФЛП на основе рения-188. Липиодол «Lipiodol-Ultra-Fluide» (Guerbert LLC, Франция) зарегистрирован в России с 21.04.2011 (регистрационное удостоверение П № 008677). Регистрационное удостоверение действует бессрочно, и данный компонент набора доступен в России.

В связи с вышеизложенным целью работы является освоение технологии получения лиофилизированной композиции для восстановления рения-188 (реагент № 1), разработка методов анализа компонентов, входящих в лиофилизированную композицию, синтез РФЛП и сравнение качества лекарственных препаратов [по параметрам «рН» и «радиохимическая чистота (РХЧ)»], приготовленных на основе лиофилизатов флакона № 1 отечественного и импортного производства. Решение поставленных задач позволит создать новый радиофармацевтический лекарственный препарат терапевтического назначения для нужд отечественной ядерной медицины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ллиофилизированную композицию реагента № 1 получали следующим образом: в предварительно пробарботированной аргоном (ГОСТ 10157-79, высш. сорт) воде для инъекций (ООО «Гротекс», Россия) растворяли глюконат натрия (кат. № S2054, Sigma-Aldrich, США), оксалата калия моногидрат (кат. № 60425, Fluka, Швеция) и аскорбиновую кислоту (кат. № 95212, Fluka, Швеция). Раствор перемешивали током аргона в течение 20 мин. В получившийся раствор при непрерывном барботировании аргоном добавляли олова дихлорида дигидрат (кат. № 31669, Sigma-Aldrich, США), перемешивали током аргона до полного растворения в течение 10 мин. Затем полученный раствор фильтровали через стерилизующий фильтр (Merck Millipore, Швеция, мембрана фильтра Durapore™) с размером пор 0,22 мкм, фасовали по 1,0 мл при помощи степпера механического Biohit (Sartorius, Финляндия) во флаконы для лекарственных средств (Datwyler Pharma Packaging, Бельгия, Германия, Италия) и помещали в лиофильную сушику Genesis SQ EL-85 (VerTis, Германия). По окончании процесса лиофилизации камеру сушики заполняли аргоном, флаконы с лиофилизатом вынимали, быстро закрывали резиновыми пробками, алюминиевыми колпачками и укупоривали закатыванием при помощи механического закрывающего ключа (Bochem, Германия).



Степпер механический BIOHIT, Sartorius

Синтез РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липиодол, проводили следующим образом: во флакон с лиофилизированной композицией реагента № 1 вводили 1,0 мл раствора натрия перрената, ^{188}Re , с необходимой объемной активностью. Затем флакон № 1 инкубировали 15 мин при комнатной температуре, периодически встряхивая. Во флакон № 2, содержащий комплексообразователь в лиофилизированном

виде, вводили 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида изотонического для инъекций (рег. № ЛС-002680) и перемешивали до полного растворения компонента. Из флакона № 2 отбирали все содержимое и вносили его во флакон № 1. Получившийся раствор инкубировали на сухой бане Sahara 310 (Rocker, Тайвань) при 100 °С в течение 15 мин. После нагревания раствор выдерживали при комнатной температуре около 5 мин, после чего вводили во флакон 3 мл липиодола «Lipiodol-Ultra-Fluide». Смесь перемешивали при помощи шейкера MS3 basic (IKA, Германия) 5 мин. Затем смесь центрифугировали 10 мин при 2200 г на центрифуге ОПН-16 («Labtex», Россия) и проводили разделение фаз. Комплекс рения-188 с дитиобензоатом натрия экстрагируется липиодолом и находится в нижнем слое. Отбирали жидкость из нижнего слоя и пропускали ее через стерилизующий фильтр 0,22 мкм в стерильный чистый флакон вместимостью 10 мл.

Определение радиохимической чистоты (РХЧ) синтезированных РФЛП проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Для этого применяли пластинки с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×100 мм (кат. № 5553, Merck, Германия), а в качестве подвижной фазы использовали смесь петролейного эфира (кат. № 101316-46-5, Sigma-Aldrich, США) и дихлорметана (кат. № CL03352500, Scharlab, Испания) в соотношении 6:4. Хроматографирование проводили восходящим методом [12]. Распределение компонентов препарата по длине хроматограммы определяли путем ее сканирования со скоростью 1 мм/с, используя сканер хроматограмм Mini-scan (Bioscan, США) с детектором γ -излучения, который регистрирует количество импульсов от равномерно движущейся хроматограммы.

Определение РХЧ раствора натрия перрената, ^{188}Re , проводили методом ТСХ. Для этого использовали пластинки с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке 10×100 мм (кат. № 5553, Merck, Германия), а в качестве растворителя – ацетон (х.ч., ТУ 6-09-1707-77, Россия). Хроматографирование проводили восходящим методом [12]. Сканирование хроматограмм проводили на приборе «ГаммаСкан-01А» (ООО «НТЦ «Амплитуда», Россия) с детектором γ -излучения, который регистрирует количество импульсов от равномерно движущейся со скоростью 1 мм/с хроматограммы. В данной системе натрия перренат, ^{188}Re , движется с фронтом растворителя. Типичные радиохроматограммы, полученные в результате определения РХЧ раствора натрия перрената, ^{188}Re , полученного из генераторов, представлены на рисунке 1.

Определение содержания олова дихлорида дигидрата в растворе лиофилизированного реагента № 1 проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Helios Omega (Thermo Scientific,

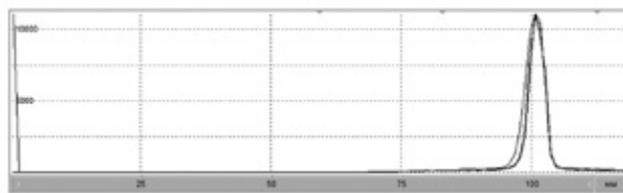


Рисунок 1. Радиохроматограммы раствора натрия перрената, ^{188}Re

США) с использованием 0,16% раствора калия рениевокислого (кат. № 243590, Aldrich, США) и 20% раствора калия роданистого (кат. № 207779, Sigma-Aldrich, США) в кювете с толщиной слоя 10 мм. Образующийся комплекс имеет максимум поглощения при 353 нм [13]. Для определения лиофилизированный реагент растворяли в 10,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида изотонического для инъекций.

Определение содержания аскорбиновой кислоты в растворе лиофилизированного реагента № 1 проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Helios Omega (Thermo Scientific, США) с использованием 10% раствора натрия цитрата (кат. № 121656, Panreac, Испания), раствора квасцов железомонийных (ч.д.а., ТУ 6-09-5359-88, Россия), 0,1% раствора о-фенантролина (кат. № 21110, Dudley Chemical, США) в кювете с толщиной слоя 10 мм. Образующийся комплекс имеет максимум поглощения при 510 нм [14]. Для определения лиофилизированный реагент растворяли в 5,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида изотонического для инъекций.

Определение pH растворов РФЛП и лиофилизированного реагента № 1 проводили методом потенциометрии на pH-метре Seven Easy S20 (Mettler Toledo, Швейцария) [15]. Измерение активности РФЛП и раствора натрия перрената, ^{188}Re , проводили с помощью дозкалибратора Isomed 2010 (Nuklear-Medizintechnik Dresden GmbH, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рений-188 получают из сорбционного генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ при распаде материнского радионуклида вольфрама-188, который образуется при облучении в ядерном реакторе мишеней, обогащенных по изотопу ^{186}W по реакции $^{186}\text{W}(2n, 2\gamma)^{188}\text{W}$. При элюировании генератора рений в форме натрия перрената (NaReO_4) переходит в раствор. Объемная активность РФЛП на основе липиодола, меченного рением-188, составляет 120–1850 МБк/мл [10].

При синтезе РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липиодол, раствор натрия перрената, ^{188}Re (элюат) получали из генератора ГРЕН-1 (Физико-энергетический институт имени А.И. Лейпунского,

г. Обнинск, Россия) и генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ с дистанционной системой элюирования и концентрирования элюата NEPTIS-TH (IRE, Бельгия).

Перед синтезом РФЛП необходимо контролировать качество элюата, а именно его радиохимическую чистоту, используя хроматографическую систему, описанную выше. РХЧ растворов натрия перрената, ^{188}Re , составила более 99%, что соответствует требованиям, предъявляемым к качеству раствора натрия перрената, ^{188}Re , используемого для синтеза различных РФЛП.

Синтез РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липидол, состоит из двух стадий. На первой стадии при введении раствора натрия перрената, ^{188}Re , во флакон с лиофилизированным реагентом № 1 происходит восстановление рения-188 двухвалентным оловом. Олова дихлорида дигидрат ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – соединение, которое наиболее часто используется в качестве восстановителя технеция-99м и рения-188 при получении радиофармацевтических препаратов, содержащих эти радионуклиды. При производстве лиофилизированных реагентов на любой стадии технологического процесса возможна потеря двухвалентного олова за счет его окисления до четырехвалентного состояния. Содержание в лиофилизированном реагенте более 30% Sn(IV) может привести к снижению качества конечного продукта – готового радиофармацевтического препарата. Поэтому для предотвращения окисления двухвалентного олова в состав реагента вводят различные антиоксиданты и стабилизаторы, а сам процесс приготовления раствора реагента проводят при постоянном барботировании током инертного газа, в качестве которого обычно используется аргон или азот.

Важное значение при получении лиофилизированных реагентов имеет разработка программы лиофильного высушивания. В результате поиска оптимальной программы лиофильного высушивания была выбрана следующая технология процесса:

- в ручном режиме проводили предварительное охлаждение полок рабочей камеры до температуры $-35\text{ }^\circ\text{C}$. Время охлаждения полок до этой температуры составило примерно 30 мин. Затем в охлажденную камеру помещали флаконы с расфасованным жидким реагентом № 1;
- задавали температуру охлаждения конденсора до $-70\text{ }^\circ\text{C}$ и значение вакуума при высушивании – 100 мТор;
- задавали шаги цикла высушивания, которые представлены в таблице 1, и запускали программу. Время высушивания составляло примерно 22 ч;

- после окончания цикла высушивания рабочую камеру заполняли аргоном, который поступал в рабочую камеру через колонку с осушителем. Время сброса вакуума устанавливали 25 мин.

Таблица 1.

Шаги цикла лиофилизации жидкого реагента № 1

№ шага	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Температура, $^\circ\text{C}$	-35	-25	-20	-15	-10	+0	+15	+25	+25
Длительность шага, мин	20	120	120	120	120	120	180	60	420

Как видно из приведенной программы, время выдерживания реагента при температуре $-35\text{ }^\circ\text{C}$ составило 20 мин. Если время замораживания будет меньше, то при включении вакуумного насоса замерзший реагент будет вытягиваться из флакона, что может привести к выбросу части продукта на поддон. При повышении температуры полка на пять градусов продукт выдерживается на каждом шаге программы по 2 ч. Ускорение этого процесса приводило к получению некачественного продукта (внешний вид лиофилизата, ухудшение растворимости лиофилизата, выброс продукта из флаконов). На стадии досушивания лиофилизата он выдерживается при температуре $+25\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 7 ч. Уменьшение этого времени приводило к получению лиофилизата, содержащего большое количество влаги (более 3%), что сказывалось на сроке его хранения. Принимая во внимания все отмеченные моменты, нам удалось добиться получения лиофилизата хорошего качества. При хранении лиофилизата в течение 12 мес. ухудшения его качества не наблюдалось. Согласно программе исследования стабильности готовых лекарственных средств образцы лиофилизатов, отобранные для изучения стабильности, хранились в товарной упаковке (флаконы с лиофилизатом, закупоренные пробками резиновыми и обжатые колпачками алюминиевыми в контурной ячейковой упаковке из пленки поливинилхлоридной в пачке картонной) в холодильнике при температуре от $2\text{ }^\circ\text{C}$ до $10\text{ }^\circ\text{C}$. Контроль качества лиофилизатов проводили каждые три месяца в течение 15 месяцев по следующим параметрам: растворимость лиофилизата в 1,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида изотонического для инъекций (ГФ XIII, ОФС.1.2.1.0005.15), прозрачность и цветность раствора лиофилизата (ГФ XIII, ОФС.1.2.1.0007.15 и ОФС.1.2.1.0006.15), содержание $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, содержание аскорбиновой кислоты, pH раствора лиофилизата (ГФ XIII, ОФС.1.2.1.0004.15). Результаты исследования стабильности трех серий лиофилизатов отечественного производства представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты контроля качества лиофилизатов отечественного производства в заявленном виде товарной упаковки в течение срока годности

Параметр	Норма, мг/флакон	Срок хранения, мес.	Серия 1	Серия 2	Серия 3
Содержание олова дихлорида дигидрата, мг/флакон	от 3,6 до 4,4	0	4,0±0,09	4,4±0,09	3,9±0,13
		3	4,0±0,08	4,0±0,09	4,1±0,08
		6	4,1±0,10	3,9±0,12	4,2±0,10
		9	4,2±0,07	4,1±0,09	4,4±0,08
		12	4,1±0,11	4,0±0,11	4,1±0,12
		15	4,3±0,10	4,2±0,10	4,4±0,09
Содержание аскорбиновой кислоты, мг/флакон	от 27,0 до 34,0	0	31,9±0,7	31,5±0,1	29,3±0,8
		3	30,8±0,5	33,2±0,5	30,3±0,7
		6	31,4±0,3	32,7±0,6	28,0±0,2
		9	28,3±0,5	29,0±0,8	28,7±0,2
		12	29,2±0,7	29,5±0,2	30,7±0,5
		15	30,1±0,2	31,1±0,3	30,1±0,8
pH раствора	от 3,3 до 4,3	0	4,3	3,8	3,9
		3	4,2	3,5	3,8
		6	3,9	3,7	4,0
		9	4,1	3,5	4,0
		12	4,0	3,6	4,1
		15	4,1	3,7	4,1

В ходе лиофилизации содержание компонентов во флаконе может измениться, поэтому после окончания процесса необходимо проводить их количест-

венное определение, используя достоверные и надежные методы анализа компонентов, особенно для определения двухвалентного олова в смеси используемых реактивов. Из множества методов, которые применяются для определения двухвалентного олова в различных соединениях, лишь некоторые могут быть использованы для количественного определения Sn(II) в лиофилизированных реагентах, так как в состав этих реагентов входят различные лиганды, стабилизаторы, антиоксиданты и другие аналогичные соединения, мешающие определению или замедляющие развитие окраски. Так, йодометрическое титрование, которое успешно применяется для определения содержания двухвалентного олова в исходном реактиве, совершенно неприемлемо для определения Sn(II) в лиофилизированных реагентах. Пока только методы спектрофотометрического определения и полярографические методы могут успешно использоваться для определения двухвалентного олова в наборах реагентов, однако последние более капризны и трудоемки.

Определение содержания олова дихлорида дигидрата в лиофилизированном реагенте № 1 проводили спектрофотометрическим методом по калибровочному графику, представленному на рисунке 2.

Определение содержания аскорбиновой кислоты в лиофилизированном реагенте № 1 проводили спектрофотометрическим методом по калибровочному графику, представленному на рисунке 3.

Результаты определения содержания олова дихлорида дигидрата и аскорбиновой кислоты в лиофилизированных реагентах № 1 отечественного производства представлены в таблице 2. Значения pH раствора лиофилизированного реагента № 1 после его

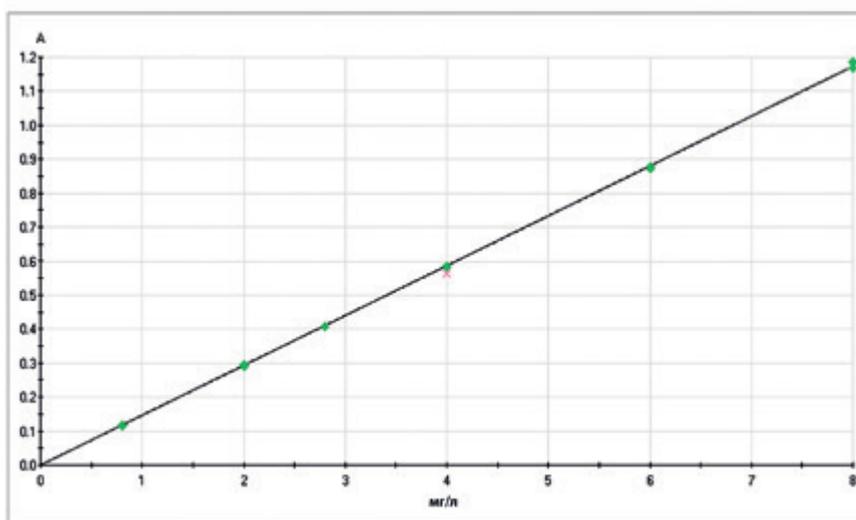


Рисунок 2. Калибровочный график для определения содержания Sn(II) в лиофилизированном реагенте № 1

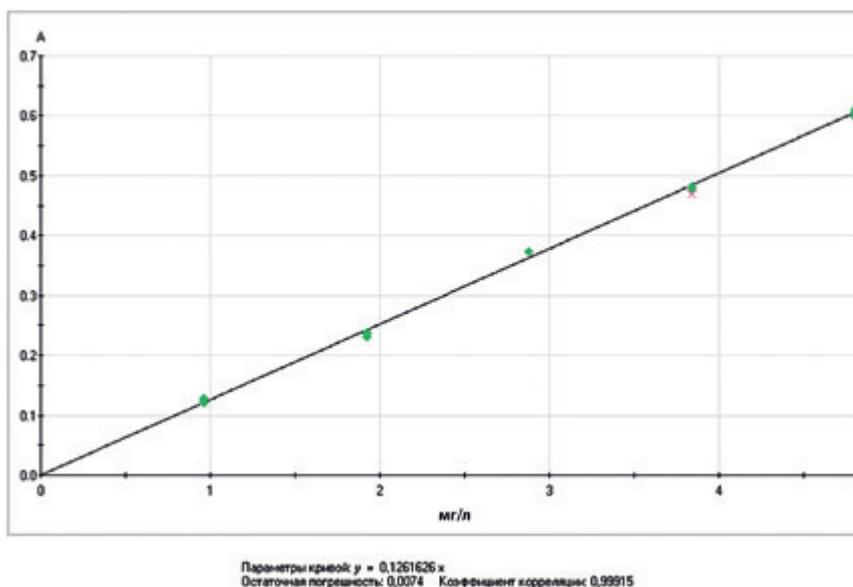


Рисунок 3. Калибровочный график для определения содержания аскорбиновой кислоты в лиофилизированном реагенте № 1

растворения в 1,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида изотонического для инъекций также представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, величина pH и содержание основных компонентов в лиофилизированном реагенте № 1 отечественного производства соответствуют установленной норме. Разработанная методика количественного определения содержания олова дихлорида дигидрата позволяет проводить определение с относительной погрешностью 6,5% в диапазоне измерений 3,6–4,4 мг/флакон, при этом предел повторяемости составляет 3,6%, а предел воспроизводимости – 4,3% при доверительной вероятности $P=0,95$. Разработанная методика количественного определения содержания аскорбиновой кислоты позволяет проводить определение с относительной погрешностью 1,3% в диапазоне измерений 27,0–34,0 мг/флакон, при этом предел повторяемости составляет 5,4%, а предел воспроизводимости – 6,5% при доверительной вероятности $P=0,95$.

Основные примеси, которые могут образовываться при приготовлении РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липиодол, – это невосстановленный перренат натрия, коллоидная форма восстановленного рения-188 и другие примеси – продукты неполного взаимодействия рения-188 с комплексообразователем. В хроматографической системе, которая была использована нами для определения РХЧ, комплекс ^{188}Re с дитиобензоатом имеет $R_f=0,7$, а перренат натрия, ^{188}Re , и гидролизированный восстановленный рений-188 остаются на старте ($R_f=0$). На рисунке 4 представлена типичная хроматограмма РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липиодол.

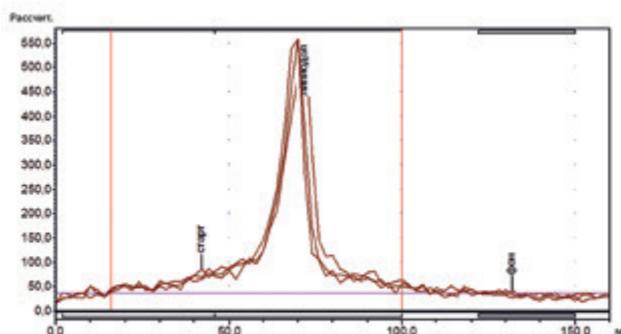


Рисунок 4. Радиохроматограммы определения РХЧ РФЛП, меченного рением-188 и содержащего липиодол

Результаты определения РХЧ и измерения pH лекарственных препаратов с рением-188, приготовленных с использованием лиофилизированных реагентов № 1 отечественного и импортного производства, представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, очевидной разницы по параметрам «РХЧ» и «pH» не наблюдается. Относительная погрешность методики определения РХЧ составила 5,6%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы была освоена технология получения радиофармацевтического лекарственного препарата, меченного рением-188 и содержащего липиодол, и отработан способ получения лиофилизированного реагента № 1 отечественного производства. Разработанные методики количественного определения содержания олова дихлорида дигидрата и аскорбиновой кислоты позволяют надежно и достоверно

Таблица 3.

Результаты определения РХЧ и измерения pH лекарственных препаратов, меченных рением-188 и содержащих липиодол, приготовленных с использованием лиофилизированных реагентов № 1 отечественного и импортного производства

		Лиофилизированный реагент № 2	Объемная активность препарата, МБк/мл	РХЧ, %		pH
				Сразу после приготовления	Через 24 ч после приготовления	
Лиофилизированный реагент № 1 отечественного производства	Серия 1	Имп.	162,7	92,4±0,5	90,2±0,8	4,9
	Серия 2		163,3	97,2±0,5	95,7±0,8	4,0
Лиофилизированный реагент № 1 из набора реагентов Lipo-SSS, (IZOTOP, Institute of Isotopes Co., Будапешт, Венгрия)	Серия 1		162,7	95,4±1,3	92,2±1,1	4,0
	Серия 2		163,3	96,6±0,5	95,0±1,1	4,1

проводить анализ лиофилизированного реагента. Результаты определения РХЧ радиофармацевтического лекарственного препарата, меченного рением-188 и содержащего липиодол, показали, что для синтеза РФЛП можно использовать лиофилизированный реагент № 1 как импортного, так и отечественного производства.

Данная работа была выполнена в рамках государственного контракта № 13411.1008799.13.191 «Трансфер зарубежных разработок радиофармацевтического лекарственного препарата на основе липиодола, меченного рением-188, для внутриартериальной радионуклидной терапии гепатоцеллюлярной карциномы и проведение его доклинических и клинических исследований» в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

ЛИТЕРАТУРА

- E. Garin, P. Bourguet. Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment, 3rd Ed. / Ed. by P.J. Ell and S.S. Gambhir. – Edinburgh: Churchill-Livingstone, 2004. P. 473–483.
- K. Bacher, B. Lambert, F. De Vos et al. Patients dosimetry after ¹⁸⁸Re-Lipiodol therapy // Eur. J. Nucl. Med. 2003. V. 30. Suppl. 2. P. 219.
- B. Lambert, K. Bacher, F. Gemmel et al. ¹⁸⁸Re-Lipiodol for locoregional treatment of hepatocellular carcinoma: a phase I study // Eur. J. Nucl. Med. 2003. V. 30. Suppl. 2. P. 219.
- P. Bernal, M. Osorio, C. Gutierrez et al. Treatment of liver cancer with Rhenium-188 Lipiodol: Colombian Experience // Eur. J. Nucl. Med. 2002. V. 29. Suppl. 1. P. 180.
- S.L. Chen. Treatment of patients with advanced hepatocellular carcinoma with transarterial ¹⁸⁸Re-lipiodol // Eur. J. Nucl. Med. 2007. V. 34. Suppl. 2. P. 188–189.
- K. De Ruyck, A. Vral, B. Lambert et al. Comparison of the cytotoxic effect of ¹³¹I-lipiodol therapy and ¹⁸⁸Re-lipiodol therapy in hepatocellular cancer patients // Eur. J. Nucl. Med. 2003. V. 30. Suppl. 2. P. 343.
- K. Nakakuma et al. Studies on anticancer treatment with an oily anticancer drug injected into the ligated hepatic artery for hepatic cancer // Nichidoku Iho. 1979. V. 24. P. 675–682.
- H. Ohishi et al. Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. Use of anticancer agents // Radiology. 1985. V. 154. P. 25–29.
- Патент № 2543342 С2, МПК А61К 103/10. Композиция для лечения рака печени у людей на основе рения-188 и способ получения такой композиции / Н. Нуарэ, Э. Гарин, Н. Лепарьер, В. Ардиссон; патентообладатель Эколь Националь Суперьер Де Хими Де Реннс, Сентр Ожен Маркуа, Университет де Реннс 1 (Франция). – № 2012134282/15, заявл. 18.02.2011; конвенционный приоритет № 1000681, FR от 18.02.2010; опублик. 27.02.2015 Бюл. № 6.
- N. Lepareur, V. Ardisson, N. Noiret, E. Garin. ¹⁸⁸Re-SSS/Lipiodol: Development of a Potential Treatment for HCC from Bench to Bedside // Int. J. Mol. Imaging. 2012. Article ID 278306, 9 p., doi:10.1155/2012/278306.
- Патент WO 2011/101436 А1, МПК А61К 51/04 Composition for treating liver cancer in human based on rhenium-188 and method for imaging such composition / N. Noiret, E. Garin, N. Lepareur. – Опубли. 25.08.2011.
- Technical report series N 470: Therapeutic radionuclide generators: ⁹⁰Sr/⁹⁰Y and ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re generators. – Vienna: IAEA, 2009. 249 p.
- В.Б. Спиваковский. Аналитическая химия олова. – М.: Наука, 1975. 252 с.
- Ф. Умланд, А. Янсен, Д. Тириг, Г. Вюнш. Комплексные соединения в аналитической химии. Теория и практика применения. – М.: Мир, 1975. 536 с.
- European Pharmacopoeia. 7th ed. 2010.



КОМПЛЕКСНОЕ РЕШЕНИЕ ДЛЯ ЛАБОРАТОРИИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ

Досье на серию РФП - это ключевой документ, подтверждающий качество произведенного препарата. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ XIII для подтверждения качества РФП необходимо проводить такие виды анализов, как высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хроматография, тонкослойная хроматография, гамма-спектрометрия, осмометрия, определение наличия бактериальных эндотоксинов, определение pH, объемной активности РФП с определением периода полураспада меточного радионуклида. Для указанных видов анализов в портфеле ГК «Фармконтракт» представлено соответствующее оборудование известных мировых производителей



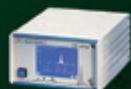
**ВЭЖХ-хроматограф
Agilent Technologies**
Определение радиохимической чистоты РФП, качественного и количественного наличия примесей



**Газовый хроматограф
Agilent Technologies**
Определение содержания остаточных растворителей в РФП



**pH-метр METTLER
TOLEDO**
Высокая точность определения кислотно-щелочного баланса анализируемого РФП



TLC-сканер RAYTEST
Проведение количественного и качественного анализа РФП



**Гамма-спектрометр
RAYTEST**
Определение спектра радиоактивного излучения РФП

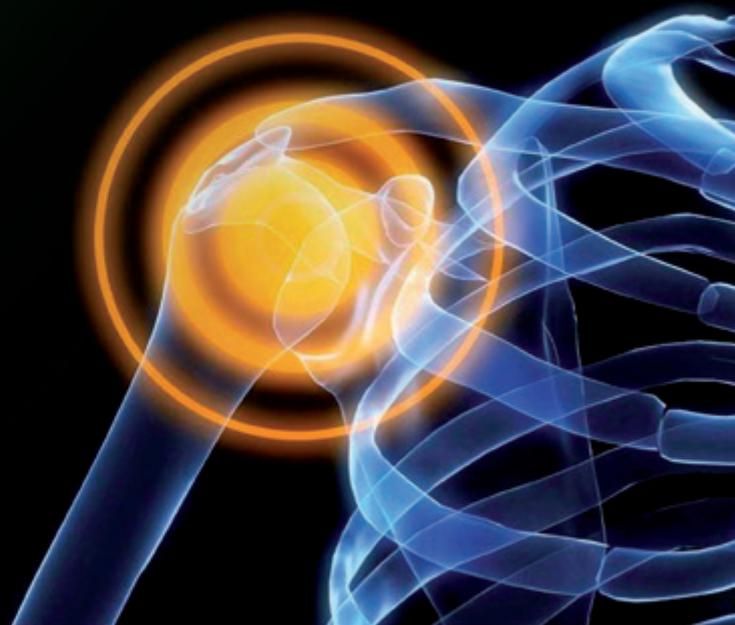


**Radio-HPLC детектор
RAYTEST**
γ-детектирование при проведении ВЭЖХ

РЕЗУЛЬТАТЫ КАЖДОГО АНАЛИЗА – ЗАЛОГ УСПЕШНОГО ФОРМИРОВАНИЯ ДОСЬЕ НА СЕРИЮ РФП!

ГК «Фармконтракт» предлагает комплексные решения для лабораторий контроля качества РФП на основе оборудования ведущих мировых производителей, обеспечивающего оперативность и точность получения результатов с соблюдением требований защиты производственного персонала от ионизирующего излучения РФП

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЕ ЗАЩИТНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ SOMESER



УДК 615.2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ ОПТИМУМОВ ВАГИНАЛЬНЫХ ГЕЛЕЙ

М.Н. Анурова¹, Е.О. Бахрушина^{1*}, А.М. Подколзин¹, С.П. Кречетов²

Резюме. В статье представлены результаты изучения реологических характеристик вагинальных гелей, зарегистрированных в Российской Федерации. На основании полученных результатов предложены оптимумы реологических характеристик, которые могут быть рекомендованы к использованию при разработке вагинальных гелей. Показана перспективность использования реологических оптимумов для обоснования выбора упаковки и средств дозирования для вагинальных гелей в зависимости от их реологических характеристик.

Ключевые слова: вагинальные гели, интравагинальное применение, ротационная вискозиметрия, пластическая вязкость, предел текучести, реологические оптимумы.

THE DETERMINATION OF RHEOLOGICAL OPTIMUM OF VAGINAL GELS

M.N. Anurova¹, E.O. Bakhrushina^{1*}, A.M. Podkolzin¹, S.P. Krechetov²

Abstract. The article presents the results of rheological properties study of vaginal gels, registered in the Russian Federation. Was justified the optimal rheological characteristics, which can be recommended for use to the pharmaceutical development of vaginal gels. It is advisable to use the rheological optimum to select the type of packaging and method of dosing of vaginal gels according to their rheological characteristics.

Keywords: vaginal gels, intravaginal application, rotary viscosimetry, plastic viscosity, yield stress, rheological optimum.

1 – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8

2 – Центр живых систем ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», 141701, Россия, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9, стр. 7

1 – I.M. Sechenov First MSMU MOH Russia (Sechenovskij University), 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – Institute of Physics and Technology (State University), 9/7, Institutskiy per., Dolgoprudny, Moscow region, 141701, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: bachrauschenh@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Проблемы сохранения репродуктивного здоровья женщин в России стоят очень остро. В последние годы уровень гинекологических заболеваний в нашей стране неуклонно растет. Так, по статистическим данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, за 5 лет заболеваемость эндометриозом увеличилась на 26%, воспалительными заболеваниями – на 10%, а количество нарушений менструального цикла возросло в 1,6 раза [1, 2].

Применение гелей в терапии гинекологических заболеваний имеет ряд определенных преимуществ, заключающихся прежде всего в удобстве введения, наличии биоадгезивных свойств, препятствующих преждевременной эвакуации лекарственной формы без наступления терапевтического эффекта. Кроме того, научно обоснованный подход к выбору основ вагинальных гелей позволяет разрабатывать лекарственные

формы, обладающие дополнительными фармакологическими эффектами, такими как увлажняющее действие, адсорбционная активность, термореверсивные свойства [3].

Согласно приказу 538н от 27.07.2016 «Об утверждении Перечня наименований лекарственных форм лекарственных препаратов для медицинского применения» вагинальный гель – лекарственная форма, предназначенная для введения во влагалище с целью оказания местного действия.

Среди всех лекарственных форм, предназначенных для вагинального применения, доля гелей составляет 5% [3], в то время как среди лекарственных препаратов в форме гелей препараты для вагинального применения, согласно данным РЛС на 2017 год, представлены 8 наименованиями, что составляет в среднем 9% [4].

Необходимо отметить, что, несмотря на очевидные преимущества вагинальных гелей

над другими лекарственными формами, предназначенными для интравагинального введения, начиная с 2010 года наблюдается тенденция к сужению ассортимента вагинальных гелей, представленных на российском фармацевтическом рынке [4].

В настоящее время ассортимент вагинальных гелей представлен восьмью наименованиями, относящимися к различным фармакологическим группам: гестагенный препарат Крайнон® (Великобритания), антисептические средства Кандинорм® (Россия) и Сальвагин® (Россия), антибактериальный препарат для вагинального применения Метрогил® (Индия), противогрибковый препарат Кандид® (Индия), Кольпоцид® (Россия) – препарат для комплексной терапии папилломавирусной инфекции, Мульти-Гин Актигель® (Нидерланды), применяющийся в комплексной терапии бактериальных вагинозов, и увлажняющее средство Монтавит® (Австрия) [4]. Таким образом, можно отметить, что 37,5% (3/8) препаратов в форме вагинальных гелей – отечественного производства, что обозначает перспективу дальнейшей разработки российских оригинальных препаратов в форме вагинальных гелей для применения в терапии различных гинекологических заболеваний.

Согласно Государственной фармакопее XIII издания вагинальные гели стандартизуются по общим требованиям к лекарственной форме «мази»: описанию, массе (объему) содержимого упаковки или однородности массы, размеру частиц (суспензионных гелей), герметичности упаковки (для стерильных и при необходимости нестерильных лекарственных форм), рН (водной вытяжки геля или

самого геля), кислотному и перекисному числам, если в состав входят вещества, способные к гидролизу и окислению.

Многочисленными исследованиями в области разработки гелей было показано, что реологические свойства являются значимым критерием стандартизации лекарственной формы, особенно на этапах ее разработки, поскольку влияют на стабильность в процессе хранения, однородность лекарственной формы; важнейшие реологические характеристики – предел текучести и пластическая вязкость – определяют скорость высвобождения действующих веществ из лекарственной формы, удобство применения препарата пациентом, а также оказывают влияние на биоадгезивные свойства лекарственного средства, определяя его распределение по слизистой оболочке влагалища [3, 5–7].

Целью данной работы является определение оптимальных реологических параметров (реологических оптимумов) вагинальных гелей на основе изучения реологических характеристик лекарственных препаратов в форме гелей для интравагинального введения, зарегистрированных на территории Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были семь наименований лекарственных препаратов в форме вагинальных гелей, относящихся к различным фармакотерапевтическим группам. В таблице 1 представлены составы изучаемых препаратов.

Таблица 1.

Составы изучаемых препаратов

№	Торговое наименование	Вспомогательные вещества	Гелеобразователь
1	Кандид®	Цетиловый спирт, пропиленгликоль, глицерол, бензиловый спирт, цетомакрогольный эмульсионный воск, карбопол 940 (карбомер 940), натрия гидроксид, хлорокрезол, вода очищенная	Карбомер 940
2	Кандинорм®	Инулин, глицерин, вода очищенная	Инулин
3	Кольпоцид®	Комплекс пептидогликанов и липотейховой кислоты, глицерин, вода очищенная	Комплекс пептидогликанов и липотейховой кислоты
4	Монтавит гель®	Гидроксиэтилцеллюлоза, глицерин, вода очищенная	Гидроксиэтилцеллюлоза
5	Мульти-Гин Актигель®	Сетчатый сополимер галактоарабинана и полиглюкуроновой кислоты*, ксантановая смола, глицерин, каприлилгликоль – рН 4,1	Сетчатый сополимер галактоарабинана и полиглюкуроновой кислоты, ксантановая смола
6	Сальвагин®	Каприлилгликоль, инулин, молочная кислота, гель Aloe Vera 1%, глицерин, вода очищенная	Инулин, гель Aloe Vera
7	Метрогил®	Динатрия эдетат, карбомер 940, метилпарагидроксибензоат, натрия гидроксид, пропилпарагидроксибензоат, пропиленгликоль, вода очищенная	Карбомер 940

Примечание: *комплекс 2QR – запатентованный комплекс биоактивных полисахаридов.

Объекты исследования были подобраны таким образом, чтобы в выборке имелись различные типы основ и их комбинаций со вспомогательными и активными фармацевтическими субстанциями, оказывающими влияние на реологические свойства системы. Так, в состав Монтавит геля® в качестве единственного гелеобразователя входит производное целлюлозы – гидроксипропилцеллюлоза, в составе геля Метрогил® и Кандид® используется редкосшитый акриловый полимер карбопол 940, однако в состав препарата Кандид® дополнительно введен эмульгатор цетомакрогольный эмульсионный воск, который может значимо повлиять на структуру геля. В изучаемых препаратах Сальвагин®, Кандинорм®, Кольпоцид®, а также Мульти-Гин Актигель® в качестве гелеобразователя используется ряд гелеобразователей: инулин, гель алоэ, комплексы сополимеров кислот, камеди, оказывающие как фармакологическое действие, так и значимо влияющие на реологические свойства систем.

Изучение реологических характеристик отобранных образцов проводили методом ротационной вискозиметрии по параметрам тиксотропии, пластической вязкости, предела текучести путем построения реологических кривых вязкости и течения, а также аппроксимации результатов по модели Кэссона на коаксиальном вискозиметре Lamy Rheology RM 200 (Франция) с помощью измерительной системы «цилиндр в цилиндре» MS-DIN 33 в диапазоне скоростей сдвига от 0 до 300 с⁻¹ [8]. Программное обеспечение RHEOMATIK (ver. T, LamyRheology, Франция).

Реологические характеристики определяли в двух температурных режимах – 20±1 °С и 37±1 °С, соответствующих хранению и применению вагинальных гелей. Контроль структурно-механических параметров лекарственной формы при температуре 37±1 °С позволяет судить о способности равномерно распределяться по слизистой оболочке влагалища и не вытекать после введения, что определяет как удобство применения, так и терапевтическую эффективность препарата [3, 5, 8].

Необходимость подробного изучения поведения системы в диапазоне низких скоростей сдвига определялась скоростью сдвига при экструзии изучаемых препаратов из соответствующей упаковки [8]. Экструзионная скорость сдвига рассчитывалась по формуле [9]:

$$\gamma = \frac{V_{\text{экструзии}}}{d_{\text{отверстия}}}$$

где γ – экструзионная скорость сдвига [с⁻¹]; $V_{\text{экструзии}}$ – скорость экструзии препарата из тубы, однодозовой упаковки или с помощью аппликатора [см/с]; $d_{\text{отверстия}}$ – диаметр отверстия тубы, однодозовой упаковки или аппликатора [см].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 2 представлены результаты изучения реологических характеристик выбранных образцов, определенные по реологической модели Кэссона при температуре 20 °С.

Реологические характеристики образцов определяются в широких диапазонах пределов текучести (от 21,0 до 134,7 Па) и пластической вязкости (0,087 до 0,338 Па·с). Необходимо отметить, что значения пластической вязкости и пределов текучести не имеют корреляции между собой: так, образец Монтавит гель® с наибольшей пластической вязкостью (0,338 Па·с) характеризуется только средним значением предела текучести (44,1 Па).

Таблица 2.

Пределы текучести и пластическая вязкость образцов по модели Кэссона при температуре 20 °С

Показатель Торговое название образца	Предел текучести, Па	Пластическая вязкость, Па·с
Кандид®	134,7±1,0	0,266±0,05
Метрогил®	88,2±1,0	0,239±0,05
Монтавит гель®	44,1±1,0	0,338±0,05
Кандинорм®	39,6±1,0	0,189±0,05
Мульти-Гин Актигель®	37,4±1,0	0,049±0,05
Кольпоцид®	27,2±1,0	0,168±0,05
Сальвагин®	21,0±1,0	0,087±0,05

В работах [5, 6, 8] было показано, что предел текучести, рассчитанный по одной из реологических моделей, является наиболее показательной реологической характеристикой для прогнозирования агрегативной устойчивости лекарственной формы в процессе хранения, удобства ее дозирования, равномерности распределения по слизистой, возможности достижения модифицированного высвобождения и др. Таким образом, изучаемые лекарственные препараты по полученным значениям пределов текучести, рассчитанным по модели Кэссона, можно разделить на две группы: с высокими значениями предела текучести (Кандид®, Метрогил®) и более низкими значениями данного реологического параметра (Монтавит гель®, Кандинорм®, Мульти-Гин Актигель®, Кольпоцид®, Сальвагин®).

Были проанализированы первичные упаковки и средства дозирования изучаемых препаратов в форме вагинальных гелей (рисунок 1).

Образцы, включенные в первую группу, обладающие более высокими значениями пределов текучести, упакованы в полимерные тубы. Их предлагает



Рисунок 1. Первичная, вторичная упаковки и средства дозирования вагинальных гелей Кандид®, Кандинорм®, Кольпоцид®, Монтавит гель®, Мульти-Гин Актигель®, Сальвагин®, Метрогил® [4]

ся дозировать с помощью аппликатора с диаметром отверстия 1,1 см. Такой вариант упаковки позволяет избежать разрушения структуры при экструзии из упаковки и обеспечить сохранение реологических свойств препарата вплоть до попадания на слизистую влагалища. Препараты Кандинорм®, Сальвагин® и Кольпоцид® имеют однодозовую упаковку с аппликатором диаметром 0,1 см. Такой вид упаковки без потери качества препарата в процессе дозирования возможно применять только для систем с низкими пределами текучести. Мульти-Гин Актигель®, упакованный в многодозовую полимерную тубу, имеет навинчивающийся аппликатор с диаметром отверстия 0,3 см, что также может быть применено только для дозирования гелей с пределом текучести не выше 45 Па. Препарат Монтавит гель® не снабжен каким-либо дозирующим средством, его предлагается наносить, дозируя из полимерной тубы.

В таблице 3 приведены рассчитанные значения скоростей сдвига, возникающих при экструзии препаратов из их дозаторов или первичной упаковки. В диапазоне экструзионных сдвиговых скоростей (от 1,3 до 18 с⁻¹) исследуемые составы не достигают значений напряжения сдвига, соответствующих своим пределам текучести (таблица 2, рисунок 2), что обуславливает отсутствие необходимости в дополнительных измерениях реологического поведения систем в диапазоне малых сдвиговых скоростей, моделирующих процесс экструзии из упаковки.

На рисунках 2 и 3 приведены кривые течения и вязкости исследуемых образцов, измеренные при температуре 20 °С. По характеру и расположению кривых течения относительно начала координат можно судить о типе течения образца, прочности его структуры. Напряжение сдвига характеризует отклик исследуемой системы на вращение измерительной геометрии с определенной скоростью сдвига, особенно показательным для понимания реологического по-

ведения образца является режим измерения «малый сдвиг – большой сдвиг – малый сдвиг», при котором в результате измерений можно судить о сохранении или же потере гелем постоянства своей трехмерной структуры. Для большинства образцов (Кольпоцид®, Мульти-Гин Актигель®, Кандинорм®, Сальвагин®, Метрогил®, Монтавит®) значения напряжений сдвига при определенных сдвиговых скоростях на восходящей и нисходящей частях цикла полностью эквивалентны, что говорит о сохранении постоянства структуры при приложении к системе скоростей сдвига в диапазоне от 0 до 300 с⁻¹.

Таблица 3.

Скорость сдвига, возникающая при экструзии образцов из упаковки, и определяемые показатели для её расчета

Показатель	Торговое название образца	Скорость экструзии, см/с	Диаметр отверстия, см	Скорость сдвига, с ⁻¹
	Мульти-Гин Актигель®	1,4±0,1	0,3	4,67±0,1
	Метрогил®/Кандид®	2,1±0,1	1,1	1,91±0,1
	Сальвагин®/Кандинорм®/Кольпоцид®	1,8±0,1	0,1	18,0±0,1
	Монтавит®	0,65±0,1	0,5	1,3±0,1

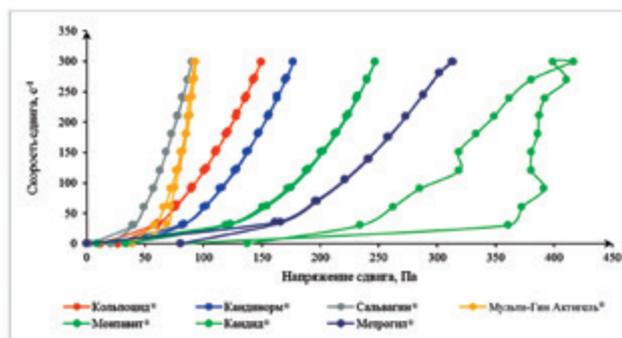


Рисунок 2. Кривые течения образцов вагинальных гелей при температуре 20 °С

Образец вагинального геля Кандид® имеет кривую течения в измеряемых диапазонах сдвиговых скоростей от 0 до 300 и от 300 до 0 с⁻¹ в виде широкой петли, значения напряжения сдвига на восходящей части которой в среднем в 1,5 раза выше, чем на нисходящей. По данной кривой течения можно судить о снижении прочности структуры геля при приложении к нему скоростей сдвига в измеряемом диапазоне. Данное явление связано с входящим в состав геля Кандид® эмульсионным воском, нарушающим тиксо-

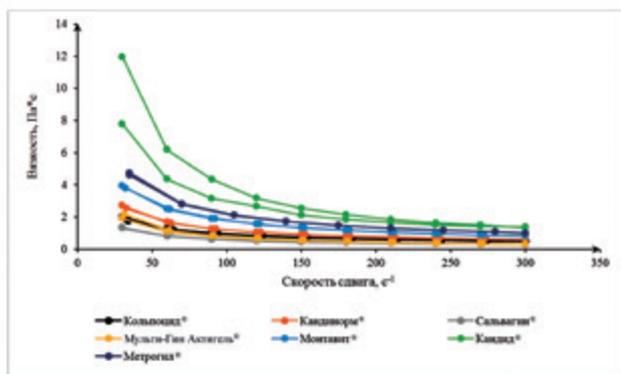


Рисунок 3. Кривые вязкости образцов вагинальных гелей при температуре 20 °С

тропию системы в диапазоне проводимых измерений и приближающим структуру геля к структуре кремов, для которых наличие высокой тиксотропии не является показательным, и при приложении силы у кремов, как правило, снижается вязкость [7].

Кривые вязкости образцов Кольпоцид®, Мульти-Гин Актигель®, Кандинорм®, Сальвагин®, Метрогил®, Монтавит® (рисунок 3) имеют сходный характер, по ним можно судить о высокой тиксотропности образцов в измеряемом диапазоне скоростей сдвига от 0 до 300 с⁻¹. На кривой вязкости геля Кандид® наблюдается так называемая петля гистерезиса – значения динамической вязкости при последовательном уменьшении скорости сдвига от 200 до 0 с⁻¹ меньше соответствующих значений динамической вязкости при увеличении сдвиговых скоростей от 0 до 300 с⁻¹ в 1,2 раза. Однако образец вагинального геля Кандид® также проявляет тиксотропные свойства, так как через некоторое время (134,5 с) его вязкость после снятия сдвигового напряжения возвращается к исходным значениям.

Таким образом, по реограммам, приведенным на рисунках 2 и 3, можно сделать вывод, что при температуре 20 °С все изучаемые образцы являются тиксотропными системами с пределом текучести и псевдопластическим типом течения.

На рисунках 4–5 приведены реограммы, иллюстрирующие реологическое поведение исследуемых препаратов при температуре 37 °С. Показано, что общий вид кривых и их положение относительно осей и друг друга на кривых вязкости и течения, характерный для измерений при температуре 20 °С, сохраняется и при повышении температуры измерительной системы до 37 °С. Все образцы при повышении температуры сохраняют свои высокие тиксотропные свойства, псевдопластическое течение.

На основании проведенных реологических исследований препаратов в форме вагинальных гелей,

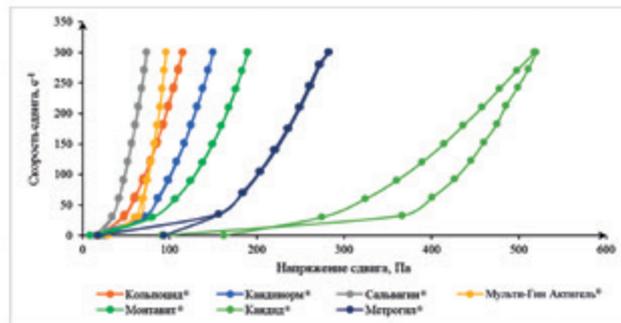


Рисунок 4. Кривые течения образцов вагинальных гелей при температуре 37 °С

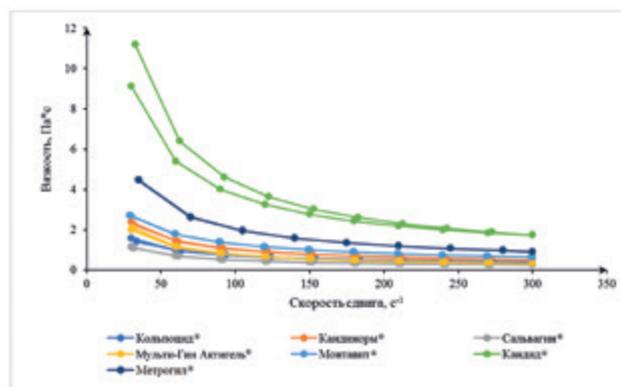


Рисунок 5. Кривые вязкости образцов вагинальных гелей при температуре 37 °С

представленных на 2017 год на российском фармацевтическом рынке, были построены реологические оптимумы вязкости при температурах, соответствующих хранению (20 °С) и применению (37 °С) вагинальных гелей. При температуре 20 °С оптимальные значения динамической вязкости вагинальных гелей при скорости сдвига 30 с⁻¹ лежат в диапазоне от 1,3 до 12 Па·с, при скорости сдвига 300 с⁻¹ – от 0,3 до 1,4 Па·с; при температуре 37 °С при скорости сдвига 30 с⁻¹ – в диапазоне от 1,0 до 11 Па·с, а при скорости сдвига 300 с⁻¹ – от 0,3 до 1,7 Па·с.

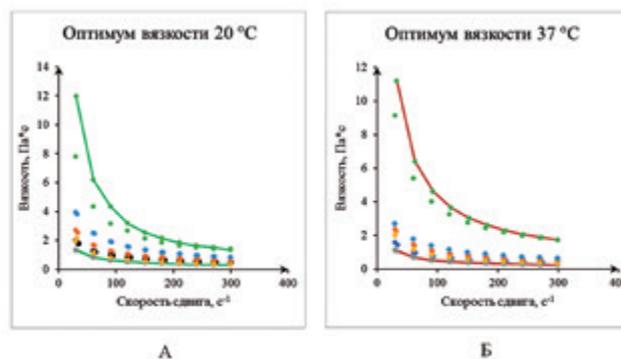


Рисунок 6. Оптимумы вязкости вагинальных гелей при температурах: А – 20 °С; Б – 37 °С

Таким образом, особенностью реологических оптимумов вагинальных гелей является незначительное отличие (менее чем в 1,5 раза) оптимумов, определенных при температурах хранения и применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно рекомендовать применение полученных реологических оптимумов для разработки вагинальных лекарственных форм с оптимальными структурно-механическими характеристиками. Было также показано, что использование реологических оптимумов целесообразно в обосновании оптимальной первичной упаковки лекарственной формы, обеспечивающей не только удобство дозирования пациентом, но и сохранение постоянства структуры в процессе применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Статистическая информация Министерства здравоохранения Российской Федерации. URL: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnyematerialy/statisticheskiy-sbornik-2016-god> (дата обращения 27.02.2018).
2. А.С. Бондаренко. Роль статуса и взаимоотношения врача и пациентки в профилактике гинекологических заболеваний: дисс. ... к.мед.н. – Волгоград. 2015. 173 с.
3. М.Н. Анурова, А.А. Дрыгина, Е.О. Бахрушина. Изучение современных требований к разработке и стандартизации вагинальных гелей // Здоровье и образование в XXI веке. 2017. V. 19. № 10. С. 334–336.
4. Реестр лекарственных средств России. URL: <https://www.rlsnet.ru> (дата обращения 15.12.2017).
5. М.Н. Анурова, Е.О. Бахрушина, Г.Г. Барнолицкий, С.П. Кречетов. Обоснование реологических оптимумов при разработке мягких лекарственных форм на гидрофильной основе. Стоматологические гели // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 2(19). С. 58–62.
6. А.А. Аркуша, И.М. Перцев. Оценка и контроль консистенции мазей с использованием реограмм / Информационное письмо. – К.: РЦНМИ МЗ УССР. Вып. 10 по проблеме «Фармация». 1983. 2 с.
7. А.В. Пантюхин, И.И. Краснюк. Реологические модели в упруговязких лекарственных формах // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 1 С.381.
8. М.Н. Анурова, Е.О. Бахрушина, С.П. Кречетов. Изучение влияния состава комбинированной матрицы на реологические характеристики экспериментальных образцов пероральных гелей нимесулида // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 4(17). С. 98–104.
9. А.Я. Малкин, А.И. Исаев. Реология: концепции, методы, приложения / Пер. с англ. – СПб.: ЦОП «Профессия», 2010. 560 с.

Капсулятор ProFiller 1100

ProFiller®

Капсуляторы ProFiller - максимально удобное, последовательное и эффективное ручное наполнение, подтвержденное компаниями Big Pharma: **Bayer, Merck, Eli Lilly, Novartis, Pfizer**



- в отличие от других ручных систем гарантирует полное закрытие капсул после наполнения без каких-либо временных затрат и усилий оператора
- производительность: 2 000 – 3 200 капсул/час (в зависимости от порошка, скорости оператора и размера подпрессовщика)
- изменение формата всего за 2-3 минуты! Форматные части 00-4 доступны для всех систем. Размеры 000, 5, 00el-2el только для модели 1100. При этом замена формата не требует калибровки и инструментов
- исключена возможность деформации оболочки при заполнении капсулы порошком за счет фиксации капсулы по всей длине
- вес заполнения, метод USP/EP в пределах $\pm 1-2\%$ от среднего

УДК 615.071

СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ПНЕВОТРАНСПОРТИРУЕМОГО СЫПУЧЕГО МАТЕРИАЛА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ, ОСНОВАННЫЙ НА ЭФФЕКТЕ ПОККЕЛЬСА

В.Г. Гуляев^{1*}, И.В. Гуляев^{2**}

Резюме. В статье приводится описание способа измерения количества пневмотранспортируемого сыпучего вещества в фармацевтическом производстве, основанного на эффекте Поккельса. Представлена структурная схема разработанной авторами системы автоматизированного измерения расхода сыпучих диэлектрических материалов с электрооптической ячейкой Поккельса. Измерительная система обладает достаточно высокими точностью и быстродействием, что является актуальным для непрерывного мониторинга потока в технологическом процессе производства и обеспечения качества фармацевтической продукции.

Ключевые слова: фармацевтический материал, эффект Поккельса, расходомер, управление потоком.

METHOD FOR MEASURING THE AMOUNT OF PNEUMATIC TRANSPORTED BULK MATERIAL IN PHARMACEUTICAL PRODUCTION, BASED ON THE POKKELS' EFFECT

V.G. Gulyaev^{1*}, I.V. Gulyaev^{2**}

Abstract. There are presented a method for measuring the amount of pneumatic transported bulk material in particulate production. The method is based on the Pockels' effect. The block diagram of the automated system for measuring the flow of bulk dielectric materials with an electro-optic Pockels cell is developed by the authors. The measuring system has a sufficiently high accuracy and speed, which is relevant for continuous flow monitoring in the technological process and quality assurance of pharmaceutical products.

Keywords: pharmaceutical material, Pockels' effect, flowmeter, flow control.

1 – ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет», 603950, Россия, г. Н. Новгород, ул. Ильинская, д. 65

2 – ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик», 109044, Россия, г. Москва, Лавров пер., д. 6

1 – Nizhny Novgorod State University of Architecture and Civil Engineering, 65, Ilyinskaya str., Nizhny Novgorod, 603950, Russia

2 – State Institute of Drugs and Good Practices, 6, Lavrov per., Moscow, 109044, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: atp@nngasu.ru

Te.: 8 (831) 430 19 58

** адресат для переписки:

E-mail: gulyaev@gilsinp.ru

Te.: 8 (495) 676 43 60

ВВЕДЕНИЕ

Один из прогрессивных способов механизации и автоматизации перемещения сыпучих материалов состоит в применении пневмотранспортирования. Измерение и учет объемного и массового расхода сыпучих материалов при пневмотранспортировании является актуальной задачей автоматизации и управления технологическими процессами в ряде отраслей промышленности, особенно фармацевтической. В фармацевтическом производстве управление потоком, с использованием расходомеров, может применяться на различных этапах технологического процесса, таких как просеивание, смешивание,

сухое гранулирование, влажное гранулирование, прессование, капсулирование, стадия наполнения (контейнеров, флаконов, ампул, пакетов, туб), первичная и вторичная упаковка. На сегодняшний день в фармацевтической промышленности представляет интерес использование расходомеров различных сыпучих материалов и продуктов – порошкообразных фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ, гранулята, таблеток, капсул и др.

Актуальной задачей обеспечения качества фармацевтической продукции является непрерывный мониторинг реакции в технологическом процессе производства, который должен осу-

ществляться бесконтактным способом с достаточным быстродействием. Процессно-аналитическая технология (ПАТ) является важной частью большинства непрерывных процессов, поскольку это удобное средство мониторинга состояния реакции. Более того, одной из целей, указанных в ПАТ-инициативе FDA (Food and Drug Administration), является облегчение непрерывной обработки для повышения эффективности и управления изменчивостью [1].

Типичные средства ПАТ включают в себя рамановскую спектроскопию, ИК-Фурье-спектроскопию, БИК-спектроскопию, спектроскопию в видимой и ИК-областях спектра [2, 3] и другие методы мониторинга без нарушения целостности объекта, которые могут быть адаптированы для проточной кюветы или трубчатого реактора. Например, ИК-Фурье-спектроскопия использовалась, чтобы определить надлежащее соотношение скорости подачи реагента и начальной скорости подачи исходного вещества во время запуска непрерывного процесса по получению активного фармацевтического ингредиента [4]. Для данного процесса все те же средства ПАТ могли быть использованы для контроля качества продукта. В четко спланированном непрерывном процессе предполагается, что контроллеры, работающие по принципу обратной связи, могут регулировать рабочие параметры в зависимости от входящих сигналов от ПАТ-анализаторов. Даже при отсутствии управления с обратной связью ПАТ способна обеспечить поступление ценной информации для операторов, которые уже могут корректировать ход операции в случае необходимости. Если ПАТ-анализаторы показывают, что качество продукта вызывает опасения, поток может быть перенаправлен в другой резервуар для дальнейшего анализа [5]. Для применения технологии ПАТ при перемещении воздухом по трубопроводам сыпучих фармацевтических материалов необходимы бесконтактные анализаторы, обладающие достаточной точностью измерений и большим быстродействием.

Движение сыпучего материала по трубопроводу представляет собой двухфазный поток частиц вещества, перемещаемых воздухом. Частицы материала при движении испытывают многократные соударения и сопротивление воздушной среды. Их движение носит случайный характер. В целом, скорость частиц по сечению трубопровода меньше скорости движения воздушного потока.

Все существующие методы измерения объемного и массового расхода сыпучих веществ при пневмотранспортировании базируются на определении скорости потока V_n и количества твердых частиц N (концентрации) в измеряемом объеме (ультразвуковые и радиоволновые СВЧ-диапазона измерители). Они предполагают сложную статистическую обработку результатов измерений, что ограничивает точность и быстродействие измерительной системы, значи-

тельно повышает её стоимость и усложняет техническую реализацию.

Целью работы авторов статьи является обоснование способа и разработка системы автоматического измерения расхода сыпучих фармацевтических материалов при пневмотранспортировании, технически просто реализуемой и обеспечивающей достаточную точность измерений. В основу разрабатываемой измерительной системы положен интегральный учет параметров пневмотранспортной установки, физико-механических характеристик движения двухфазного потока по пневмомагистралям.

Эти потоки возникают в результате работы различных дозаторов или питателей дискретного или непрерывного действия. Непрерывное изменение мгновенной производительности дозатора вызывает непрерывное изменение плотности потока вещества в поперечном сечении трубопровода. С ростом производительности дозатора непрерывного действия флуктуации плотности потока вещества вначале растут быстро, а затем замедляются. Из этого следует, что контроль движения сыпучих материалов в трубопроводе можно осуществлять по средним значениям переменной составляющей изменения массы материала в его потоке.

Выявление этих флуктуаций в потоке сыпучего диэлектрического материала, а по ним и самого факта его движения наилучшим образом можно осуществить емкостным флуктуационным (модуляционным) методом. В настоящее время перспективным направлением является применение ячеек Поккельса в качестве чувствительных элементов датчиков электрических полей первичных преобразователей измеряемых физических величин. Использование таких датчиков в измерительных системах позволяет применять волоконно-оптические линии связи с выводом – выводом информационного светового потока, которые обеспечивают высокую гальваническую развязку и помехоустойчивость.

СИСТЕМЫ АВТОМАТИЧЕСКОГО ИЗМЕРЕНИЯ РАСХОДА СЫПУЧИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ПРИ ПНЕВМОТРАНСПОРТИРОВАНИИ

В работе [6] приведена система автоматизированного измерения расхода сыпучих диэлектрических материалов при пневмотранспортировании с электрооптической ячейкой Поккельса.

Структурная схема системы автоматизированного измерения расхода сыпучих диэлектрических материалов при пневмотранспортировании показана на рисунке 1.

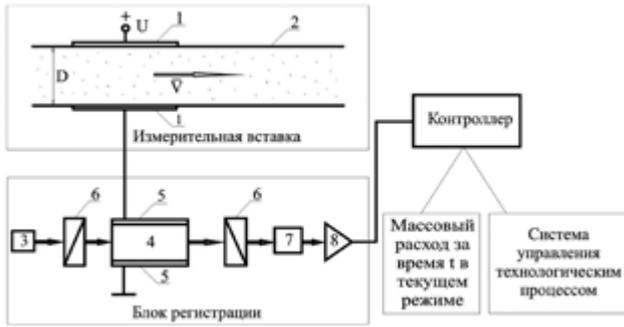


Рисунок 1. Структурная схема системы автоматизированно измерения расхода сыпучих диэлектрических материалов при пневмотранспортировании: 1 – обкладки измерительного конденсатора C_1 ; 2 – вставка из диэлектрического материала в пневмомагистраль; 3 – лазерный диод; 4 – кристалл ниобата лития (LiNbO_3); 5 – обкладки конденсатора C_2 ; 6 – оптический анализатор; 7 – регистрирующий фотодиод; 8 – усилитель.

Измерительная вставка, встраиваемая в пневмопровод, представляет собой конденсатор C_1 с движущимся между обкладками диэлектрическим сыпучим материалом. Изменение емкости конденсатора C_1 функционально зависит от концентрации частиц материала в измерительной части. Принимаем диэлектрическую проницаемость воздуха $\epsilon_{\text{возд}} \approx 1$, частицы сыпучего материала – за сферы эффективного диаметра d . При наличии N частиц в измерительном объеме конденсатора C_1 его емкость согласно расчетным данным составит:

$$C_1 = \frac{\epsilon_0 \cdot \epsilon \cdot S}{D \cdot \epsilon - (\epsilon - 1) \frac{\pi d^3 N}{6S}}, \quad (1)$$

где S – площадь обкладок конденсатора C_1 ; D – внутренний диаметр диэлектрической вставки; ϵ – диэлектрическая проницаемость сыпучего вещества; ϵ_0 – электрическая постоянная.

Из приведенной зависимости (1) следует, что с изменением количества частиц N вещества в измерительном объеме изменяется и емкость конденсатора C_1 . Это позволяет модулировать генерируемый лазерным диодом световой поток, пропускаемый через систему двух скрещенных поляризаторов и поляризационную ячейку Поккельса – кристалл ниобата лития с напыленными электродами. Конденсатор C_2 электрически последовательно соединен с измерительным конденсатором C_1 .

Если на систему последовательно соединенных конденсаторов C_1 и C_2 подать статическое напряжение U_0 , то напряжение U_2 на конденсаторе C_2 модулирует световой поток, проходящий через электрооптическую ячейку Поккельса. Согласно расчетам:

$$U_2 = \frac{\epsilon_0 \epsilon S \cdot U_0}{\epsilon_0 \epsilon S + C_2 \epsilon D + \frac{C_2 (1 - \epsilon) \cdot m}{\rho \cdot l}}, \quad (2)$$

где C_2 – постоянная электрическая емкость электрооптической ячейки Поккельса; D – расстояние между пластинами измерительного конденсатора C_1 , соответствующее внутреннему диаметру диэлектрической вставки; l – длина обкладок конденсатора C_1 ; ρ – плотность транспортируемого вещества; m – текущая масса сыпучего вещества в измерительном объеме.

При поперечном эффекте Поккельса световой поток направлен перпендикулярно электрическому полю E в кристалле ниобата лития и

$$U_2 = ED. \quad (3)$$

Выходная интенсивность светового потока, амплитудно модулируется приложенным напряжением U_2 и подчиняется закону Малюса [7]:

$$I = I_0 \cdot \sin^2(\Gamma/2), \quad (4)$$

где I_0 – начальная интенсивность светового потока; Γ – фазовая задержка световой волны, содержащая компоненту Γ_0 – вызванную естественной анизотропией кристалла и переменную Γ_{\sim} – наведенную электрическим полем:

$$\Gamma_{\sim} = \rho U_2 / U_{1/2}, \quad (5)$$

где ρ – угол сдвига фаз; $U_{1/2}$ – полуволновое напряжение, характеризующее модулятор (напряжение, которое надо приложить к фазовому модулятору света для получения сдвига фаз на угол ρ). Максимальная выходная интенсивность достигается, когда фазовая задержка равна ρ (половина длины волны).

Для данного состояния функция зависимости интенсивности светового потока на выходе ячейки Поккельса от массы сыпучего вещества в измеряемом объеме конденсатора C_1 имеет вид:

$$I = I_0 \cdot \sin^2 \left[\frac{\epsilon_0 \epsilon S \cdot U_0}{\left(\epsilon_0 \epsilon S + C_2 \epsilon D + \frac{C_2 (1 - \epsilon) \cdot m}{\rho \cdot l} \right) \cdot n_0 \cdot 6 \cdot r} \right], \quad (6)$$

где n_0 – показатель преломления кристалла в отсутствии внешнего поля; r – электрооптический коэффициент (зависящий от свойств и ориентации кристалла, направления поля E и поляризации проходящего света).

Соответственно масса вещества в измеряемом объеме в данный момент времени определяется по формуле:

$$m = \frac{\rho l}{C_2 (1 - \epsilon)} \left[\frac{\epsilon_0 \epsilon S \cdot U_0}{n_0 \cdot 6 \cdot r \cdot \arcsin \left(\sqrt{\frac{I}{I_0}} \right)} - (\epsilon_0 \epsilon S \cdot C_2 \epsilon D) \right]. \quad (7)$$

Электрооптический эффект Поккельса имеет минимальную инерционность и быстродействие до 10^{-10} с, что в сравнении с традиционными методами дает возможность повысить точность измерения расхода сыпучего вещества. В работах [8] и [9] показано, что чувствительность расходомера можно повысить если увеличить длину оптического пути световой волны L , которая определяется длиной кристалла ниобата лития. Однако увеличение длины кристалла ограничено технологией его производства. Кроме того, с увеличением длины кристалла снижается его механическая прочность. Поэтому увеличить длину оптического пути L в применяемом кристалле, и соответственно чувствительность расходомера, можно за счет двукратного прохождения светового луча через оптический кристалл модулятора.

Проходящий через измерительную систему световой поток регистрирует фотодиод, с выхода которого электрический сигнал поступает на обработку согласно разработанному алгоритму в микропроцессор.

Микропроцессор связан с индикатором, на котором регистрируются массовый и объемный расход вещества в текущем режиме.

На рисунке 2 приведена структурная схема системы визуализации разработанного измерителя расхода.

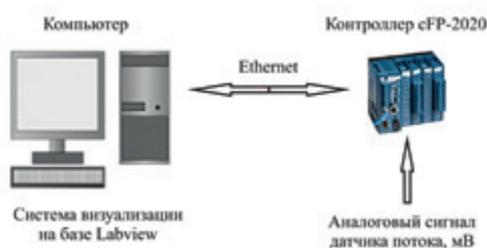


Рисунок 2. Структурная схема системы визуализации макета измерителя расхода

Аналоговый сигнал датчика потока принимается контроллером compact FieldPoint, контроллер по Ethernet связан с компьютером, на котором производится отображение информации.

Система визуализации предназначена для работы в составе макета измерителя расхода и выполняет следующие функции:

- прием значения сигнала потока,
- подсчет объема сыпучего диэлектрического материала методом интегрирования сигнала потока,
- визуализация сигнала в виде графика, табличное представление данных, сохранение данных в текстовом файле.

Система визуализации состоит из:

- программного логического контроллера с FP-2020 compact Field Point фирмы National Instruments;
- компьютера с программным обеспечением макета на платформе LabView.

В разработанной системе для измерения расхода транспортируемого вещества реализован метод интегрального учёта параметров пневмотранспортной установки и физико-механических характеристик двухфазного потока в трубопроводе.

Масса транспортируемого диэлектрического материала определяется методом интегрирования сигнала потока согласно формуле (7).

Для квазистационарных потоков применялась методика расчёта расхода вещества по калибровочной характеристике системы пневмотранспортирования.

Зависимость интенсивности светового потока от времени $I=f(t)$ приведена на рисунке 3.

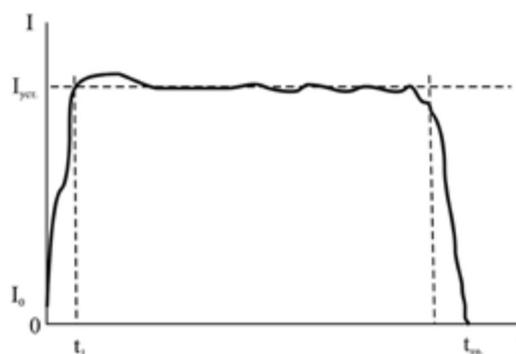


Рисунок 3. Зависимость интенсивности света I от времени t : t_1 – время заполнения измерительного объема конденсатора C_1 ; $t_{сп}$ – время транспортирования сыпучего материала по трубопроводу; I_0 – начальное значение интенсивности света при незаполненном веществом измерительном объеме конденсатора C_1 ; $I_{уст.}$ – среднее значение интенсивности света при установившемся режиме транспортирования

Для определения массового расхода сыпучего фармацевтического материала предварительно необходимо определить калибровочную характеристику системы пневмотранспортирования для данного перемещаемого материала. Для этого через пневмотранспортную систему пропускают эталонный сыпучий материал в строго определенном количестве $m_{СТ}$. Стандартная масса $m_{СТ}$ определяет погрешность измерения системы.

В процессорном блоке вычисляется площадь $S_{СТ}$ ограниченная графиком $I=f(t)$, и вычисляется калибровочный коэффициент $K=m_{СТ}/S_{СТ}$, который позволяет определить массовый расход сыпучего фармацевтического материала для последующих технологических измерений.

Масса сыпучего фармацевтического материала, прошедшего через контролируемое сечение пневмотранспортной системы за время t , определяется согласно зависимости

$$m = \frac{m_{\text{ст}}}{S_{\text{ст}}} \cdot S = K \cdot S. \quad (8)$$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Измерительная система, как расходомер, может быть применена для управления процессом пневмотранспортирования и дозированием материалов.

Управление потоком – это критический параметр для непрерывного процесса. Общий ход потоков обеспечивает надлежащее время нахождения для реакции, а соотношение отдельных потоков обеспечивает надлежащую стехиометрию реагентов. Питающие потоки должны быть точными и последовательными, и ограничения на эти параметры зависят от допустимых отклонений процесса. Один из подходов к минимизации пульсирующих потоков – это использование питающих резервуаров под давлением вместе с расходомерами и регулируемыми клапанами для контроля скорости потока. Другой возможностью является использование дозирующих насосов для каждого из питающих потоков. Для насосов, которые пульсируют (поршневые, мембранные и др.), может потребоваться синхронизация, гасящие устройства или несколько поршней, которые последовательно устанавливаются на один насос. Насосы без пульсаций с интегрированными в них расходомерами и контрольной системой по принципу обратной связи являются идеальным выбором. Эти системы обеспечивают точное дозирование для процессов с жесткими требованиями к параметрам потока [5].

Основными параметрами, характеризующими пневмотранспортную систему, являются производительность по твердой фазе, длина пневмомагистрали и высота подъема, концентрация транспортируемого материала, массовый коэффициент взвеси, величина избыточного давления в начале пневмомагистрали (для установок нагнетательного действия) и остаточного давления в конце пневмомагистрали (для установок всасывающего действия). Одним из определяющих параметров при пневмотранспортировании сыпучих материалов является критическая скорость потока воздуха, которая характеризуется минимальными затратами энергии на транспортирование.

Для эффективного пневмотранспортирования необходима организация оптимального режима устойчивого процесса транспортирования, для которого недопустимо выпадение частиц из потока под действием силы тяжести. Уменьшение скорости транспортирования до критического значения приводит к неустойчивому режиму и возможной аварийной закупорке пневмомагистрали. Следовательно, выбор

оптимальной скорости транспортирования является важной задачей для управления пневмотранспортной системой. Другим информативным управляемым параметром процесса является плотность двухфазного потока, которая позволяет определить расход транспортируемого материала и концентрацию дисперсной фазы. Показатель плотности потока зависит от нагрузки и скорости транспортирования (скорости несущей среды). Регулирование по расходу материала позволяет обеспечить достаточную точность регулирования в установившемся режиме на базе стандартных промышленных регуляторов [10]. Измерительная система с преобразователем на ячейке Поккельса позволяет проводить мониторинг технологических процессов с большей точностью измеряемых параметров и высоким быстродействием.

Система измерения обладает всеми преимуществами бесконтактных методов измерения, предполагает относительно невысокую стоимость, обеспечивает достаточную точность дозирования сыпучих материалов в фармацевтическом производстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research: Guidance for Industry PAT-A Framework for Innovative Pharmaceutical Manufacturing and Quality Assurance, September 2004.
2. S. Lobbecke, W. Ferstl, S. Panic, T. Turcke. Concepts for modularization and automation of microreaction technology // Chem. Eng. Technol. 2005. № 28(4). P. 484–493.
3. W. Ferstl, T. Klahn, W. Schweikert, G. Billeb, M. Schwarzer, S. loebbecke. Inline analysis in micrereaction technology: a suitable tool for process screening and optimization // Chem. Eng. Technol. 2007. № 30(3). P. 370–378.
4. T.L. LaPorte, M. Hamed, J.S. DePue, L. Shen, D. Watson, D. Hsieh. Development and scale-up of three consecutive continuous reactions for production of 6-hydroxybuspirone // Org. ProcessRes. Dev. 2008. № 12. P. 956–966.
5. Д.Дж. Ам Энде (ред.) Производство лекарственных средств. Химическая технология от R&D до производства: пер. с англ. [Д. Дж. Ам Энде и др.] / Под ред. В.В. Береговых. – СПб.: ЦОП «Профессия», 2015. 1280 с., ил.
6. Г.Н. Ахобадзе, Н.М. Плотников, В.Г. Гуляев, В.П. Костров. Система автоматизированного измерения расхода порошкообразных строительных материалов при пневмотранспортировании // Приборы и системы управления. Контроль, диагностика. 2010. № 7. С. 38–40.
7. Е.Р. Мустель, В.Н. Парыгин. Методы модуляции и сканирования света. – М: Наука, 1970.
8. В.Г. Гуляев, И.В. Гуляев. Технические способы повышения чувствительности расходомера пневмотранспортируемых материалов, основанные на эффекте Поккельса // Приволжский научный журнал. 2014. № 3. С. 80–84.
9. В.Г. Гуляев, И.В. Гуляев. Измеритель расхода двухфазного потока диэлектрических материалов, перемещаемых воздухом по металллическому трубопроводу. Патент РФ № 2565348, опубл. 20.10.2015 г.
10. В.Г. Гуляев, Н.М. Плотников, Е.Л. Панкратов. Энергосберегающая технология пневмотранспортирования сыпучих строительных материалов на основе бесконтактного измерителя расхода. Великие реки-2012г., труды Конгресса международного научно-промышленного форума, Н.Новгород: ННГАСУ, 2012. Т. 2.



УПАКОВКА ВСЕХ ТИПОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

Крупнейший национальный дистрибьютор технологического оборудования в России ГК «Фармконтракт» представляет широкий спектр решений для упаковки жидких, мягких и твердых лекарственных форм на базе европейских и корейских производителей фасовочно-упаковочного оборудования:

ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА



Розлив продуктов в банки и флаконы с последующей укупоркой и закруткой



Фасовка вязких продуктов в пластиковые и алюминиевые тубы, производительность до 8 000 туб в час



Фасовка порошков и гранул в саше



Розлив до 200 контейнеров в минуту в ампулы, шприцы и картриджи с последующей укупоркой

ВТОРИЧНАЯ УПАКОВКА

Фасовка в коробки



Групповая упаковка



Решения по упаковке готовых лекарственных форм от ГК «Фармконтракт» - **100% герметичность, а значит, гарантия качества и сохранности лекарственных средств даже в самых экстремальных условиях транспортировки!**

УДК 574/577; 502/504; 502; 051; 313; 330.15

ОБ ЭЛЕМЕНТЕ ГЕРМАНИЙ И ЕГО СОДЕРЖАНИИ В НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЯХ

Б.А. Комаров^{1*}, Л.В. Погорельская², А.И. Албулов³

Резюме. Проведен анализ некоторых БАД на основе синтетического органического германия. Исследовано содержание элемента германия и микроэлементов, находящихся в германийсодержащих минералах, в некоторых лекарственных растениях. Обосновывается необходимость углублённого исследования содержания германия в отечественных лекарственных растениях и создания современного атласа растений с указанием всех микроэлементов, определённых высокоточными новейшими методами.

Ключевые слова: элемент германий, лекарственные растения, содержание микроэлементов.

ON THE GERMANIUM ELEMENT AND ITS CONTENT IN SOME HERBAL PLANTS

B.A. Komarov^{1*}, L.V. Pogorel'skaya², A.I. Albulov³

Abstract. Some biologically active additives based on synthetic organic germanium were analyzed. The contents of germanium element and microelements in the germanium-containing minerals and some herbal plants were studied. The necessity of the deepened investigation of the germanium content in domestic herbal plants and the development of a modern atlas of plants indicating all microelements determined by the newest high-precision methods is substantiated.

Keywords: germanium element, herbal plants, microelement content.

1 – ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, 142432, Россия, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Н.Н. Семёнова, д. 1

2 – ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123242, Россия, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2

3 – ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАН, 141142, Россия, Московская обл., Щелковский р-н, п. Биокомбината, д. 17

1 – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, 1, Akademika Semenova str., Chernogolovka, Moscow region, 142432, Russia

2 – Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2, Barrikadnaya str., Moscow, 123242, Russia

3 – All-Russia Research and Technological Institute of Biological Industry, 17, Biokombinata settlement, Shchelkovo District, Moscow Region, 141142, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: komarov@chgnnet.ru

Тел.: 8 (496) 522 16 25

ВВЕДЕНИЕ

Элемент германий был предсказан Д.И. Менделеевым в 1871 г. и несколько позже, в 1886 г., открыт немецким исследователем Клеменсом Винклером при изучении серебросодержащего минерала аргиродита. На правах первооткрывателя неизвестный ранее элемент он назвал германием. Большая часть XX века была посвящена в основном изучению и применению германия в производстве полупроводников (транзисторы, диоды и др.), оптических линз, детекторов ионизирующего излучения, приборов ночного видения, систем наведения и прицелов ракет, в исследованиях и картографировании земной поверхности со спутников. Получают германий как побочный продукт при переработке руд цветных металлов. В основном он находится в минералах, важнейшими из которых являются германит, плюмбогерманит, стоттит, конфильдит, реньерит и аргиродит [1, 2].

Интерес к этому элементу существенно расширился после 1967 г. В этом году доктор К. Асаи начал исследование биологической активности 2-(карбоксиэтил)гермесесквиоксида, синтезированного В.Ф. Мироновым с сотрудниками Иркутского института химии им А.Е. Фаворского СО РАН. Через два года в Японии создаётся Исследовательский центр германия. Считается, что это соединение, в котором атом германия связан с атомом кислорода и остатками пропионовой кислоты, – $[\text{Ge}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH})\text{O}_{1,5}]_n$, подобно органическому германию в растительном сырье, – форма полуоксида карбоксиэтила.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали отечественные лекарственные растения. Содержание элемента германий и некоторых его минералообразующих элементов (мкг/г) в лекарственном растительном сырье с учетом влажности – 10–14%

вес. – определяли в ООО «Микронутриенты» по методу масс-спектрометрии и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой с помощью квадрупольного масс-спектрометра Nexion 300D и атомно-эмиссионного спектрометра Optima 2000 DV (Perkin Elmer, США). Протоколы: № 36100 от 14.03.2014, № 36207 от 28.03.2014 и № 37825 от 15.10.2014.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В организм человека германий поступает с пищей, распределяется по органам и тканям во внеклеточном и внутриклеточном пространстве. Выводится из организма с мочой около 90%. С пищей поступает 0,4–1,5 мг. О суточной потребности нет единого мнения. При ревматоидном артрите, пищевой аллергии, кандидозе, хронических вирусных заболеваниях рекомендуется принимать от 100 до 300 мг. Больше всего германия в тонком кишечнике, селезенке, костном мозге и крови. Предполагают, что в крови органический германий выполняет функцию передачи кислорода подобно гемоглобину. Таким образом на тканевом уровне он предупреждает развитие гипоксии. Доказано, что органический германий активирует Т-киллеры и выработку гамма-интерферонов, обладает противоопухолевой активностью, радиозащитным действием и иммуномодулирующей функцией. Кроме этого, воздействует на ионы водорода, сглаживает его губительное действие на клетку, способствуя его взаимодействию с кислородом путем доставки его во все точки организма.

Вокруг ядра атома германия вращается 32 электрона, 4 из них – на внешней электронной оболочке. При контакте с катионом или полярной молекулой один из четырех электронов легко отрывается. Тогда любой свободный электрон, находящийся поблизости, будет стремиться восполнить эту потерю, а атом германия – восстановить свою обычную оболочку. Подобное может происходить с раковыми клетками: германий лишает раковые клетки «лишних» электронов, понижая их электрический заряд, что приводит к их гибели. Обезболивающее действие также может быть связано со способностью активного атома германия перехватывать свободные электроны, прерывая тем самым движение электронов по нервным клеткам в мозг, как это делают другие анестезирующие средства. Молекулы германийорганических соединений прилипают к клеткам крови и нейтрализуют приближающиеся электроны и анионы, защищая таким образом клетки крови от повреждений.

Первая БАД на основе органических соединений германия растительного происхождения была создана в Японии – «Германий-132». В России в 2000 году

зарегистрирован как биологически активная добавка препарата «Гермавит», содержащий 2-карбокситилгермесквioxан, витамины, антиоксиданты и микроэлементы. Однако японские и отечественные исследователи [3–5] показали, что 2-карбокситилгермесквioxан и его производные в клинике оказались недостаточно эффективны. Лечебный эффект проявлялся при больших дозах, обычно 100–200 мг в день, что приводило к различным осложнениям (кожная сыпь, слабая диарея, риск повреждения почек и др.).

Позже был получен водорастворимый комплекс 1-гидроксигерматрана с лимонной кислотой – «Энио-герм» [6]. Синтезированы более сложные структуры водорастворимых органических соединений германия растительного происхождения [7], в которых атом германия связан с элементоорганическим радикалом, в том числе производным лекарственных препаратов. Это позволило уменьшить дозу (от 1 до 100 мг) и при однократном применении практически исключить осложнения. Лекарственные средства с германием в России пока не зарегистрированы, но работы по их разработке ведутся.

Авторы указывают, что синтезированные вещества усиливают лечебное действие независимо от вида лекарственного средства и характера заболевания [7]. По данным ВОЗ (1998 г.), эссенциальными для нормального функционирования иммунной системы живых организмов являются именно микродозы германия [8]. Синтетическим путем воспроизвести сложные структуры органических соединений германия в растениях, включая лекарственные, – непростая задача. Кроме этого, важно присутствие не только определенных органических соединений, но и наличие сопутствующих германию микро- и макроэлементов в конкретных соотношениях. В связи с этим, полагаем, в лечебных и профилактических целях наиболее эффективным может быть применение в натуральном виде растения, содержащего известное количество органического германия.

В литературе отсутствуют сведения о систематическом исследовании структуры органических соединений германия в различных растениях, а вышеуказанная форма – полуоксид карбоксиэтила – приписывается германию, содержащемуся в красном корне корейского 5–6-летнего женьшеня (до 0,2% или ≤ 2 мг/г) [9]. Нет данных и о содержании германия в лекарственных растениях различного территориального и временного происхождения, однако указывается [10, 11], что германий концентрируется в женьшене, чесноке, грибах, алоэ, хлорелле, содержится также в рыбе – тунце, лососине, отрубях, семенах, перловой крупе, овощах, луке, чайном листе, бамбуке.

Известно, что германий, рассеянный элемент, есть везде, но нигде нет его промышленного извлечения. Получают германий как побочный продукт при переработке руд цветных металлов. В основном он находится в минералах, важнейшими из которых являются: германит $\text{Cu}_3(\text{Ge,Fe,Ga})(\text{S,As})_4$, или структуры (англ) $\text{Cu}_{13}\text{Fe}_2\text{Ge}_2\text{S}_{16}$ с примесями Zn, Mo, As, V, или структуры [1] $\text{Cu}_{26}\text{Fe}_4\text{Ge}_4\text{S}_{32}$; плюмбогерманит $(\text{Pb,Ge,Ga})_2\text{SO}_4(\text{OH})_2$; стоттит $\text{FeGe}(\text{OH})_6$; конфильдит $\text{Ag}_8[\text{Sn,Ge}]_6$; реньерит $\text{Cu}_2(\text{Fe,Ge,Zn})(\text{S,As})_4$ или структуры [2] $\text{Cu}_{30}(\text{Zn}_{2-x}\text{Cu}_x)(\text{Ge}_{4-x}\text{As}_x)\text{Fe}_8\text{S}_{32}$; и аргиродит $\text{Ag}_8\text{Ge}_6\text{S}_6$.

Исследования содержания германия в растительном сырье, проведенные нами (таблица 1), пока-

зали, что его содержание зависит не только от вида растения, но и от его территориального происхождения [12].

Достоверно показано, что германий содержится в существенно большем количестве в исследуемых лекарственных растениях, чем в его признанных «концентраторах», таких как женьшень. Наибольшее содержание германия наблюдается в корнях одуванчика (г. Анапа) и корнях дягиля лекарственного (Калужская область) и находится в пределах 0,12–0,23 мкг/г (строки 2, 3 и 11 в таблице 1). Также для этих растений характерно повышенное содержание Fe, As и V. Для тысячелистника содержание Ge коррелирует только с содержанием Fe (строки 9 и 10). Это может быть об-

Таблица 1.

Содержание германия и некоторых сопутствующих элементов в германийсодержащих минералах в отечественных лекарственных растениях

№ п/п	Растение и его происхождение	Дата испытания	Ge	Fe	As	Cu	Zn	Mo	V.
1	Женьшень, 2013 (травы Алтая, ООО «ЛЕТО»)	14.03.2014	0,007	33	0,04	4,8	27	0,04	0,03
2	Корни одуванчика, 2013 (ООО «ФИТОФАРМ», г. Анапа)	14.03.2014	0,18	1600	0,56	8,0	25	0,3	4,1
3	Корни одуванчика, 2013 (ООО «ФИТОФАРМ», г. Анапа)	28.03.2014	0,23	1960	0,57	8,4	50	0,43	4,2
4	Корни одуванчика, 2013 (Башкортостан)	28.03.2014	0,05	376	0,38	7,2	15,5	0,62	2,9
5	Корни одуванчика, 2014 (ООО «ФИТОФАРМ», г. Анапа)	15.10.2014	0,04	248	0,15	6,4	23,6	0,22	0,8
6	Корни одуванчика, 2014 (Владимирская обл.)	28.03.2014	0,05	269	0,15	25,1	42,3	0,32	1,7
7	Корни одуванчика, 2014 (Калужская обл.)	28.03.2014	0,02	106	0,2	6,5	19,2	0,52	0,9
8	Корни одуванчика, 2014 (г. Черноголовка)	15.10.2014	0,01	93,0	0,09	4,6	9,4	0,15	0,4
9	Тысячелистник, трава 2013 (г. Черноголовка)	14.03.2014	0,06	875	0,04	10	27	0,4	0,12
10	Тысячелистник, 2014 (г. Жуков)	15.10.2014	0,01	69	0,04	8,2	25	0,45	0,16
11	Корни дягиля, 2014 (г. Жуков)	15.10.2014	0,12	591	0,12	5,8	35	0,03	1,3
12	Корни лопуха, 2014 (г. Жуков)	15.10.2014	0,02	81	0,1	12	19	0,09	0,4
13	Корни таволги, 2013 (г. Жуков)	28.03.2014	0,04	233	0,08	12,8	42,2	0,48	2,38
14	Цвет таволги, 2013 (г. Жуков)	28.03.2014	0,02	43,4	0,01	9,1	36,1	0,38	0,04
15	Корни девясила, 2013 (Донбасс)	15.10.2014	0,003	33	0,04	17	27	0,18	0,08
16	Овес молочной спелости, 2013 (г. Черноголовка)	14.03.2014	0,03	25	0,007	2,2	31	2,5	0,02

Примечание: Содержание элементов дано в мкг/г.

условлено специфическим элементным составом хелатов и комплексов германия, характерным только для данного вида растений.

Отметим, что в корнях таволги в два раза больше германия, чем в цветке таволги. Завышение характерно и по всем сопутствующим элементам (строки 13 и 14 в таблице 1).

При исследовании образцов корней одуванчика, приобретенного в аптеке (2 и 3 строки таблицы 1), были выявлены различия по содержанию Ge, Fe и Zn. В образцах, собранных на следующий год (строка 4), содержание Ge, Fe, As и Cu было значительно меньше. Можно предположить, что корни одуванчика этой партии собраны на равнинной местности, а предшествующая партия – из горного района [4]. С изменением содержания германия изменяется и содержание некоторых других исследованных микроэлементов. Такая же тенденция наблюдается и для растений равнинной местности (строки 5–13). Содержание германия больше в корнях одуванчика и зависит от места его произрастания [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отметим, что германий занимает особое положение среди эссенциальных элементов и участвует в важнейших биологических процессах в живом организме. Однако в настоящее время невозможно точно воспроизвести его природный синтез в лабораториях. Необходимо продолжить исследования структуры органического германия растительного происхождения с учетом времени и места сбора растений. Назрела необходимость создания современного атласа растений, произрастающих в России, со сведениями о содержании всех макро- и микроэлементов, в том числе и германия, что позволит более широко и эффективно использовать местные растения для профилактики и лечения различных заболеваний и сохранения здоровья населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. R.T. Tettenhorst, C.E. Corbato. Crystal structure of germanite, $\text{Cu}_2\text{Ge}_4\text{Fe}_4\text{S}_{32}$ determined by X-ray powder diffraction. II // *Amer. Miner.* 1984. V. 69. № 9–10. P. 943–947.
2. L.R. Bernstein, D.G. Rechel, S. Merlino. Renierite crystal structure refined from Rietveld analysis of powder neutron-diffraction data // *Amer. Miner.* 1989. V. 74. № 9–10. P. 1177–1181.
3. K. Asai. *Miracle cure: organic germanium*. – Tokio: Jpn. Publ. Inc., 1980. 171 p.
4. Patent USA № 5340806 (K1. 514-184). Composition containing Organogermanium compound and immunity – adjusting agent composition // K. Sawai, M. Kurono, J. Awaaya at al. – 23.08.94.
5. Э.Я. Лукевиц, Т.К. Гар, Л.М. Игнатович, В.Ф. Миронов. Биологическая активность соединений германия. – Рига: Зинатне, 1990. 191 с.
6. А.Д. Исаев, А.В. Поткин, С.А. Башкирова, О.П. Трохаченкова. Профессиональное долголетие и качество жизни: Материалы конференции. Россия. ЦВКС МО РФ. 2007. С. 93.
7. Патент РФ № 2104032, МПК А61К47/00. Способ усиления лечебного эффекта лекарственных средств // В.В. Щербинин, Е.А. Чернышев. – Заявл. 11.03.97; опубл. 10.02.98.
8. А.А. Ревина, П.М. Зайцев, Е.А. Кабанова, И.Д. Чувилов. Физико-химические исследования биологической активности германийорганических комплексов // *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сборник научных трудов*. Вып. 21. – М.: РАЕН, 2013.
9. Патенты 20120097954; 20120181923; 20130120630; 20140143568. Пластины Пауэр Стрипс // Ким Минсу. Институт «Инженерии и технологии Будущего» Южно-Корейского университета.
10. М.Г. Воронков, Р.Г. Мирсков. Четвертое рождение германия // *Химия и жизнь*. 1982. № 3. С. 54–56.
11. А.В. Кудрин, А.В. Скальный, А.А. Жаворонков, М.Г. Скальная, О.А. Громова. Германий и иммунный ответ / *Иммунофармакология микроэлементов*. – М. 2000. С. 386.
12. Б.А. Комаров, Л.В. Погорельская, М.А. Фролова, А.И. Албулов, К.А. Трескунов, О.К. Широкова, Ю.А. Комаров. Почему необходим повсеместный контроль микроэлементного состава растительного сырья // *Потенциал современной науки*. 2014. № 5. С. 27–35.

УДК 378.6; 615

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ В ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЯХ ВЕЛИКОБРИТАНИИ НА ПРИМЕРЕ УНИВЕРСИТЕТА БАТА

В.М. Печенников¹, В.Н. Кузина¹, Ю.В. Медведев^{1*}, Е.А. Малашенко¹,
М.А. Колганова¹

Резюме. В статье рассмотрены подходы к образовательному процессу при подготовке фармацевтических кадров в высших учебных заведениях России и Великобритании на примере Университета Бата. Отмечены особенности преподавания фармации, характерные для построения учебных курсов в иностранных учебных заведениях.

Ключевые слова: фармация, Университет Бата, образование.

PHARMACEUTICAL EDUCATION IN THE GREAT BRITAIN ON THE EXAMPLE UNIVERSITY OF BATH

V.M. Pechennikov¹, V.N. Kuzina¹, Y.V. Medvedev^{1*}, E.A. Malashenko¹, M.A. Kolganova¹

Abstract. The article shows the approaches to the educational process in preparation for the specialty "Pharmacy" in Russia and The United Kingdom, using the example of the University of Bath. Described features of the teaching of pharmacy, characteristic for the construction of training courses in the UK.

Keywords: Pharmacy, University of Bath, education.

1 – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, Москва, ул. Трубетская, д. 8

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: y125195@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Фармация – наука, занимающаяся вопросами разработки, получения, исследования, производства, контроля, хранения и отпуска лекарственных средств и средств медицинского назначения. Фармация находится на стыке других наук, в частности химии и биологии, затрагиваются и вопросы технологического и инженерного рода. Принято считать что фармация как наука существует со времен Древнего Египта и присутствует у самых разных народов, включая народы, населяющие территорию нынешних Индии, Китая, народы Древнего Египта, Месопотамии, Древней Греции, Древнего Рима и др. [1].

В настоящее время в России фармация преподается в ПТУ в формате среднего специального образования (с возможностью последующего получения высшего образования) или в вузах в формате высшего специального образования. Обучение по специальности «Фармация» проходит, как правило, в вузах медицинского направления (Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова [2],

Пятигорский медико-фармацевтический институт [3], Сибирский государственный медицинский университет [4], Курский государственный медицинский университет [5], Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет [6], Новосибирский государственный медицинский университет [7] и др.), так и в вузах немедицинского профиля (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова [8], Российский университет дружбы народов [9] и др.). Обычно обучение идет в течение 5 лет, на протяжении которых студенты проходят дисциплины медицинского направления – латинский язык, анатомию/физиологию, патологическую физиологию, биотехнологию; дисциплины химического направления – неорганическую и органическую химию, аналитическую химию, биоорганическую химию; и специальные дисциплины – фармацевтическую химию, фармакогнозию, технологию лекарственных средств, токсикологию, экономику и организацию фармацевтического дела. Однако, очевидно, в связи с гармонизацией образования и введением Болонского процесса представляет интерес организация обучения по специально-

сти «Фармация» в Европе, для чего нами было изучено фармацевтическое образование в Великобритании на примере Университета Бата [10].

Университет Бата (University of Bath, United Kingdom) находится в г. Бат, Сомерсет, Англия. В 1907 году в городе Бат организована Фармацевтическая школа, которая в дальнейшем вошла в состав Технического колледжа, которому в 1963 году был присвоен статус университета. Таким образом, Университет Бата обладает сильной фармацевтической школой со 110-летней историей.

Обучение в Университете Бата по специальности «Фармация» возможно в виде бакалавриата и в виде магистратуры. Бакалавриат предлагается для специальности «Фармакология», магистратура доступна для подготовки по специальности «Фармакология» и «Фармация». Образовательный процесс в Университете Бата можно разделить на два вида: теоретический (лекции, семинары, самостоятельная работа) и практический (практическая работа во время семинаров, лабораторные занятия, практика и стажировка). Обучение по программе магистратуры длится на один год дольше в основном за счет большего количества практической работы и стажировки. Особенности обучения и содержание курсов рассмотрены ниже.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ КУРСА

Курс фармакологии – бакалавриат. Курс предназначен для обучения студентов основам разработки более эффективных способов лечения заболеваний, изучается, как химические вещества влияют на работу организма, студенты знакомятся и осуществляют научно-исследовательскую работу [11].

Учащийся приобретает фундаментальные знания в области химии, биологии, физики с дальнейшим применением этих знаний для решения проблем в области фармакологии. В курсе обучения предусмотрены практические лабораторные занятия. Данный курс позволяет обучающемуся понять воздействие лекарства на функции органов и организма в целом при нормальном состоянии и при заболеваниях.

По итогам курса выпускник готов к проведению научных исследований как в области лечения людей, так и в области лечения животных. Данный курс рекомендуется для будущих сотрудников лабораторий и исследователей.

Первый год обучения:

- Научные исследования и научное взаимодействие для фармакологов.
- Основы фармакологии: от молекулы к лекарству (в 2 частях).
- Основы фармакологии: нормальная физиология (в 2 частях).
- Введение в экспериментальную фармакологию.

- *Научные исследования и научное взаимодействие для фармакологов*

Данный цикл направлен на знакомство обучающегося с методами группового и индивидуального обучения, работой с библиотечными материалами, в том числе в сети Интернет, планированием обучения, знакомство с работой в лаборатории

После завершения этого цикла студент должен уметь:

- ✓ организовать эффективную работу с информацией;
 - ✓ продемонстрировать навык работы с библиотеками, в том числе электронными; уметь писать рефераты и доклады в научном стиле, уметь выполнять лабораторные работы;
 - ✓ проводить статистическую обработку данных и обобщать данные;
 - ✓ осуществлять безопасную работу в химической лаборатории.
- *Основы фармакологии: от молекулы к лекарству (1-я часть)*

Данный цикл направлен на изучение фундаментальных химических, физико-химических и биологических основ фармакологии

После завершения этого цикла студент должен уметь:

- ✓ описывать факторы, которые влияют на формы молекул;
 - ✓ описывать механизмы реакции;
 - ✓ оценивать, насколько физико-химические свойства молекулы влияют на ее поведение в качестве лекарственного средства; распознавать различные подходы к исследованию лекарств;
 - ✓ различать классы лекарственных средств и знать методы, используемые при их разработке.
- *Основы фармакологии: нормальная физиология (1-я часть)*

Данный цикл направлен на изучение нормального функционирования клеток, органов и систем организма.

После завершения этого цикла студент должен уметь:

- ✓ давать определение здоровья, болезни и физиологической концепции гомеостаза;
- ✓ описывать нормальную структуру и функцию клетки человека на молекулярном, клеточном и тканевом уровне;

- ✓ демонстрировать знание основ различия между инфицированием клетки бактериальной, вирусной или грибковой инфекцией и механизмов заражения;
- ✓ объяснять основы воздействия лекарств на молекулярном и клеточном уровне в живых системах;
- ✓ использовать соответствующие фармакологические расчеты с целью определения эффективности агониста и антагониста препарата.

• *Введение в экспериментальную фармакологию*

Данный цикл направлен на изучение основ экспериментальной фармакологии, привитие навыков, необходимых для проведения фармакологических исследований.

После завершения этого цикла студент должен уметь:

- ✓ выполнять приготовление растворов лекарственных средств;
- ✓ проводить простые тесты для измерения физиологической реакции;
- ✓ проводить стандартные фармакологические тесты;
- ✓ анализировать непрерывные и дискретные данные;
- ✓ вести протокол эксперимента в научном стиле.

• *Основы фармакологии: от молекулы к лекарству (2-я часть)*

Данный цикл направлен на изучение физико-химических свойств лекарств и инородных веществ. В цикле изучаются виды лекарственных форм, понятия об оригинальном и воспроизведенном лекарственном средстве, а также орфанных препаратах. Изучаются концепции биодоступности и терапевтического окна. Студент получает практический навык аналитического исследования лекарств, в том числе интерпретации результатов.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ иметь знания о том, что представляет собой медицина как наука, как регламентируется производство и качество лекарственных средств и требования, предъявляемые к различным лекарственным формам;
- ✓ описывать свойства растворов и знать, как термодинамика, химические свойства и pH влияют на свойства лекарственных средств и их компонентов;
- ✓ описывать факторы, которые влияют на высвобождение лекарства из лекарственной формы, последующее всасывание, распределение, метаболизм и выведение из организма

и знать, как моделирование фармакокинетических параметров может быть использовано для оптимизации фармакотерапии;

- ✓ объяснять роль лекарственных форм в обеспечении высвобождения препарата и эффективности и индивидуализации лечения;
- ✓ объяснять, как распределение и концентрацию лекарств в организме можно смоделировать и предсказать, используя базовые модели фармакокинетики.

• *Основы фармакологии: нормальная физиология (2-я часть)*

Данный цикл направлен на изучение основных органов и систем здорового организма, физиологических систем как комплексных единиц и понимание, как работа этих систем регулируется, с целью последующего изучения функционирования этих систем при болезни.

После завершения этого цикла студент должен уметь:

- ✓ описывать структуру и функции основных органов и систем человеческого организма;
- ✓ демонстрировать знания о том, как функции основных органов и систем интегрируются и регулируются в здоровом состоянии.

Второй год обучения:

- Фармакология ЦНС.
- Открытие (создание) лекарств.
- Регулирование и функция клеток: рецепторы генов.
- Экспериментальная фармакология (часть 1).
- Фармакология сердечно-сосудистой, почечной и периферической нервной системы.
- Фармакокинетика.
- Инфекция и иммунитет.
- Экспериментальная фармакология (часть 2).
- *Фармакология центральной нервной системы*

Данный цикл направлен на изучение функционирования центральной нервной системы (ЦНС) в нормальном состоянии и при патологии. Предполагается изучение патологии и этиологии основных неврологических и психических расстройств, а также изучение основных групп препаратов, действующих на ЦНС, с точки зрения механизма действия и терапевтического использования.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ иметь рабочее знание и критическое понимание основных свойств синаптических передатчиков и путей в ЦНС;

- ✓ уметь объяснить возможную этиологию и патологию основных болезненных состояний, влияющих на мозг;
- ✓ иметь критическое понимание механизмов действия и терапевтического использования основных классов препаратов, действующих на уровне ЦНС.

- *Открытие (создание) лекарств*

Данный цикл направлен на изучение подходов к открытию/разработке новых лекарств с углубленным изучением стадий разработки на основании знаний, полученных на первом году обучения. К проведению цикла привлекаются специалисты из области открытия/разработки ЛС.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ описывать различные этапы процесса разработки лекарств;
- ✓ оценивать важность каждого этапа разработки и проблем, возникающих при разработке новых лекарств;
- ✓ знать о текущих разработках в рамках программ открытия лекарств в фармацевтической промышленности.

- *Регулирование и функция клеток: рецепторы генов*

В данном цикле изучаются механизмы работы генного аппарата клетки, генные рецепторы, влияющие на активность генов, образование мутаций и онкогены. Рассматриваются способы манипуляции с ДНК или их частями. Изучаются подходы к генной терапии.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ знать рецепторы, связанные с активностью генного аппарата клетки, в частности ДНК;
- ✓ знать механизмы транскрипции и возможные нарушения, возникающие при транскрипции и ведущие к появлению заболеваний;
- ✓ знать свойства и потенциал стволовых клеток;
- ✓ знать пути применения рекомбинантной ДНК.

- *Экспериментальная фармакология (часть 1)*

В данном цикле изучается фармакология гладких мышц сосудов и дыхательных путей, фармакология ЦНС, физиология животных; изучаются такие методы анализа, как микроскопия и иммунологические методы. В цикле студент знакомится с экспериментальной разработкой лекарств, анализом данных и их представлением.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ знать и демонстрировать знания о методах (клеточных, тканевых, системных), используемых для изучения фармакологии медиаторов и лекарств;

- ✓ знать подходы к проведению экспериментов на животных и уметь проводить запланированные эксперименты;
- ✓ уметь обрабатывать и представлять результаты экспериментов.

- *Фармакология сердечно-сосудистой, почечной и периферической нервной системы*

Данный цикл предназначен для изучения периферической нервной системы, ее фармакологии, фармакологии нервно-мышечного перехода; почечной физиологии и фармакологии, механизмов действия диуретиков. Изучаются фармакология и физиология сердца, механизмы сердечного возбуждения, сжатия и релаксации, механизмы действия лекарств, используемых при лечении сердечно-сосудистых заболеваний: гипертонии, сердечной недостаточности, аритмии, ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда.

После завершения данного курса студент должен:

- ✓ знать и демонстрировать знания о воздействии лекарственных средств на периферическую нервную систему, сердечно-сосудистую систему, почечную систему.

- *Фармакокинетика*

Данный цикл предназначен для изучения фармакокинетики, доклинических и клинических исследований. Изучаются различные виды фармакокинетики, изменчивость фармакокинетики в связи с разными заболеваниями и другими процессами в организме. Параметры фармакокинетики.

После завершения данного курса студент должен:

- ✓ знать основы доклинических и клинических испытаний, оценивать фармакокинетические параметры;
- ✓ знать виды фармакокинетических профилей, зависимость фармакокинетики от возрастных изменений, приема пищи, сопутствующих заболеваний и т.п.;
- ✓ знать основы лекарственного терапевтического мониторинга и его применение в медицине.

- *Инфекции и иммунитет*

В данном цикле обучающийся изучает механизмы возникновения и течения инфекционных заболеваний, иммунный ответ организма человека на инфекцию, виды иммунитета, патологические изменения в иммунном ответе, медикаментозное влияние на иммунитет. Также изучается использование иммунных систем в лабораторной диагностике.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ знать механизмы защиты организма от инфекции;
- ✓ знать виды иммунитета и работу иммунной системы в норме и при патологии;

- ✓ влияние ЛС на иммунную систему и иммунный ответ.

- *Экспериментальная фармакология (часть 2)*

В данном цикле изучается вегетативная нервная система, нейротрансмиссия, фармакологическое воздействие на гладкомышечную систему и на сердечно-сосудистую систему.

После завершения данного курса студент должен:

- ✓ знать и демонстрировать знания о методах воздействия на вегетативную нервную систему.

Третий год обучения:

- Исследовательский проект в области фармакологии.
- Молекулярная биология и фармакология.
- Последние достижения в области открытия лекарств.
- Современные темы, тенденции и технологии в фармакологии.

- Дисциплины по выбору:

- Фармакология ЦНС
- Фармакология сердечно-сосудистой системы
- Молекулярная биология и лечение онкологических заболеваний
- Регенеративная фармакология
- Привлечение общественности к исследованиям в области разработки лекарств

- *Исследовательский проект в области фармакологии*

Данный цикл предназначен для выполнения малыми группами в лаборатории работы в области экспериментальной фармакологии. Студенты должны разработать эксперимент с последующим проведением экспериментальных исследований.

После завершения данного курса студент должен:

- ✓ иметь практические навыки в области экспериментальной фармакологии;
- ✓ уметь составлять план экспериментальной работы, выполнять эксперимент в соответствии с планом;
- ✓ уметь проводить анализ экспериментальных данных.

- *Молекулярная биология и фармакология*

Данный цикл предназначен для обучения студентов молекулярной биологии и применению ее в фармакологических исследованиях. Студент должен изучить геномику и протеомику, механизмы генных мутаций, клонирования генов, генной терапии.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ иметь теоретические и практические навыки в области молекулярной биологии, генной терапии и процессах изменения генной структуры в клетках;
- ✓ уметь применять молекулярную биологию в фармакологических исследованиях.

- *Последние достижения в области открытия лекарств*

Данный цикл направлен на информирование студентов о том как фармацевтические компании используют новые научные знания для создания новых лекарств и поиска новых целей для лекарств.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ знать текущие разработки в программах открытия лекарств;
- ✓ знать способы оптимизации лекарственных средств с применением знаний в области химии, фармакокинетики и токсикологии.

- *Современные темы, тенденции и технологии в фармакологии*

В данном цикле изучаются последние изменения в области рецепторной фармакологии и механизмов, связанных с работой рецепторной функции. Студенты знакомятся с современными технологиями изучения рецепторных систем в клетках и тканях.

После завершения данного цикла студент должен:

- ✓ знать новейшие разработки в области фармакологического воздействия на рецепторы;
- ✓ знать современные технологии изучения рецепторных систем в клетках и тканях.

- *Дисциплины по выбору:*

- Фармакология ЦНС. Раздел посвящен изучению последних достижений в области фармакологии заболеваний ЦНС. Основываясь на знаниях о нейрофизиологии и нейроанатомии студент должен узнать о направлениях в области создания новых лекарств.
- Фармакология сердечно-сосудистой системы. Данный цикл посвящен изучению последних достижений в области лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Изучается роль сердечно-сосудистой системы при различных болезнях человека, а также пути лечения. Исследуются цели для разработки новых лекарств в данной области.
- Молекулярная биология и лечение онкологических заболеваний. В данном цикле обучающиеся должны ознакомиться с последними достижениями в области исследования молекулярных и клеточных процессов, лежащих в основе развития опухолей и их лечения.

- Регенеративная фармакология. Задача данного цикла познакомить студентов с ролью стволовых клеток в лечении различных заболеваний, использовании их в научно-исследовательской работе и разработке новых лекарств.
- Привлечение общественности к исследованиям в области разработки лекарств. Данный цикл предназначен для обучения способам информирования общественности о разработке и внедрении лекарств. Показана роль общества в исследовании лекарств. Студент при прохождении цикла должен развить основные навыки общения, включая рефлексивное письмо и рефлексивную практику.

КУРС ФАРМАКОЛОГИИ (МАГИСТРАТУРА)

Обучение занимает 4 года. В процессе обучения студент знакомится с химией, биологией, физикой и применяет полученные знания в рамках фармакологических задач. На практических занятиях прививаются навыки работы в лаборатории и проведения экспериментов. Изучаются лекарства, их воздействие на организм при различных состояниях.

В течение одного года обучения студент проводит в фармацевтической компании, НИИ или университете практику, выполняя исследовательский проект [12].

Первый и второй годы обучения целиком повторяют первый и второй годы обучения по программе «Бакалавр фармакологии». Четвертый год аналогичен третьему году обучения по программе «Бакалавр фармакологии».

Третий год обучения:

- Практика в фармацевтической компании, НИИ или университете.
- Курсовая работа.
- Вехи в фармакологии.
- Практика в фармацевтической компании, НИИ или университете предназначена для развития практических навыков исследователя в фармкомпании, НИИ или университете с целью научиться получать научные данные, подвергать их анализу и делать научно обоснованные выводы.

Результатом данного цикла является научно-исследовательская работа, выполненная в лаборатории и представленная в письменном виде и в виде доклада.

- Курсовая работа. Данный цикл предназначен для выполнения библиотечного исследования для написания литературного обзора как части научно-исследовательской работы.

- Вехи в фармакологии. Цикл направлен на ознакомление обучающихся с вехами в фармакологии для оценки научного опыта и значимости научных открытий для дальнейшего развития науки. В процессе прохождения цикла студент должен написать ретроспективную научную работу по исследованию в области фармакологии.

КУРС ФАРМАЦИИ (МАГИСТРАТУРА)

Процесс обучения занимает 4 года, в течение которых изучается биология человека и происхождение заболеваний, фармацевтическая химия, физиология. Для научно-исследовательских целей студенты обучаются математике и основам статистики; проходят ряд клинических дисциплин, во время которых предполагается работа с пациентами [13].

Первый год обучения:

- Основы фармации: от молекулы к лекарству (в 2 частях).
- Основы фармации: нормальная физиология (в 2 частях).
- Подготовка к профессиональной деятельности № 1.
 - Основы фармации: от молекулы к лекарству (в 2 частях). Данный цикл повторяет цикл обучающихся в магистратуре **курса «Фармакология»**.
 - Основы фармации: нормальная физиология (в 2 частях). Данный цикл аналогичен циклу обучающихся в магистратуре **курса «Фармакология»**, однако дополнен программой по общению с пациентами с целью проведения консультаций, в том числе по здоровому образу жизни.
 - Подготовка к профессиональной деятельности. Данный цикл предназначен для ознакомления студентов с методами обучения, работы с библиотечным материалом, законодательными основами деятельности фармацевтических работников, этикой.

Второй год обучения:

- Специализированный цикл № 1: лечение заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и печени.
- Специализированный цикл № 2: иммунитет, воспаления и инфекции.
- Специализированный цикл № 3: лечение респираторных заболеваний и дерматология.
- Специализированный цикл № 4: лечение заболеваний сердечно-сосудистой системы и нарушений эндокринной системы.
- Подготовка к профессиональной деятельности № 2.

- *Специализированный цикл №1: лечение заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и печени*

В данном цикле изучаются подходы к лечению заболеваний ЖКТ и печени, виды лекарственных форм для перорального пути введения. Изучаются свойства веществ, влияющие на всасывание ЛВ в ЖКТ, механизмы всасывания, процессы, происходящие с ЛВ в ЖКТ и печени. В цикле изучаются фармакологические аспекты заболеваний ЖКТ и печени: виды заболеваний и причины их появления, различные способы терапевтического воздействия, клинические решения и последствия.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ знать этиологию, эпидемиологию, патофизиологию и клинические симптомы заболеваний желудочно-кишечного тракта и печени, а также способы диагностирования соответствующих заболеваний;
- ✓ знать требования к твердым и жидким лекарственным формам и их применение при лечении заболеваний ЖКТ и печени;
- ✓ знать процессы, связанные с абсорбцией, метаболизмом и транспортом ЛВ в системный кровоток, а также процессы, происходящие с ЛВ в печени;
- ✓ знать физиологические процессы, происходящие при заболеваниях органов ЖКТ, а также способы лечения;
- ✓ знать основы разработки лекарств для лечения заболеваний ЖКТ и печени.

- *Специализированный цикл № 2: иммунитет, воспаления и инфекции*

Во время данного цикла студенты изучают процессы, связанные с инфекционными заболеваниями, воспалением и иммунным ответом. Цикл включает фармацевтические вопросы: анализ белков, диагностические тесты, фармакокинетику противовоспалительных препаратов. Изучаются парентеральные препараты. Фармакологические темы включают вопросы, связанные с инфекцией: изучаются вирусы, бактерии, грибы и простейшие и соответствующие лекарства против них, вакцины. Рассматриваются вопросы фармацевтической химии, связанные с антимикробными, противовирусными, противогрибковыми препаратами. Цикл включает изучение микробиологии.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ знать этиологию, эпидемиологию, патофизиологию и клинические симптомы заболеваний, связанных с иммунной системой, а также то, как их диагностировать и лечить;
- ✓ знать требования к парентеральным лекарственным формам;

- ✓ знать процессы, связанные с возникновением и развитием инфекционного заболевания, иммунным ответом;
- ✓ знать основы лечения инфекционных заболеваний и других заболеваний, связанных с иммунными системами организма;
- ✓ знать основы разработки лекарств для парентерального применения.

- *Специализированный цикл № 3: лечение респираторных заболеваний и дерматология*

Данный цикл предназначен для обучения студентов основам разработки лекарств для лечения респираторных и дерматологических заболеваний. Изучаются причины, течение и лечение соответствующих болезней. Фармацевтический раздел данного цикла включает в себя изучение специальных лекарственных форм для лечения заболеваний дыхательных путей, механизм действия лекарств, вводимых через дыхательные пути; изучаются лекарственные формы, применяемые в дерматологии. Цикл включает в себя часть фармацевтической химии стероидных соединений, бета-блокаторов. Фармакологический раздел цикла знакомит обучающихся с анатомией и физиологией дыхательных путей, легких, кожи. Рассматриваются причины возникновения заболеваний и способы их лечения, изучаются аллергические реакции и астма.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ знать этиологию, эпидемиологию, патофизиологию и клинические симптомы заболеваний, связанных с дыхательной системой и дерматологией, а также то, как данные заболевания диагностировать и лечить;
- ✓ знать требования к лекарственным формам, вводимым через дыхательные пути, а также требования к лекарственным формам, применяемым в лечении дерматологических заболеваний;
- ✓ знать процессы, связанные с возникновением и развитием респираторных и дерматологических заболеваний, в том числе неинфекционного происхождения (аллергии, астма и другие);
- ✓ знать основы лечения заболеваний кожи и дыхательных путей;
- ✓ знать основы разработки лекарств для применения в дерматологии и в лечении болезней дыхательных путей.

- *Специализированный цикл № 4: лечение заболеваний сердечно-сосудистой системы и нарушений эндокринной системы*

Данный цикл предназначен для изучения студентами основных заболеваний сердечно-сосудистой и эндокринной систем, а также лечению данных заболеваний. Фармацевтическая часть цикла включает в себя изучение пептидов и белков, рекомбинантных технологий. Фармакологическая часть цикла предназначена для изучения фармакологии вегетативной нервной системы, роли рецепторов, регуляции давления крови, работы почек, сосудов, систем свертываемости крови. Раздел фармацевтической химии посвящен лекарственным веществам, применяемым при лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы и эндокринных заболеваниях. Изучение способов лечения соответствующих заболеваний проходит во время клинической части цикла.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ знать этиологию, эпидемиологию, патофизиологию и клинические симптомы заболеваний, связанных с сердечно-сосудистой системой и эндокринной системой, а также то, как данные заболевания диагностировать и лечить;
 - ✓ обучающиеся должны выполнить и написать аналитический мини-проект;
 - ✓ знать основы лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы и эндокринных заболеваний;
 - ✓ уметь оценивать риски для пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и уметь проводить консультации по лечению некоторых сердечно-сосудистых заболеваний и заболеваний, связанных с эндокринной системой.
- *Подготовка к профессиональной деятельности № 2*

Данный цикл предназначен для ознакомления студентов с прикладной фармацией – работой в аптеке, диагностикой и лечением основных заболеваний, изучением законодательства в области лечения и фармации, этическими аспектами работы фармацевтических сотрудников.

Третий год обучения:

- Специализированный цикл № 5: неврология и психическое здоровье.
- Специализированный цикл № 6: особые группы пациентов.
- Специализированный цикл № 7: онкология и паллиативная помощь.
- Оптимизация лекарственной терапии у сложных пациентов (часть 1).
- Подготовка к профессиональной деятельности № 3.

- *Специализированный цикл № 5: неврология и психическое здоровье*

Данный цикл предназначен для знакомства студентов с основами неврологии, заболеваниями, связанными с работой нервной системы и психическими расстройствами. Фармацевтическая часть цикла включает в себя изучение работы гематоэнцефалического барьера, особенности доставки лекарств до головного мозга, физиологические особенности эффективности лекарственных средств, применяемых перорально. Фармакологическая часть цикла предназначена для изучения медиаторов нервной системы, анальгетиков, каннабиноидов. Раздел фармацевтической химии посвящен лекарственным веществам, применяемым при лечении заболеваний неврологического характера. Клиническая часть цикла знакомит со стратегиями лечения боли различного происхождения, инсульта, эпилепсии, моторных расстройств, депрессии, психозов и других заболеваний.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ знать этиологию, эпидемиологию, патофизиологию и клинические симптомы неврологических заболеваний, а также то, как данные заболевания диагностировать и лечить;
 - ✓ знать фармакологию и механизмы действия лекарств, применяющихся при лечении заболеваний, связанных с неврологией и психическим здоровьем;
 - ✓ знать роль фармацевтического работника в процессе лечения, в частности в контроле выписанных препаратов, их совместимости и безопасности;
 - ✓ уметь применять консультационные навыки при работе с пациентами с неврологическими или иными психическими заболеваниями.
- *Специализированный цикл № 6: особые группы пациентов*

Данный цикл предназначен для обучения студентов особенностям лекарственной терапии особых групп пациентов: беременных и кормящих матерей, недоношенных детей, новорожденных, пожилых, страдающих ожирением, людей с почечной недостаточностью и перенесших операцию. Фармацевтическая часть цикла содержит информацию об особенностях подбора дозы, особенностях фармакокинетики и фармакодинамики, возрастных особенностях в особых группах. Фармакологическая часть цикла предназначена для знакомства с особенностями применения лекарств в особых группах, в частности у беременных и у новорожденных; изучаются особенности лекарственной терапии в постоперационном периоде.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ знать особенности применения лекарств при лечении особых групп пациентов;

- ✓ знать особенности мониторинга заболеваний у особых групп пациентов;
 - ✓ знать особенности воздействия лекарств до, во время и после проведения операций;
 - ✓ принимать необходимые клинические решения при назначении лекарств в особых группах пациентов;
 - ✓ уметь применять консультационные навыки.
- *Специализированный цикл № 7: онкология и паллиативная помощь*

Данный цикл предназначен для изучения студентами особенностей лекарств для лечения онкологических заболеваний, механизмов действия, метаболизма. В цикле затрагиваются вопросы паллиативной помощи. Фармацевтическая часть цикла посвящена изучению особенностей онкологии и паллиативной помощи, в частности выбору лекарств, подбору доз с учетом особенностей пациентов. Изучаются способы таргетной терапии, клеточной и генной терапии заболевания, а также применение стволовых клеток и регенеративная медицина. Фармакологическая часть цикла знакомит с причинами возникновения опухолей, онкогенезом, развитием метастазов, способами подавления опухолей. Изучаются способы диагностики опухолей и генотипирования, рассматриваются основы химиотерапии, подбора дозы и доставки лекарства к раковым клеткам. Химическая часть посвящена вопросам разработки и анализа противоопухолевых лекарств – гормонов, антиметаболитов и других видов лекарств. Клиническая часть посвящена вопросам диагностирования опухолей, применения сопутствующих лекарственных средств, осложнениям лечения опухолей, паллиативной помощи.

После завершения этого блока студент должен:

- ✓ знать этиологию, эпидемиологию, патофизиологию и клинические симптомы опухолевых заболеваний;
 - ✓ знать способы диагностирования и лечения онкологических заболеваний;
 - ✓ знать особенности лекарственной терапии онкологических заболеваний, подбор доз лекарств, назначение сопутствующих препаратов для поддерживающей терапии;
 - ✓ принимать необходимые клинические решения при назначении лекарств онкологическим больным;
 - ✓ уметь оказывать паллиативную помощь.
- *Оптимизация лекарственной терапии у сложных пациентов (часть 1)*

Данный цикл предназначен для применения в клинической практике ранее полученных знаний с применением симуляционных моделей для улучшения понимания физиологических проявлений заболе-

ваний, фармакологических и клинических подходов к лечению. В обучении используются программы и комплексы расширенной реальности. Работа ведется в небольших группах для решения клинических задач в реальном времени.

После завершения этого цикла студент должен:

- ✓ уметь разрабатывать план лекарственной терапии, документировать его и применять на практике;
 - ✓ проводить общение с пациентами с целью оптимизации лекарственной терапии для получения безопасных и эффективных результатов лечения;
 - ✓ уметь применять на практике результаты мониторинга заболеваний и лекарственной терапии для коррекции последней;
 - ✓ уметь принимать решения о лечении с учетом комплекса данных, полученных при исследовании состояния пациента.
- *Подготовка к профессиональной деятельности № 3*

Данный цикл продолжает знакомить студентов с работой в аптеке – приемом рецептов, согласованием и выдачей лекарств. Изучаются законодательные основы деятельности аптек. Студенты на практике учатся проводить диагностику и лечение распространенных заболеваний. Изучаются схемы применения лекарств, возможные взаимодействия, побочные действия. Студенты знакомятся с экологическими вопросами производства лекарств и системой управления качеством.

Четвертый год обучения:

- Исследовательский проект или международная практика.
 - Моделирование управления аптекой.
 - Оптимизация лекарственной терапии у сложных пациентов (часть 2).
 - Общественное здравоохранение и управление.
- *Исследовательский проект или международная практика*
- Последний год обучения включает в себя несколько видов практики, в частности студент может выполнять исследовательский проект в области научной или практической фармации в составе небольшой рабочей группы или пройти международную стажировку в Европе, Австралии, Новой Зеландии, США, Бразилии или Китае.
- *Моделирование управлением аптекой*

Данный цикл предназначен для знакомства с работой аптеки и моделирования управления аптекой, где студент знакомится с практическими аспектами управления.

- *Оптимизация лекарственной терапии у сложных пациентов*

Цикл предназначен для продолжения знакомства студентов с разными аспектами и тонкостями лекарственной терапии пациентов со множественными заболеваниями, редкими (орфанными) заболеваниями, с непереносимостью по отношению к некоторым видам лекарств и т.д.

- *Общественное здравоохранение и управление*

Данный цикл знакомит студентов с основами и принципами общественного здравоохранения, управления им, нормативной и законодательной базой в области общественного здравоохранения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании приведенной информации о подготовке специалистов фармацевтического профиля в Университете Бата хотелось бы отметить следующее.

1. Процесс обучения значительно отличается от принятого в РФ: большая часть знаний преподается в виде циклов, посвященных определенным системам организма, возможным заболеваниям, способам лечения, лекарственным препаратам, применяющимся при данных заболеваниях, технологии производства лекарств.
2. Студенты обучаются методам диагностирования заболеваний, в том числе с проведением практических занятий (что не очень характерно для обучения в РФ по специальности «Фармация» и ближе к специальности «Лечебное дело»).
3. При обучении большое внимание уделяется знакомству с клинической фармакологией, подготовке к работе с врачами и пациентами для проведения консультаций по применению лекарств при различных заболеваниях, дозировке, совместимости.
4. Большое внимание уделяется анализу лекарств, контролю качества. Студенты выполняют большой объем лабораторных работ, связанных с анализом лекарств. Изучаются методы анализа, применение их в фармацевтической практике и в разработке лекарств.
5. Почти не изучается фармацевтическая экономика.
6. Во всех курсах отсутствуют такие дисциплины, как биология, химия, математика, физика, при этом в программах обучения в РФ данные дисциплины присутствуют и знакомят студентов с более сложными разделами данных предметов, подготавливая к решению более сложных задач как в учебе, так и в работе.

В заключение можно отметить, что различия в обучении фармацевтических специалистов, очевидно, связаны с различиями в их работе. Для образования в Великобритании характерна подготовка специалистов, которые частично выполняют функции врачей (например, подбор доз, консультации по лечению), могут работать в аптеках, на производствах или в исследовательских центрах. Для фармацевтического образования в РФ менее характерно замещение функций врачей, больше уделяется внимания химическому анализу лекарств, фармакогнозии, технологии производства лекарств в условиях аптеки и на промышленных площадках, а также экономике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л.А. Гравченко, Л.Н. Геллер. История фармации: учебно-методическое пособие. – Иркутск: ИГМУ, 2014.
2. Факультеты. Сеченовский университет. URL: <https://www.sechenov.ru/univers/structure/facultie/od-iftm/> (дата обращения 15.05.2018).
3. Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета. URL: <http://www.pmedpharm.ru/> (дата обращения 15.05.2018).
4. Сибирский государственный медицинский университет. Направления подготовки. URL: http://www.ssmu.ru/ru/obrazovanie/napravleniya_podgotovki/visshee_obr/fakulteti/pharm/ (дата обращения 15.05.2018).
5. КГМУ. URL: <http://www.kurskmed.com/structure/r-737.html> (дата обращения 15.05.2018).
6. Фармацевтический факультет. Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет. URL: http://www.spcpa.ru/education/faculty_of_pharmacy/ (дата обращения 15.05.2018).
7. Новосибирский государственный медицинский университет. URL: <http://www.ngmu.ru/faculties#farm> (дата обращения 15.05.2018).
8. Специальность «Фармация». Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. URL: <http://www.fbm.msu.ru/education/speciality/pharm/> (дата обращения 15.05.2018).
9. Фармация. Российский университет дружбы народов. URL: http://www.rudn.ru/ab/spets_pharmacy (дата обращения 15.05.2018).
10. University of BATH. URL: <http://www.bath.ac.uk/study/ug/prospectus/subject/pharmacy/detail/> (дата обращения 15.05.2018).
11. Undergraduate study 2018. University of BATH. URL: <http://www.bath.ac.uk/courses/undergraduate-2018/pharmacy-and-pharmacology/bsc-pharmacology/> (дата обращения 15.05.2018).
12. Taught postgraduate study. University of BATH. URL: <http://www.bath.ac.uk/courses/undergraduate-2018/pharmacy-and-pharmacology/mpharmacol-pharmacology-including-placement-year/> (дата обращения 15.05.2018).
13. Taught postgraduate study. University of BATH. URL: <http://www.bath.ac.uk/courses/undergraduate-2018/pharmacy-and-pharmacology/mpharm-pharmacy/> (дата обращения 15.05.2018).

УДК 615.2; 543.23; 311.214

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КИНЕТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ РАСТВОРЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ СУБСТАНЦИИ ТОПИРАМАТ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДИФРАКЦИИ СВЕТА

Е.В. Успенская^{1*}, А.А. Кешишян¹, М.В. Никифорова¹, Т.В. Плетенева¹,
А.В. Сыроешкин¹

Резюме. Растворимость – важнейший показатель качества, отражающий физико-химические свойства активных фармацевтических ингредиентов (АФИ). Предшествующая высвобождению АФИ, растворимость является одним из ключевых факторов, влияющих на эффективность и безопасность лекарственного средства. Поэтому направленная разработка новых лекарственных препаратов с заранее заданными свойствами (*drug design*) должна основываться в том числе на данных о растворимости веществ-кандидатов и учитываться при оценке биоэквивалентности дженериковых препаратов брендовым, в том числе при выявлении корреляции *in vitro* – *in vivo*. С учетом того, что фармакопейное регламентирование проведения теста на растворимость АФИ сводится к визуальной оценке и приблизительной растворимости, нами разработана методика кинетической оценки растворения методом лазерной дифракции и проведена статистическая обработка полученных результатов в условиях повторяемости.

Ключевые слова: кинетика растворения, фармацевтическая растворимость, лазерная дифракция, валидация методики.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD OF KINETIC EVALUATION OF MEDICAL SUBSTANCE TOPIRAMAT DISSOLUTION BY LASER DIFFRACTION OF LIGHT METHOD

E.V. Uspenskaya^{1*}, A.A. Keshishian¹, M.V. Nikiforova¹, T.V. Pletneva¹, A.V. Syroeshkin¹

Abstract. Solubility is the most important quality indicator, reflecting the physicochemical properties of active pharmaceutical ingredients (APIs). Prior to the release of API, solubility is one of the key factors affecting the efficacy and safety of drugs. Therefore, the directed development of new drugs with predetermined properties (*drug design*) should be based on solubility of candidate substances and be taken into account when evaluating the bioequivalence of generic drugs branded, including *in vitro* – *in vivo* correlation. Given that the pharmacopeia regulation of the test for the solubility of API is reduced to a visual estimate and approximate solubility, we developed a kinetic dissolution evaluation method by laser diffraction and performed statistical analysis of the results obtained under repeatability conditions.

Keywords: kinetics of dissolution, pharmaceutical solubility, laser diffraction, method validation.

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», медицинский институт, 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8

1 – People Friendship University of Russia, 8, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117556, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: uspenskaya75@mail.ru

Тел.: 8 (495) 434 70 01 (доб. 1926)

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что проявление фармакологического эффекта во многих случаях обусловлено сродством АФИ к клеточным рецепторам, что является важнейшим параметром для отбора лекарственных веществ-кандидатов [1]. Однако другие факторы, такие как растворимость, распределение в несмешивающихся фазах, абсорбционные свойства, характеристики активного и пассивного транспорта *in vivo*, не менее значимы для процессов [2]. Современные исследования включают метод моделирования свойств БАВ – ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism,

Excretion, Toxicity), позволяющий из всего многообразия выделить только те вещества, которые обладают необходимыми физико-химическими и фармакологическими характеристиками [3]. Биодоступность перорально вводимых лекарственных средств зависит от их способности абсорбироваться через желудочно-кишечный тракт. Например, для лекарственных препаратов (ЛП), относящихся к классу II биофармацевтической классификационной системы, процесс абсорбции ограничивается скоростью растворения лекарственного средства в среде желудка [4]. Поэтому повышение скорости растворения таких

препаратов будет способствовать увеличению их биодоступности [5].

К сожалению, данные аспекты берутся во внимание лишь на заключительных стадиях поиска и разработки препаратов. Следствием этого является то, что отобранные кандидаты с наилучшими параметрами сродства к рецепторам при тестировании *in vitro* иногда проявляют широкий спектр нежелательных свойств: низкую растворимость в воде, низкую диффузию через мембраны и др. [6]. Около 75% БАВ не проходят стадию доклинических испытаний (рисунок 1).

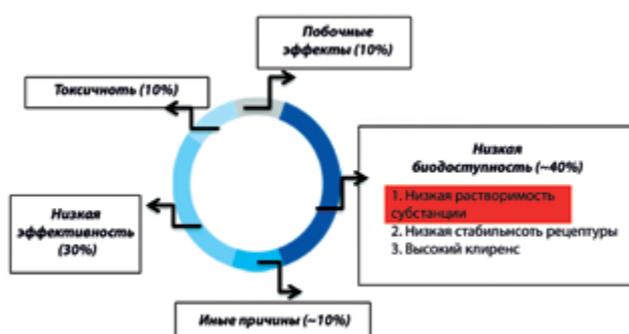


Рисунок 1. Селекция лекарств-кандидатов на стадии доклинических испытаний

Известно, что фармакопейное регламентирование проведения теста «Растворение» АФИ заключается в визуальной оценке растворимости АФИ и вспомогательных веществ (ВВ) при фиксированной температуре [7, 8]: к навеске растертого в тонкий порошок вещества прибавляют отмеренное количество растворителя и непрерывно встряхивают в течение 10 мин при температуре 20 ± 2 °С. Наблюдение производят после охлаждения раствора до комнатной температуры и энергичного встряхивания в течение 1–2 мин: ЛС считается растворившимся, если при наблюдении в проходящем через пробирку с раствором свете не обнаруживаются его частицы. В итоге обозначения и термины растворимости фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ – описательные, а их значения – приближенные. Например, для малорастворимых веществ навеской 1 г регламентирован объем растворителя 100–1000 мл [9].

Для исследования кинетики растворения АФИ нами применен метод лазерной дифракции на основании регистрации индикатрисы рассеяния, возникающей при взаимодействии электромагнитного излучения с частицами дисперсной фазы и меняющей угловое распределение интенсивности рассеяния по мере уменьшения дисперсности образца (*Low-angle laser light scattering*, LALLS) [10]. Метод LALLS является фармакопейным и предназначен для контроля качества АФИ, вспомогательных веществ и готовых лекарственных средств по показателю «размер частиц и их распределение» [9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Для исследования кинетики растворения в воде был использован образец субстанции-порошка топирамата (*topiramatum*) («Ксиан Бодигард Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай, серия 140052016, годен до 09.2018), предназначенный для изготовления нестерильных лекарственных форм. Топирамат – противоэпилептическое лекарственное средство, сульфаматное производное фруктопиранозы (рисунок 2).

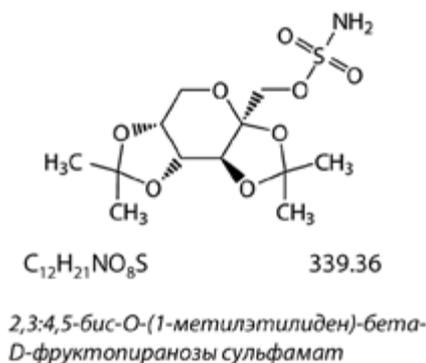


Рисунок 2. Структурная формула топирамата

Топирамат – белый или почти белый кристаллический порошок, легко растворим в метиленхлориде, спирте этиловом 95%, ДМСО и мало растворим в воде; проявляет противосудорожное, нейропротективное, психотропное, нормотимическое действие [11, 12]. Качество субстанции-порошка соответствует требованиям НД 42-14280-06.

Растворитель

Бидистиллированная деионизированная высокоомная вода (удельное электрическое сопротивление – 18 МОм·см при $T=25$ °С) природного изотопного состава, полученная путем очистки пирогенной дистиллированной воды на установке Milli-Q (Millipore, Великобритания), концентрация $^1H_2^{16}O$ – 99,74 мол. % ($D/H=141,0 \pm 0,9$ ppm).

Метод лазерной дифракции света

Кинетику растворения АФИ в воде исследовали методом LALLS с использованием лазерного малоуглового измерителя дисперсности MasterSizer 3600 E (Malvern, Великобритания). Методика исследования кинетики растворения АФИ на основании анализа изменения интегрального параметра дисперсности образца *laser obscuration* во времени LALLS-методом разработана сотрудниками кафедры фармацевтической и токсикологической химии медицинского института РУДН [13, 14]. Метод основан на измерении интенсив-

ности углового рассеяния плоской монохроматической электромагнитной волны (индикатрисы рассеяния) на частицах аэрозоля или взвеси, изменяющейся в зависимости от отношения $\rho d/\lambda$, где λ – длина волны электромагнитного излучения, d – размер частицы.

Методика кинетической оценки растворения

Навеску топирамата для исследования растворения во времени подбирали исходя из фармакопейной растворимости: для малорастворимых субстанций массой 1 г необходим объем растворителя от 100 до 1000 мл. Для измерений в емкостной кювете объемом 3 мл были взяты точные навески АФИ $m=0,0150$ г. Навеску порошка субстанции помещали в кювету с магнитной мешалкой измерительного блока ParticleSizer 3600 E (Malvern, Великобритания) и добавляли объем растворителя 3 мл, отмеренный с помощью автоматической пипетки емкостью 500–5000 мкл. [Оценка гранулометрии методом оптической микроскопии проведена в предыдущей работе, опубликованной в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», № 1(18), февраль 2017.] За начало измерения принимали момент добавления воды в кювету; измерения продолжали с интервалом в 10–20 с до полного растворения порошка субстанции. Момент окончания измерения фиксировался нами по прекращению изменения во времени величины измеряемого параметра «лазерное затемнение» (*laser obscuration*), который характеризует потерю интенсивности света при введении дисперсного образца в измерительную ячейку в результате процессов отражения, поглощения, дифракции. Математически лазерное затемнение выражается формулой:

$$Obscuration = 1 - \frac{I}{I_0} \cdot 100\%, \tag{1}$$

где I – интенсивность света, измеренная детектором в присутствии образца в ячейке, I_0 – интенсивность света, измеренная детектором при отсутствии образца.

Предварительно производили измерение лазерного затемнения фона, в качестве которого служила среда растворения (вода MiliQ). Температура, при которой проводили измерения, $T=21\pm 1$ °C.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кинетика растворения

Обнаружена экспоненциальная зависимость величины лазерного затемнения от процесса растворения порошка субстанции в воде (рисунок 3).

Кинетика растворения типирамата в воде представляет собой двухстадийный процесс: резкое умень-

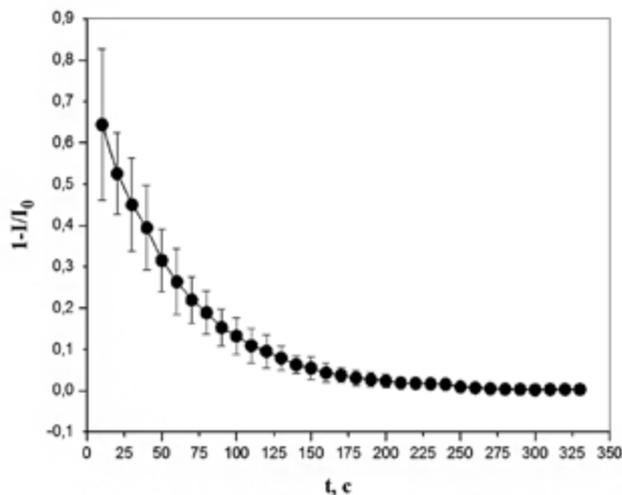


Рисунок 3. Кинетика растворения топирамата в воде (n=5, P=0,95)

шение регистрируемого параметра при растворении порошка испытуемой субстанции от начала растворения (первая стадия) сменяется постепенным снижением величины *laser obscuration* до выхода на плато (вторая стадия), что фиксировалось нами как полное растворение субстанции (рисунок 3). Первая стадия является скоростью-определяющей.

Если считать, что изменением концентрации одного из реагентов – растворителя в процессе растворения можно пренебречь, тогда общий порядок кинетического уравнения равен единице, а реакция, протекающая в таких условиях, – псевдопервого порядка [15]:

$$V = - \frac{dC}{dt} = kC. \tag{2}$$

Интегрируя выражение в пределах $C=C_0$ при $t=0$:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{C_0}{C}, \tag{3}$$

$$C = C_0 e^{-kt}. \tag{4}$$

Уравнение (4) доказывает экспоненциальное уменьшение во времени концентрации одного из реагентов, а применительно к методике, основанной на методе лазерной дифракции света, – уменьшение *лазерного затемнения*, зависящего от дисперсности среды. Уравнение (4) можно линеаризовать, прологарифмировав обе части:

$$\ln C = \ln C_0 - kt, \tag{5}$$

и использовать для количественной оценки растворимости топирамата, представив результаты экспоненциальных кривых в координатах:

$$x = \ln(1 - I/I_0), y = t. \tag{6}$$

Получено уравнение вида:

$$y = a + bx. \quad (7)$$

Константу скорости реакции определяем по коэффициенту b уравнения прямой как тангенс угла наклона к оси абсцисс (рисунок 4, таблица 1):

$$k = -\operatorname{tg} \alpha, \quad (8)$$

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{-d(\text{laser obscuration})}{dt}.$$

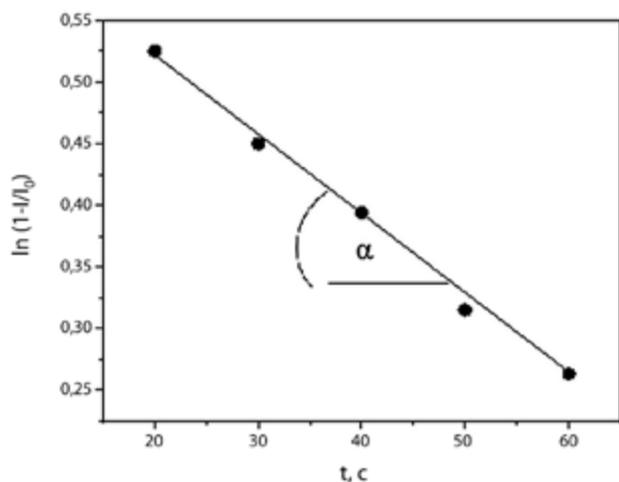


Рисунок 4. Кинетика растворения топирамата в воде в полулогарифмических шкалах ($n=5, P=0,95$)

Таблица 1.

Константа скорости растворения топирамата в воде

Номер серии 140052016	$(\bar{k} \pm SD), \text{c}^{-1}$ $(1,70 \pm 0,088) \cdot 10^{-2}$
--------------------------	---

Валидация методики

Нами проведена следующая последовательность обработки результатов прямых измерений в условиях повторяемости (таблица 2) [16].

Таблица 2.

Аналитические характеристики метода

Метрологический параметр	Формула для расчета
Среднее значение определяемой величины, \bar{x}	$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + \dots}{n}$
Стандартное отклонение, S	$S = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + \dots}{n-1}}$
Полуширина доверительного интервала	$\Delta \bar{x} = \frac{t_{pr} \cdot S}{\sqrt{n}}$
Относительная (процентная) ошибка среднего результата, $\bar{\varepsilon}$	$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\%$

Повторяемость методики определяли в условиях, при которых пять независимых результатов измерений получали одним методом, в одной лаборатории, одним лаборантом-исследователем, с использованием одного лазерного измерителя дисперсности, в пределах короткого промежутка времени (таблица 3).

Таблица 3.

Результаты оценки повторяемости методики (при $n=5, f=4$)

$\bar{k} \cdot 10^2, \text{c}^{-1}$	$SD \cdot 10^2$	$P, \%$	$t_{p,f}$	$\Delta \bar{k} \cdot 10^2, \text{c}^{-1}$	$(\bar{k} \pm \Delta \bar{k}) \cdot 10^2, \text{c}^{-1}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
1,70	0,088	95	2,78	0,11	$1,70 \pm 0,11$	6,3

Статистическая обработка показала достоверность полученных результатов при доверительной вероятности 95%: вычисленные значения величины стандартного отклонения $SD (0,088 \cdot 10^{-2})$ и относительного доверительного интервала среднего значения $(0,11 \cdot 10^{-2})$ показали относительную ошибку среднего при вычислении константы скорости растворения методом лазерной дифракции света 6%, что доказывает прецизионность разработанной методики в условиях повторяемости с применением физико-химического метода анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты исследования кинетики растворения лекарственных субстанций в воде с применением фармакопейного метода лазерной дифракции показали значительные его преимущества в оценке качества АФИ в сравнении с фармакопейным тестом «Растворимость»: метод даёт возможность объективной оценки растворимости АФИ на основании изменения интегральных характеристик дисперсности во времени и позволяет осуществить количественную оценку растворимости с расчётом константы скорости $k (\text{c}^{-1})$. Возможность получения количественных характеристик растворения и проведение валидации делает данную методику пригодной для контроля качества, стандартизации ЛС и позволит использовать её в дополнение к уже существующему фармакопейному тесту «Растворимость».

ЛИТЕРАТУРА

- C.J. Craven. A model to explain specific cellular communications and cellular harmony: a hypothesis of coupled cells and interactive coupling molecules // Theor Biol Med Model. 2014. V. 11. P. 40-47. doi: 10.1186/1742-4682-11-40.
- О.Д. Казанчева, А.С. Герасименко. Методология поиска новых биологически активных фармакологических веществ с рецепторной активностью // International journal of applied and fundamental research. 2016. № 8. P. 522–525.
- E.J. Miller, E. Jecs, V.M. Truax, B.M. Katzman, Y.A. Tahirovic, R.J. Wilson, K.M. Kuo, M.B. Kim, H.H. Nguyen, M.T. Saindane, H. Zhao, T. Wang, C.S. Sum, M.E. Cvijic, G.M. Schroeder, L.J. Wilson, D.C. Liotta. Discovery of Tetrahydroisoquinoline-Containing CXCR4 Antagonists with Improved *in Vitro* ADMET Proper-

- ties // J Med Chem. 2018. V. 61. №(3). P. 946–979. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01420.
4. Е.Р. Бригас, Е.В. Успенская, В.В. Писарев. Изучение сравнительной кинетики растворения антигипертензивных лекарственных средств II класса биофармацевтической классификационной системы в соответствии с процедурой «биовервер» // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 4(17). С. 152–158.
 5. S.V. Dorozhkin. Dissolution mechanism of calcium apatites in acids: A review of literature // World J Methodol. 2012. V. 2(1). P. 1–17.
 6. G.L. Perlovich, T.V. Volkova, A.N. Manin, A. Bauer-Brandl. Influence of Position and Size of Substituents on the Mechanism of Partitioning: A Thermodynamic Study on Acetaminophens, Hydroxybenzoic Acids, and Parabens // AAPS PharmSciTech. 2008. V. 1. P. 205–216.
 7. Е.В. Анфимова, Е.В. Успенская, Т.В. Плетенева, А.В. Сыроешкин. Исследование кинетики растворимости лекарственных субстанций методом лазерной дифракции в водных растворах с различным изотопным составом по водороду // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 1(18). С. 150–155.
 8. S. Huang, C. Mao, R.O. Williams, C.Y. Yang. Solubility Advantage (and Disadvantage) of Pharmaceutical Amorphous Solid Dispersions // J Pharm Sci. 2016. V. 105. № 12. P. 3549–3561. doi: 10.1016/j.xphs.2016.08.017.
 9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. / МЗ РФ. – М. 2015. 1470 с.
 10. H.N. Chapman, C. Caleman. Diffraction before destruction // B Biol Sci. 2014. № 17. P. 369–1647.
 11. V. Prince, K.C. Bowling. Topiramate in the treatment of cocaine use disorder // Am J Health Syst Pharm. 2018. V. 75. № 1. P. 13–22. doi: 10.2146/ajhp160542.
 12. E. Bruno, A. Nicoletti, G. Quattrocchi, R. Allegra, G. Filippini, C. Colosimo, M. Zappia. Topiramate for essential tremor // Cochrane Database Syst Rev. 2017. V. 4. doi: 10.1002/14651858.CD009683.pub2.
 13. Н. Уварова, У Борисова. Исследование растворимости субстанции бендазола гидрохлорида методом лазерной дифракции // НПЖ «Фармация». Сборник материалов V Юбилейной Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего – СПб.: СПХФА, 2015. С. 510–513.
 14. U. Borisova, N. Uvarova. Study of solubility kinetics for pharmaceutical substances by laser diffraction method // VI International Scientific Conference «SCIENCE4HEALTH 2015». Materials of the conference: PFUR, Moscow. С. 32–33.
 15. S. Zhao, G. Huang, S. Mu, C. An, X. Chen. Immobilization of phenanthrene onto gemini surfactant modified sepiolite at solid/aqueous interface: Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies // Science of the Total Environment. 2017. V. 598. P. 619–627.
 16. R.M. Khusainova, Z.V. Shilova. Selection of Appropriate Statistical Methods for Research Results Processing // Mathematics Education. 2016. V. 11. № 1. P. 303–315.



MultiCheck 6

ПЕРЕДОВЫЕ ТЕСТЕРЫ ПРОЧНОСТИ ТАБЛЕТОК



EasyCheck

ЛУЧШИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА "РАСТВОРЕНИЕ" ПО МЕТОДАМ **USP 1, 2, 5, 6** НА БАЗЕ SOTAX



Ручная система растворения AT

- Простой ручной отбор образцов с использованием стеклянной пипетки.
- Стационарный автоматический пробоотборник
- Отдельно стоящий модуль отбора проб с направляющими для пипеток.
- Стационарный или ручные канюли
- Автоматический отбор проб с помощью уникальной технологии HollowShaft™ через полый вал мешалки



Полуавтоматическая версия (один инструмент)

- Оффлайн конфигурация с коллектором фракций
- UV-Vis Online конфигурация системы со спектрофотометром
- UV-Vis On/Offline системы
- HPLC Online системы с интеграцией хроматографа в систему растворения
- HPLC On/Offline системы с интеграцией хроматографа и коллектором фракций для сбора и хранения образцов



Двойная полуавтоматическая версия (два тестера растворения)

- Double Offline конфигурация двойной системы растворения с коллектором фракций
- Double UV-Vis Online конфигурация двойной системы со спектрофотометром
- Double UV-Vis On/Offline системы



Полностью автоматическая система растворения

- Offline конфигурация с коллектором образцов
- UV-Vis Online конфигурация с подключением к спектрофотометру и получением результатов в режиме реального времени
- UV-Vis On/Offline конфигурация с подключением к спектрофотометру и коллектору фракций



Полуавтоматическая система CE7

Проведение испытаний на растворение по методу «проточная ячейка» (USP 4)

- Возможность работы с объемами среды растворения от 15 до 4000 мл
- Возможность автоматической смены среды для изменения pH в ходе испытания
- Различные типы ячеек для таблеток, капсул, порошков, гранул, имплантов и суппозиторий

УДК 543.544

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ 5-МЕТИЛ-6-НИТРО-7-ОКСО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[1,5-*a*]ПИРИМИДИНИДА *l*-АРГИНИНИЯ МОНОГИДРАТА – ДЕЙСТВУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «ТРИАЗИД» – МЕТОДОМ ВЭЖХ

А.В. Баклыков¹, А.А. Тумашов^{1,2}, С.К. Котовская^{1,2}, Е.Н. Уломский^{1,2},
Г.Л. Русинов^{1,2}, В.Л. Русинов^{1,2}, Г.А. Артемьев¹, Д.С. Копчук^{1,2*},
В.Н. Чарушин^{1,2}

Резюме. Разработана методика количественного определения 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинида *l*-аргининия методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. Для достижения наилучших хроматографических характеристик предложено использовать колонку с привитой обращенной октадецилсилановой фазой 100-5-с18 (ЕКА, Швеция). Возможность применения разработанной методики для осуществления контроля готовой субстанции препарата «Триазид» установлена по итогам проведения валидации.

Ключевые слова: 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид *l*-аргининия, «Триазид», ВЭЖХ, валидация.

METHOD OF DETERMINATION OF 5-METHYL-6-NITRO-7-OXO-1,2,4-TRIAZOLO[1,5-*a*]PIRIMIDINIDE *l*-ARGININY – THE ACTIVE COMPONENT OF DRUG «TRIAZID» BY HPLC METHOD

A.V. Baklykov¹, A.A. Tumashov^{1,2}, S.K. Kotovskaya^{1,2}, E.N. Ulomsky^{1,2}, G.L. Rusinov^{1,2}, V.L. Rusinov^{1,2}, G.A. Artem'ev¹, D.S. Kopychuk^{1,2*}, V.N. Charushin^{1,2}

Abstract. A procedure for quantitative determination of 5-methyl-6-nitro-7-oxo-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidinide *l*-argininy was developed using the HPLC method with UV detection. To achieve the best chromatographic characteristics, it is proposed to use a column with a grafted octadecylsilyl phase 5-100-с18 (EKA, Sweden). The possibility of applying the developed procedure for the technological control of the third stage of the drug «Triazid» preparation was proved by the validation.

Keywords: 5-methyl-6-nitro-7-oxo-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidinide *l*-argininy, triazide, HPLC, validation.

1 – Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, 620990, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Ковалевской/Академическая, д. 22/20

2 – ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

1 – I.Ya. Postovsky Institute of organic synthesis UB of RAS, 22/20, S. Kovalevskoy/Akademicheskaya str., Yekaterinburg, 620990, Russia

2 – Ural Federal University named after the first president of Russia B.N. Yeltsin, 19, Mira str., Yekaterinburg, 620002, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: dkopchuk@mail.ru

Тел.: 8 (982) 643 07 77

ВВЕДЕНИЕ

Острые респираторные вирусные инфекции, в частности грипп, в настоящее время занимают ведущее место в этиологической структуре общей заболеваемости населения. С учетом современной эпидемической ситуации, характеризующейся одновременной циркуляцией двух типов вируса гриппа А и В, а также появлением новых эпидемических вариантов вируса гриппа, важное значение приобретает поиск новых противовирусных препаратов [1, 2].

К настоящему времени в результате совместных исследований Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, НИИ гриппа Минздрава России и ПАО «Отисифарм» разработан оригинальный противовирусный препарат «Триазид» (5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинида *l*-аргининия, моногидрат **1**), для которого в настоящее время проводятся клинические испытания [3]. Следует отметить, что при создании лекарственного средства важной со-

ставляющей, наряду с эффективностью и безопасностью, является технологичность его производства [4].

Процесс получения препарата «Триазид» включает три химические стадии, которые представлены на схеме 1.

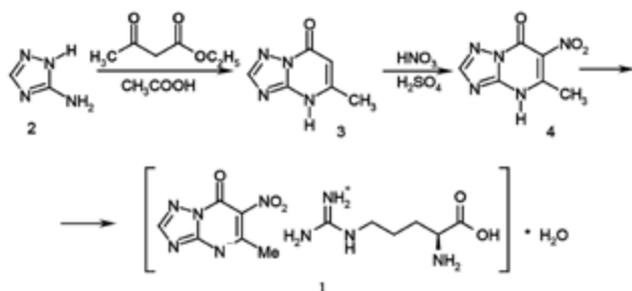


Схема 1

При организации производства любого лекарственного препарата, а также наработке его опытных партий для различных целей очевидной является необходимость аналитического контроля качества как собственно продукта, так и полупродуктов его синтеза. Ранее нами были предложены методики совместного определения методом ВЭЖХ аминотриазола (2) и триазолопиримидинона (3) (аналитический контроль первой стадии производства) [5], а также совместного определения аминотриазола (2), триазолопиримидинона (3) и нитротриазолопиримидинона (4) (аналитический контроль второй стадии производства) [6]. В продолжение этих работ нами выполнены разработка и валидация аналитической методики определения 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидина *l*-аргининия моногидрата (1) методом ВЭЖХ, т.е. обеспечена возможность контроля качества продукта 1, получаемого в рамках последней стадии синтеза субстанции препарата «Триазид». Целесообразность проведения полной оценки метрологических характеристик обусловлена дальнейшим применением разработанной методики при осуществлении контроля опытно-промышленного и промышленного производства препарата «Триазид».

Поскольку данный противовирусный препарат является новым, то очевидно, что в литературе ранее не было описано ни одного метода его количественного определения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали жидкостной хроматограф Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с диодно-матричным детектором и автосамплером, снабженный колонкой с привитой обращенной октадецилсилановой фазой 100-5-с18 (ЕКА, Швеция) длиной 250 мм, внутренним диаметром – 4,6 мм, размер частиц сор-



Жидкостный хроматограф Agilent Technologies Infinity II 1290

бента – 5 мкм. Температура колонки – 25 °С. Режим элюирования – изократический. Скорость потока – 0,9 мл/мин. Детектирование осуществляли при 360 нм. Объем вводимой пробы – 30 мкл.

В качестве элюента использовали ацетонитрил (HPLC-grade, Sigma-Aldrich, кат. № i10001, США) и буферный раствор 0,04 М *L*-аргинина ацетата в соотношении 8:92. *L*-аргинина ацетат был синтезирован по описанной методике [7].

Субстанция препарата «Триазид» была синтезирована в Уральском федеральном университете им. первого Президента России Б.Н. Ельцина. Образцы готового препарата и полупродуктов были получены в технологической лаборатории Института органического синтеза им. И.Я. Пастовского УрО РАН.

Приготовление буферного раствора. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 9,36 г *L*-аргинина ацетата, добавляют 700 мл воды для ВЭЖХ и перемешивают полученную смесь до полного растворения. Доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

Приготовление подвижной фазы. 920 мл буферного раствора помещают в мерную колбу вместимостью

1000 мл, доводят объём раствора ацетонитрилом до метки и перемешивают. Полученный раствор перед применением фильтруют через тefлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм на установке для фильтрации и дегазации растворителей, оснащённой мембранным вакуумным насосом, и дегазируют.

Испытуемый раствор и раствор СО субстанции. Навеску 25 мг препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 20 мл подвижной фазы, перемешивают в ультразвуковой бане в течение 1 мин, охлаждают до комнатной температуры, доводят подвижной фазой до метки и перемешивают.

Все используемые субстанции растворяют в элюенте.

Количественное определение. Хроматографируют приготовленные раствор СО субстанции препарата «Триазид» и испытуемый раствор. Содержание $C_{12}H_{19}N_9O_5 \cdot H_2O$ в пересчете на безводное вещество в субстанции в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times a_0 \times 25 \times P \times 100}{S_0 \times a_1 \times 25 \times (100 - W)} = \frac{S_1 \times a_0 \times P \times 100}{S_0 \times a_1 \times (100 - W)},$$

где S_1 – среднее значение площади пика триазида на хроматограмме испытуемого раствора; S_0 – среднее значение площади пика триазида на хроматограмме раствора СО субстанции препарата «Триазид»; a_0 – навеска СО субстанции препарата «Триазид», г; a_1 – навеска субстанции, г; P – содержание основного вещества в СО субстанции препарата «Триазид», %; W – потеря в массе при высушивании.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Триазид – производное 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидина и аминокислоты L-аргинина – является соединением с ионной химической связью (рисунок 1).

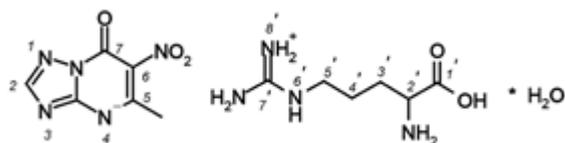


Рисунок 1. Структура триазида

Известно, что аргинин является сильноосновным соединением со значением pK_a 12,48, тогда как нитротриазолопиримидин представляет собой NH-кислоту средней силы (pK_a около 2,8). Для *Триазида* значение pK_a составило 9,8 (определение значений pK_a было выполнено согласно [8]).

В соответствии со схемой синтеза препарата «Триазид» (схема 2) наиболее очевидными примесями конечного продукта являются 3-амино-1,2,4-триазол

(2), 5-метил-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-он (3) и 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-он (4). Также возможной является примесь 5-метил-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидината $8H^+$ -аргининия (5) в результате получения соли с L-аргинином на основе 5-метил-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-она (3) (схема 3).

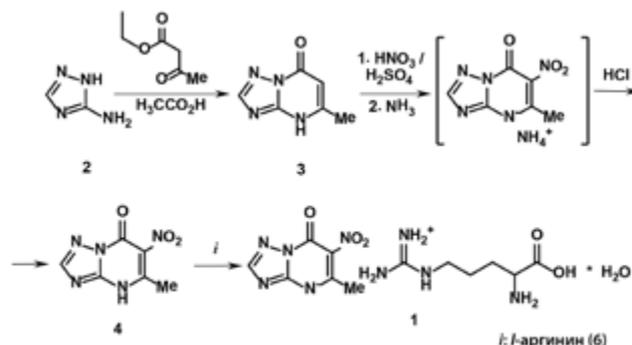


Схема 2

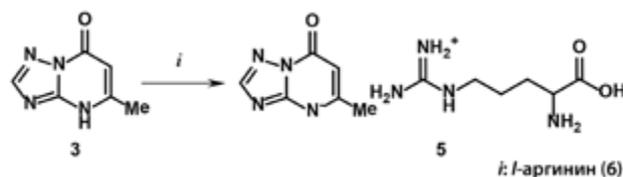


Схема 3

Выполненные хроматографические исследования всех ранее синтезированных партий препарата «Триазид» не выявили ни в одном случае присутствия примеси 3-амино-1,2,4-триазола (2) на уровне предела обнаружения, поэтому он исключается из дальнейшего рассмотрения в качестве возможной примеси.

Что касается 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-она (4), то рассматривать его в качестве примеси в препарате «Триазид», на наш взгляд, также представляется нецелесообразным. Это соединение в водных растворах находится в равновесном состоянии с *триазидом*, и его количество будет зависеть от pH среды.

В процессе поиска и оптимизации условий проведения методики ВЭЖХ-анализа в качестве буферных растворов были опробованы ацетат аммония и ацетат аргинина. При использовании ацетата аммония существует возможность появления других примесей в результате ионообмена между молекулами буфера и *триазида* (1), в результате чего может иметь место образование солей: ацетата аргинина (7), 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидината аммония (8) и 5-метил-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидината аммония (9) (схемы 4 и 5). По итогам

анализов нами было установлено наличие ацетата аргинина (7). Таким образом, для предотвращения ионообменных процессов и появления в результате этого дополнительных примесей при хроматографировании было решено заменить 0,05 М буферный раствор ацетата аммония в подвижной фазе на 0,04 М раствор ацетата аргинина. При использовании ацетата аргинина в качестве буферного раствора в подвижной фазе не были зарегистрированы пики, соответствующие нежелательным примесям соединений 7-9.

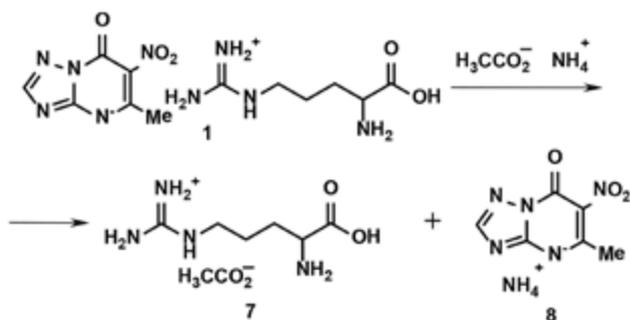


Схема 4

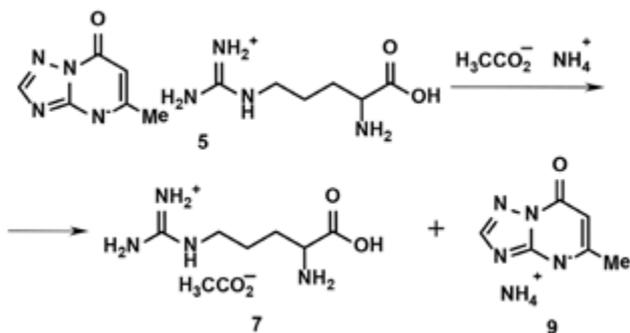


Схема 5

Для оптимизации условий проведения ВЭЖХ-анализа нами также варьировался такой параметр, как длина волны детектирования. Первоначально детектирование проводилось с использованием значения 220 нм. В этом случае при регистрации хроматограмм достигается высокая интенсивность пика, соответствующего *триаиду*, для которого характерно высокое поглощение при данной длине волны. Однако ацетат аргинина и ацетат аммония также имеют достаточно интенсивное поглощение в этой области, в связи с чем было решено использовать более длинноволновую область УФ-спектра (рисунок 2).

Процедуру валидации разработанной методики осуществляли по следующим параметрам: линейность, правильность, специфичность, сходимость и внутрилабораторная прецизионность [9].

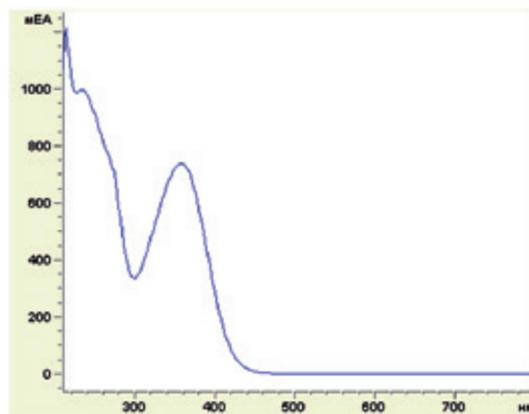


Рисунок 2. Спектр поглощения 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид *l*-аргининия моногидрата (1) в используемом элюенте

Аналитическая область методики – от 80 до 120% по содержанию 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид *l*-аргининия моногидрата (1) в субстанции.

Специфичность представляет собой способность достоверно определять анализируемое вещество в присутствии других компонентов и возможных примесей. Для подтверждения специфичности методики получены хроматограммы следующих растворов: 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид *l*-аргининия моногидрата (1) (основного вещества) (рисунок 3) и матрицы (рисунок 4). Время удерживания пика основного вещества (1) составило около 8,5 мин. На хроматограмме матрицы отсутствуют пики, препятствующие определению основного вещества, что свидетельствует о возможности применения данной методики для определения 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид *l*-аргининия моногидрата (1).

Линейность методики характеризуется наличием линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики.

Для оценки линейности использовали стандартные растворы 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид *l*-аргининия моногидрата (1) с номинальными концентрациями от 0,8 до 1,2 мг/мл. Установлено, что графики зависимости имеют линейный характер в исследуемом диапазоне концентраций и описываются уравнением $y=4260,8x-57,5$ (рисунок 5, таблица 1), коэффициент корреляции при этом близок к единице – 0,99998.

Правильность характеризует близость результатов, получаемых с помощью данной методики, к истинному значению. Правильность методики устанавлива-

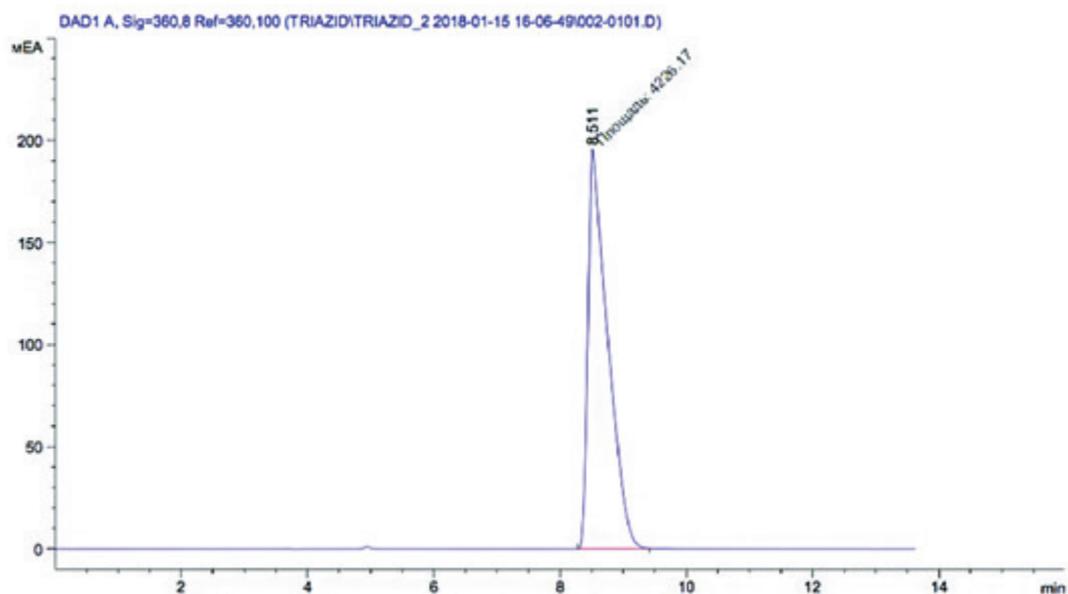


Рисунок 3. Хроматограмма 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинида *l*-аргининия моногидрата (1), 360 нм

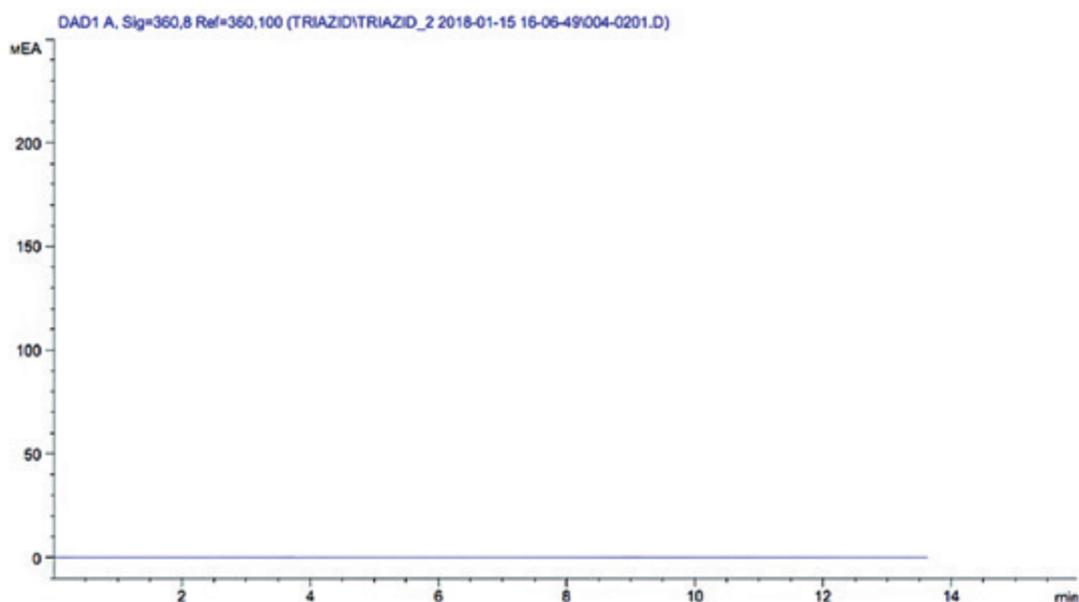


Рисунок 4. Хроматограмма матрицы анализируемого вещества, 360 нм

ли по результатам анализа методом добавок (таблица 2). Для полученных значений концентраций были рассчитаны: процент восстановления, среднее квадратичное отклонение (СКО, %) и коэффициент вариации. Полученные величины среднее квадратичного отклонения (СКО, %) и относительного отклонения результата не превышают 3%.

Предел количественного определения данной методики по 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинида *l*-аргининия моногид-

рату (1) составил 0,45 мг/мл, а предел детектирования – 0,135 мг/мл.

Сходимость характеризует степень согласованности результатов измерений (испытаний), полученных одним и тем же методом на идентичных объектах испытаний, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Коэффициент вариации параллельных определений для 6 измерений составил менее 1,5%.

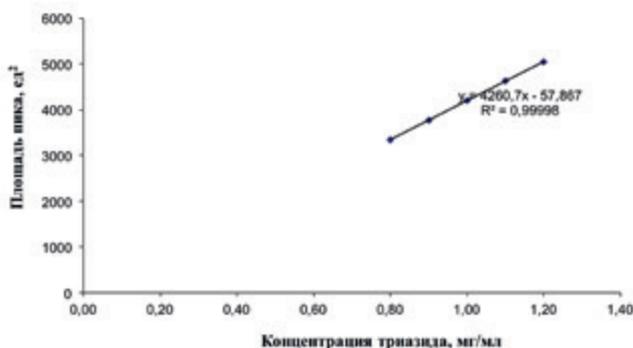


Рисунок 5. График зависимости концентрации от площади пика для 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинидна l-аргининия моногидрата (1)

Таблица 1.

Данные для определения линейности графика зависимости концентрации 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинидна l-аргининия моногидрата (1) от площади пика

Концентрация, мг/мл	Площадь пика, ед ²			Среднее значение	СКО, %
	S ₁	S ₂	S ₃		
0,80	3360	3344	3343	3349,0	0,285
0,90	3770	3777	3781	3776,0	0,147
1,00	4214	4204	4205	4207,7	0,131
1,10	4637	4627	4620	4628,0	0,185
1,20	5051	5046	5063	5053,3	0,173

Таблица 2.

Данные для оценки правильности методики

Введенное количество в образце, мг/мл	Результат, мг/мл	Процент восстановления, %	Среднее значение результатов, мг/мл	СКО, %	Коэффициент вариации
5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинидна l-аргининия моногидрат (1)					
0,9000	0,9083	100,92	0,9056	0,249	0,275
	0,9033	100,37			
	0,9052	100,58			
1,0000	1,0029	100,29	1,0025	0,213	0,212
	1,0045	100,45			
	1,0003	100,03			
1,1000	1,1087	100,79	1,1086	0,095	0,086
	1,1094	100,86			
	1,1075	100,68			

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования разработана оптимизированная методика определения 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]

пиримидинидна l-аргининия моногидрата (1) с помощью метода ВЭЖХ. Методика проста в применении, не требует больших временных затрат и дополнительных процедур дериватизации с большим расходом реагентов, обладает высокой чувствительностью и позволяет определять содержание основного вещества в субстанции от 80 до 120%.

Проведена валидация разработанной аналитической методики, по результатам которой показана возможность ее применения для контроля последней стадии технологического процесса получения опытно-промышленных и промышленных партий препарата «Триазад». Данная методика была успешно применена для анализа опытных партий препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. О.И. Киселев. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. – СПб: Росток, 2012. 272 с.
2. Г.А. Артемьев. Разработка технологии производства субстанции противовирусного препарата «Триазабирин»: дис. ... к.т.н. – Екатеринбург: УрФУ, ИОС УрО РАН, 2017. 157 с.
3. Патент № 2529487 РФ. 5-Метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинид l-аргининия моногидрат / О.Н. Чулахин, В.Н. Чарушин, В.Л. Русинов, Е.Н. Уломский, С.К. Котовская, О.И. Киселев, Э.Г. Деева, К.В. Саватеев, С.С. Борисов. – № 2013116765; заявл. 15.04.13; опубл. 27.09.14.
4. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики».
5. А.В. Баклыков, А.А. Тумашов, С.К. Котовская, Е.Н. Уломский, Г.Л. Русинов, В.Л. Русинов, О.Н. Чулахин, В.Н. Чарушин. Методика совместного определения аминотриазола и триазолопиримидинона – субстрата и полупродукта синтеза лекарственного препарата «Триазад» методом ВЭЖХ // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 2(19). С. 44–48.
6. А.В. Баклыков, А.А. Тумашов, С.К. Котовская, Е.Н. Уломский, Г.Л. Русинов, В.Л. Русинов, Д.С. Копчук, О.Н. Чулахин, В.Н. Чарушин. Методика совместного определения аминотриазола, триазолопиримидинона и нитротриазолопиримидинона – субстрата и полупродуктов синтеза лекарственного препарата «Триазад» методом ВЭЖХ // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 4(21). С. 68–72.
7. P. Gnanasekaran, J. Madhavan. Synthesis, Structural, FT-IR and Non-Linear Optical Studies of Pure and Lanthanum Doped L-Arginine Acetate Single Crystals // Asian Journal of Chemistry. 2010. V. 22. № 1. P. 109–114.
8. Л.Г. Егорова, А.Ю. Петров, В.Л. Русинов. NH-кислотность 7-оксо-4,7-дигидропиразоло- и 1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов // ХГС. 1984. № 5. С. 697–699.
9. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. I. – М.: НЦЭСМП.

УДК 542.06

К ВОПРОСУ О СИНТЕЗЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДИНА И ПИРРОЛА

С. Комесс¹, Ф. Шампеттер¹, З.М. Саркисян^{2*}, А.О. Карасавиди²,
Е.Н. Кириллова², С. Булангас²

Резюме. Проведены предварительные поисковые исследования в области синтеза производных из группы пирролопиридинов, обладающих биологической активностью. Предложен механизм реакции с использованием принципа домино-реакций. Структура полученных соединений установлена физико-химическими методами. Синтезированные бензиловый эфир 5-трет-бутил-1-бензил-2,4-диоксогексагидро-1Н-пирроло[3,2]пиридин-3а,5-(6Н)-дикарбоксилата и бензиловый эфир 5-трет-бутил-2,4-диоксо-1-фенэтилгексагидро-1Н-пирроло[3,2с]-3а,5(6Н)-дикарбоксилата выделены методом колоночной хроматографии (адсорбент – силикагель), чистота продуктов на этапах очистки контролировалась методом тонкослойной хроматографии [ТСХ, элюент – циклогексан : ацетон (3:2), сорбент на пластинках Silufol – силикагель].

Ключевые слова: пирролопиридины, синтез, домино-реакции, анализ, биологически активные соединения.

TO THE QUESTION OF SYNTHESIS AND STANDARDIZATION OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE PYRIDINE AND PYRROLE DERIVATIVES

S. Comesse¹, Ph. Champetter¹, Z.M. Sarkissyan^{2*}, A.O. Karasavidi², E.N. Kirillova², S. Bulangas²

Abstract. The pilot studies on derivative synthesis based on pyrrolo-pyridine and pyrrolo-pyrrole groups possessing pharmacological activity have been conducted. Domino reactions principle has been used during the studies. The possibility of physico-chemical methods appliance has been studied in order to standardize the obtained chemical compounds. Synthesized benzyl ether 5-tert-butyl-1-benzyl-2,4-dioxohexahydro-1H-pyrrolo[3,2]pyridine-3a,5-(6H)-dicarboxylate and benzyl ether 5-tert-butyl-2,4-dioxo-1-phenethylhexahydro-1H-pyrrolo[3,2c]-3a,5(6H)-dicarboxylate were isolated by column chromatography (adsorbent - silica gel). The purity of products were monitored by TLC (thin layer chromatography) during the purification steps, eluent cyclohexane:acetone=3:2, sorbent on Silufol silica gel plates.

Keywords: pyrrolopyridines, synthesis, pyrrolo-pyrroles, analysis, pharmacologically active compounds.

1 – Университет Гавра, 76600, Франция, Гавр, ул. Филиппа Лебона, д. 25

2 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

1 – Université du Havre, 25 rue Philippe Lebon, 76600 Le Havre, France

2 – Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Professor Popov str., Saint-Petersbourg, 197376, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: zara-sark@inbox.ru
Тел.: 8 (812) 499 39 00

ВВЕДЕНИЕ

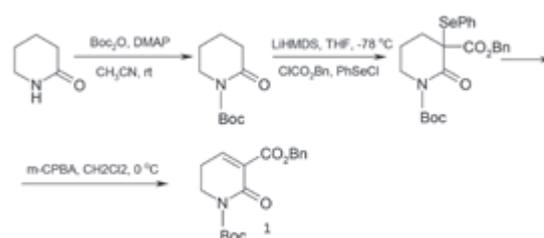
Важнейшей задачей современной фармацевтической науки является поиск новых биологически активных соединений. В настоящее время в области изыскания лекарственных средств актуальным остается как скрининг синтезированных соединений, так и направленный синтез соединений. В современном органическом синтезе всё большим успехом на пути рационализации реакций и получения целевых продуктов пользуются домино-реакции, позволяющие получить новые соединения в один этап, избежать выделения неустойчивых промежуточных продуктов и, наконец, сделать работу более экономически эффективной.

Из данных литературных источников [1, 2] известно о биологической активности ряда дикето-производных пирролопиридинов, обладающих

высокой анальгезирующей и противовирусной активностью, а также перспективных в лечении гиперпролиферативных заболеваний.

В связи с этим представлялось целесообразным провести исследования, включающие синтез отдельных бициклических производных указанного строения, при использовании акцепторов Михаэля.

Синтез исходных акцепторов Михаэля проведен по схеме [3]:

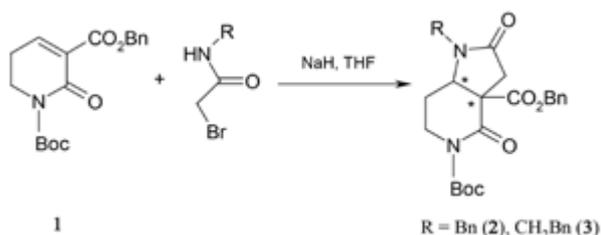


МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полученный бензиловый эфир 1-трет-бутоксикарбонил-2-карбонил-пиперидин-3-ен-3-карбоновой кислоты (**1**), акцептор Михаэля, был введен в домино-реакцию с N-бензил- α -бромацетамидом в присутствии гидрида натрия (Acros Organics, Бельгия, кат. номер 189860050, номер CAS 7646-69-7, годен до 15.05.2018), реакция проводилась в растворе тетрагидрофурана (99,9%, extra pure, безводн., стаб. с ВНТ, Acros Organics, Бельгия, кат. номер 181500025, номер CAS 109-99-9, годен до 08.04.2017). В результате методом колоночной хроматографии были выделены 3а-бензиловый эфир 5-трет-бутил-1-бензил-2,4-диоксогексагидро-1Н-пирроло[3,2]пиридин-3а,5-(6Н)-дикарбоксилата (**2**) и 3а-бензиловый эфир 5-трет-бутил-2,4-диоксо-1-фенэтилгексагидро-1Н-пирроло[3,2с]-3а,5(6Н)-дикарбоксилата (**3**) в форме одного-единственного диастереомера, о чем свидетельствуют данные их ^1H -ЯМР-спектров. Строение полученных промежуточных соединений устанавливали на основании данных ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии.

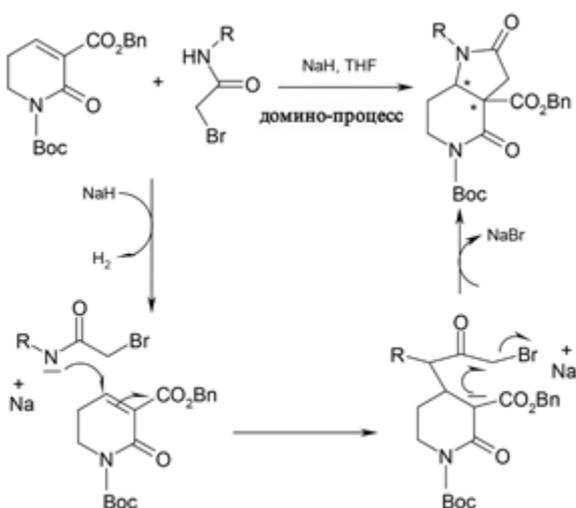
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Домино-реакция синтеза производных октагидро-1Н-пирроло[3,2-с]пиридина проведена по схеме:



Выходы продуктов бициклического бис-лактама составили 25% (**2**) и 33% (**3**) соответственно.

В качестве механизма домино-реакции может быть предложена схема:



Контроль хода реакции и чистоты полученных соединений осуществляли методом препаративной тонкослойной хроматографии на пластинках Silufol UV-254, используя восходящую хроматографию в подвижной фазе циклогексан : ацетон (3:2).

Данные ЯМР-соединений, снятых в CDCl_3 , подтверждают предполагаемые структуры полученных веществ. Обнаружены сигналы в областях ^1H -спектров для 3а-бензилового эфира 5-трет-бутил-1-бензил-2,4-диоксогексагидро-1Н-пирроло[3,2]пиридин-3а,5-(6Н)-дикарбоксилата (**2**), м.д.: 1,79 (CH₃), 1,81 (CH₂ мультиплет), 2,26 CH₂ м, 3,04-3,10 (CH₂ д), 3,37-3,48 CH₂ д, 5,00-5,25 (C₆H₅ м), 6,93 (OCH₂ т), 7,25-7,35 (C₆H₅); в спектрах ^{13}C обнаруживаются сигналы в следующих областях, м.д.: 26,94; 27,92; 37,93; 39,14; 41,08; 56,10; 59,02; 68,28; 77,08; 77,28; 77,51; 84,11; 125,96; 127,02; 128,55; 128,67; 134,75; 137,72; 151,65; 167,38; 169,39; 170,78. Сигналы в спектрах ^1H -ЯМР 3а-бензилового эфира 5-трет-бутил-2,4-диоксо-1-фенэтилгексагидро-1Н-пирроло[3,2с]-3а,5(6Н)-дикарбоксилата соответственно обнаружены в областях, м.д.: 1,70 (CH₃), 1,71-1,76 (CH₃ м), 2,15-2,20 (CH₃ м) 3,75-3,79 и 3,80-3,83 (CH₂ м), 4,90-4,95 и 5,08-5,19 (CH₂ д и кв соответственно), 7,21-7,28 (C₆H₅ м).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучен и предложен механизм домино-реакций с образованием новых представителей пирролопиридинов. Полученные результаты позволяют расширить ряд агентов, вступающих в аналогичные реакции, с использованием акцепторов Михаэля, что, в свою очередь, открывает перспективы синтеза спектра биологически активных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. Martini, L. Di Cesare Mannelli, G. Bartolucci. Synthesis and biological evaluation of 3,7-diazabicyclo[4.3.0]nonan-8-ones as potential nootropic and analgesic drugs // J. Med. Chem. 2011. V. 54. P. 2512–2516.
2. S.K. Shan, N. Chen. Synthesis and evaluation of isatin derivatives as effective SARS coronavirus 3CL protease inhibitors // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 2005. V. 15. P. 977–982.
3. M. Ecija, A. Diez, M. Rubiralta, N. Casamitjana. Synthesis of 3-aminolactams as X-Gly constrained pseudodipeptides and conformational study of a Trp-Gly surrogate // J. Org. chem. 2003. V. 68. P. 9541–9553.

УДК 547.458

СИНТЕЗ N-АРИЛИДЕНГИДРАЗИДОВ КАРБОКСИЭТИЛАЛЬГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Т.И. Тарадейко^{1*}, С.Н. Галашева¹, Д.Н. Кутькина¹, О.Б. Щенникова¹,
А.А. Иозеп¹

Резюме. Исследована реакция гидразида карбоксиэтилальгиновой кислоты с ароматическими альдегидами. Определено влияние времени выдержки, соотношения реагентов и структуры карбонильного соединения на выход целевого продукта. Установлено, что электроноакцепторные заместители в бензольном кольце альдегида ускоряют реакцию образования гидразонов, а электронодонорные – замедляют.

Ключевые слова: альгиновая кислота, гидразид карбоксиэтилальгиновой кислоты, полимераналогичная реакция.

SYNTHESIS OF N-ARILIDENHYDRAZIDE OF CARBOXYETHYLALGINIC ACID

T.I. Taradeyko^{1*}, S.N. Galasheva¹, D.N. Kutkina¹, O.B. Schennikova¹, A.A. Iozep¹

Abstract. The reaction of hydrazide of carboxyethyl alginic acid with aromatic aldehydes was studied. The effect of the time limit, the reagent ratio and the structure of the carbonyl compound to delivery end of the product were determined. It has been established that electron-withdrawing substituting groups in the benzene ring of aldehyde accelerate the reaction of formation of hydrazones, and electron-donating-inhibit.

Keywords: alginic acid, amid, hydrazide of carboxyethyl alginic acid, polymer analogous reaction.

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

1 – Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Professor Popov str., Saint-Petersbourg, 197376, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: tania91@bk.ru

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря ценным биологическим и физико-химическим свойствам альгиновая кислота и её соли применяются как в качестве биологически активных, так и вспомогательных веществ (разрыхлителей, эмульгаторов, загустителей, стабилизаторов суспензий) в производстве лекарственных средств, а также в виде медицинских изделий (марли, ваты, салфеток и др.).

Препараты на основе альгинатов проявляют иммуномодулирующее, противоопухолевое, противовоспалительное, регенерирующее, противовирусное, антибактериальное, противогрибковое действие. При этом не обладают аллергизирующим, эмбриотоксическим и мутагенным действием и могут использоваться в лечебных и профилактических целях в течение длительного времени. Клиническое применение этих препаратов подтвердило полную безопасность и отсутствие побочных эффектов [1].

Альгинатные препараты (альгинаты натрия, кальция, магния, «Канальгат», «Топалкан», «Гевискон») используются для профилактики и лечения

заболеваний пищеварительной системы. Препараты «Натальгин», «Кальцилан», «Калий-Альгалан», «Магний-Альгалан», «Канальгат биогель» способны связывать радионуклиды стронция, цезия, бария, радия, плутония, а также тяжелые металлы (свинец, кадмий) и выводить их из организма [2].

Лечебные покрытия «Альгипор», «Альги-маф», «Теральгим», «Статин» предназначены для лечения ожогов, ран различного происхождения, трофических язв, лучевых поражений кожи, пролежней. Не менее эффективными являются мази, кремы, гели, аэрозольные и порошкообразные препараты на основе альгинатов.

Благодаря таким свойствам альгиновая кислота должна представлять большой интерес и при конструировании лекарственных средств пролонгированного и направленного действия. Однако в доступной нам литературе имеются лишь единичные сообщения о синтезе физиологически активных полимеров (ФАП) на её основе, что, вероятно, связано с малой изученностью химических свойств полисахарида.

В этой связи в Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии:

- изучена лактонообразующая способность альгиновой кислоты, разработаны методики получения её гидразида, N-арилиденгидразидов и азиды; исследована устойчивость и ацилирующая активность последнего в реакциях с ароматическими аминами в водных и неводных средах [3–6];
- синтезированы сульфатированная и карбоксиметилированная альгиновые кислоты, их сложные эфиры, гидразиды, N-арилиденгидразиды, азиды и изучены их свойства [7–16];
- осуществлена модификация альгиновой кислоты некоторыми лекарственными субстанциями и показано, что сама кислота, а также её сульфатированные и карбоксиметилированные производные в качестве носителя препаратов нитрофуранового ряда в целом не снижают противомикробный эффект, а в ряде случаев увеличивают его в 10–100 раз [17].

Для синтеза ФАП большой интерес представляются и производные карбоксиэтилальгиновой кислоты [18], в частности недавно синтезированный гидразид [19], который предполагается использовать для совершенствования ряда лекарственных субстанций, по химическому строению представляющих собой карбонильные соединения, превращая их в полимерные гидразоны. Однако химические свойства гидразида карбоксиэтилальгиновой кислоты в литературе не описаны, поэтому целью нашей работы стало изучение его активности в реакциях с различными альдегидами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали альгиновую кислоту (CAS № 9005-32-7, Acrosorganics, США). Ранее методом гель-хроматографии на сефадексе G-200 было установлено [13], что она состоит из нескольких полисахаридных фракций с молекулярной массой до 200000 Да, которые после алкилирования альгиновой кислоты в основном сохраняются, изменяя лишь скорость элюирования из колонки. Содержание карбоксильных групп после переосаждения – 97%, а после очистки водной щелочью – 100%.

ИК-спектры регистрировали в таблетках с KBr с помощью ИК-фурье-спектрометра ФСМ-1201 (ЗАО «ЛОИП», Россия). Содержание азота определяли фотометрическим методом с реактивом Несслера (ч.д.а., ЗАО «Вектон», Россия). Оптическую плотность образцов определяли на фотоколориметре КФК-2 (Загорский оптико-механический завод, Россия). Для кондуктометрического титрования использовали лабораторный кондуктометр АНИОН-4120 (сертификат Госстандарта RU.C.31.060.A № 25048, ООО НПП «Инфраспек-Аналит», Россия).

Алкилирование альгиновой кислоты в диоксане

2 г альгиновой кислоты (**1**) (рисунок 1) суспендировали в диоксане и термостатировали при 40 °С. Затем к полученной суспензии добавляли 20% раствор тетраметиламмония гидроксида и воду. Смесь перемешивали в течение 10–15 мин при 40 °С до полной гомогенизации. Затем прибавляли 4,8–8,0 г акрил-амида (6–10 молей в расчете на 1 моль-звено полисахарида) и реакционную массу перемешивали в течение 5 ч. По окончании выдержки реакционную массу подщелачивали 1 н. раствором гидроксида натрия до pH 12. Продукт реакции осаждали этанолом и отстаивали. Спирт декантировали, осадок промывали этанолом, затем растворяли в дистиллированной воде, отфильтровывали от частиц нерастворенного вещества и пропускали через колонку с катионитом КУ-2-8 для получения H⁺-формы аминокарбонилэтилальгиновой кислоты. Полученный элюат упаривали досуха, остаток растирали и сушили в вакууме при 61 °С в течение 2 ч. Полученную кислоту растворяли в 0,1 н. растворе гидроксида натрия до pH 12, осаждали этанолом и отстаивали. Спирт декантировали, осадок соли (**2**) промывали этанолом, центрифугировали, затем сушили в вакууме при 61 °С в течение 2 ч.

Ацилирование гидразина гидрата

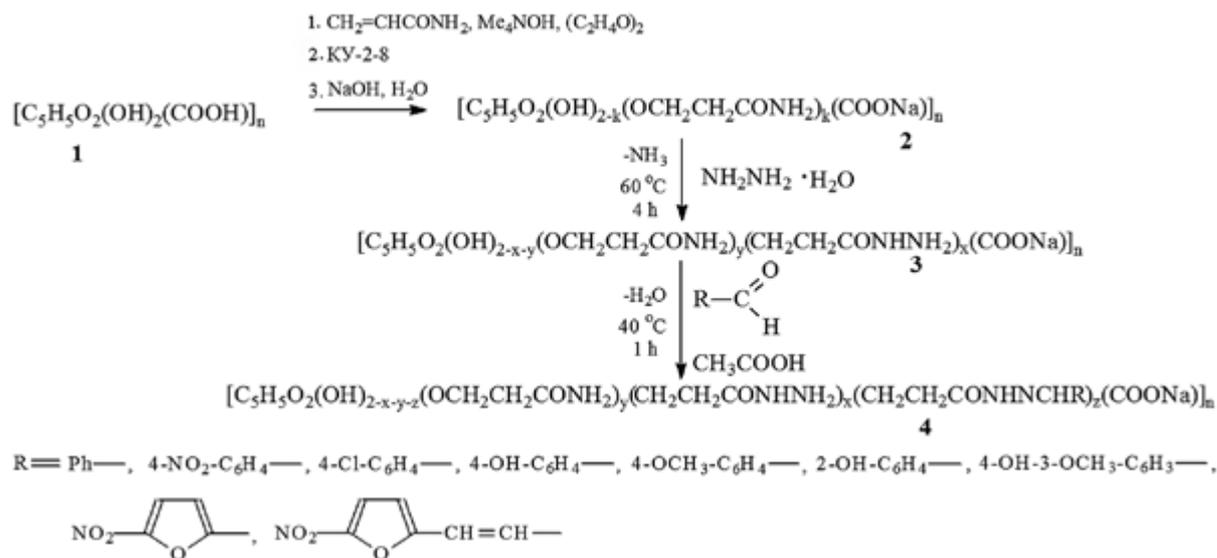
0,5 г синтезированного ранее нами амида карбоксиэтилальгиновой кислоты (**2**) растворяли в 5 мл гидразина гидрата (ИМП, ЗАО «Вектон», Россия) и выдерживали при температуре 50 °С в течение 12 ч. Затем к реакционной массе приливали избыток этанола, выпавший в осадок продукт растворяли в водной щелочи и снова осаждали этанолом для удаления ионно-связанного гидразина и сушили в вакууме (20–25 мм рт. ст.) при 61 °С в течение 2 ч.

Синтез N-бензилиденгидразидов карбоксиэтилальгиновой кислоты

200 мг гидразида карбоксиэтилальгиновой кислоты (**3**) (рисунок 1) растворяли в 2 мл 0,2 н. водного раствора уксусной кислоты и добавляли раствор альдегида (1–15 моль на моль гидразидных групп) в 2 мл этилового спирта. Реакционную массу перемешивали в течение 1 часа при температуре 40 °С, после чего полисахарид осаждали этанолом и центрифугировали. Полученный осадок растворяли в минимальном количестве воды, доводили pH до 8 0,1 н. раствором водной щелочи и продукт **4** осаждали спиртом, центрифугировали и промывали спиртом. Затем сушили в вакууме в течение 4 часов (20–25 мм рт. ст.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химическую модификацию альгиновой кислоты проводили по схеме:



где x , y и z могут равняться нулю.

Рисунок 1. Схема химической модификации альгиновой кислоты

Альгиновую кислоту (**1**) алкилировали избытком акриламида в диоксане в присутствии тетраметиламмония гидроксида, как описано в работе [18]. В результате были получены образцы (**2**) со степенью аминокарбонилэтилирования ($C_{\text{акэ}}$ – количество групп $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, k) от 0,68 до 1,20, а степень карбоксиэтилирования ($C_{\text{кэ}}$ – количество групп $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{COONa}$, m) не превышает 0,05 моль на моль звено моносахаридного фрагмента. Гидразиды карбоксиэтилальгиновой кислоты (КЭАК) (**3**) получали ацилированием гидразина гидрата ее амидами (**2**) при температуре 50°C в течение 12 ч [19]. Синтезированные образцы имели степень гидразинокарбонилэтилирования ($C_{\text{гкэ}}$ – количество введенных групп $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CONHNH}_2$, x) от 0,24 до 0,36, степень аминокарбонилэтилирования ($C_{\text{акэ}}=y$) – от 0,13 до 0,23 и степень карбоксиэтилирования ($C_{\text{кэ}}=z$) – не более 0,1 моль на моль звено полисахарида. Реакцию гидразида КЭАК с бензальдегидом проводили по методике синтеза *N*-бензилиденгидразидов полисахаридкарбонных кислот [20]. К натриевой соли гидразида в 0,2 н. уксусной кислоте приливали спиртовой раствор бензальдегида и смесь выдерживали при температуре 18–20 и 40°C в течение 0,5–6 ч при перемешивании.

Образцы *N*-арилиденгидразидов КЭАК представляют собой аморфные порошки от светло-бежевого до желто-коричневого цвета, растворимые в водных растворах щелочей и нерастворимые в этиловом спирте, ацетоне и большинстве обычных полярных и неполярных органических растворителях.

В ИК-спектрах полученных образцов обнаружены полосы поглощения в области 1650–1670 и 1580 см^{-1} , соответствующие $\nu(\text{C}=\text{O})$ «амид I» и $\delta(\text{N}-\text{H})$ «амид II», полосы при $760\text{--}690\text{ см}^{-1}$ и $810\text{--}840\text{ см}^{-1}$, характерные для моно- и дизамещенного бензольного кольца, а также полоса поглощения карбоксилат-

ионов уруновых кислот в области $1610\text{--}1620\text{ см}^{-1}$. Полосы карбоксилат-ионов этилкарбоксильных групп (около 1580 см^{-1}) в спектрах отсутствуют. В спектрах продуктов реакции с 4-нитробензальдегидом, 5-нитрофурфуролом и β -(5-нитро-2-фурил)-акролеином обнаружены полосы поглощения нитрогруппы при 1520 см^{-1} и 1356 см^{-1} .

Качественный и количественный анализ продукта проводили методом УФ-спектрофотометрии, так как значения λ_{max} водных растворов полученных веществ и исходных альдегидов отличаются, а полисахарид в этой области не поглощает (таблица 1). Данный метод позволяет также судить об отсутствии в образцах примесей исходных альдегидов.

Для количественного анализа синтезированных образцов их гидролизуют в 0,2 н. уксусной кислоте в присутствии формальдегида при комнатной температуре и перемешивании. После завершения гидролиза в УФ-спектре обнаружена полоса поглощения только исходного альдегида. Это позволяет считать, что гидролиз ацилгидразона прошел нацело и найденное количество альдегида в растворе соответствует связанному альдегиду в синтезированных образцах ацилгидразонов.

Синтезированные образцы характеризовали по степени замещения $C_{\text{за}}$ (число молей гидразонов, приходящихся на моносахаридный фрагмент полимера), а реакцию образования ацилгидразона – по степени превращения гидразидных групп в гидразоны $C_{\text{г}}$ (процент гидразидных групп, прореагировавших с карбонильными соединениями).

Для определения условий проведения реакции, позволяющих вводить в образец заданное число ариленовых групп, исследовали зависимость степени превращения гидразидных групп полисахарида в гид-

разоны от времени реакции и избытка альдегида на примере взаимодействия гидразида КЭАК с бензальдегидом (рисунок 2, таблица 2).

Таблица 1.

Положение максимумов поглощения в УФ-спектрах альдегидов и их ацилгидразонов

Альдегид	λ_{max} растворов, нм	
	альдегидов	ацилгидразонов КЭАК
<i>n</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ CHO	268	324
<i>n</i> -Cl-C ₆ H ₄ CHO	258	258
C ₆ H ₅ CHO	248	285
<i>n</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄ CHO	285	290
<i>n</i> -OH-C ₆ H ₄ CHO	285	288
5-NO ₂ -C ₄ H ₂ OCHO	312	365
5-NO ₂ C ₄ H ₂ OС ₂ H ₂ CHO	357	291, 375
салициловый альдегид	255, 325	277, 287

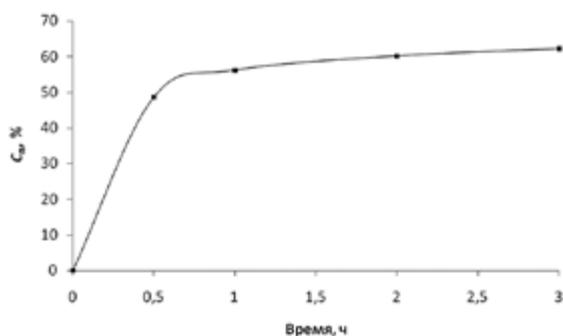


Рисунок 2. Влияние времени выдержки на результаты реакции гидразида карбоксиэтилальгиновой кислоты ($C_{\text{ГКЭ}}=0,34$, $C_{\text{акЭ}}=0,23$) с бензальдегидом

Как и в случае гидразидов карбоксиметилальгиновой кислоты [11], равновесие в реакции устанавливается уже после 30 мин выдержки гидразида КЭАК с бензальдегидом в среде уксусной кислоты, при этом $C_{\text{за}}$ достигает 0,16 моль на моносахаридный фрагмент. Дальнейшее увеличение времени (до 6 ч) нецелесообразно, так как $C_{\text{за}}$ изменяется незначительно (до 0,21 моль на моль-звено полисахарида).

При увеличении избытка бензальдегида от 1 до 10 моль альдегида на моль звена альгиновой кислоты $C_{\text{за}}$ увеличивается от 0,16 до 0,22 моль на моносахаридное звено. Дальнейшее увеличение концентрации реагента не повышает выход продукта, а наоборот, уменьшает (при 15 моль альдегида $C_3=0,188$, $C_{\text{п}}=54,8\%$). Вероятно, это можно объяснить тем, что добавление бензальдегида в спирте к раствору полисахарида в уксусной кислоте сопровождается гелеобразованием реакционной массы. При увеличении избытка бензальдегида до величины более 10 моль/моль образуется устойчивая суспензия, где субстрат и реагент находятся в разных фазах, и процесс резко замедляется.

Таким образом, наилучшие результаты синтеза N-бензилиденгидразида карбоксиэтилальгиновой

кислоты достигаются при нагревании гидразида кислоты в среде 0,2 н. уксусной кислоты при 40 °С со спиртовым раствором бензальдегида, взятого в избытке 5 моль на моносахаридный фрагмент, в течение 1 ч.

Таблица 2.

Влияние избытка бензальдегида на результаты реакции гидразида КЭАК ($C_{\text{ГКЭ}}=0,34$, $C_{\text{акЭ}}=0,23$) с бензальдегидом ($t=40$ °С, $\tau=1$ ч)

Избыток бензальдегида, моль/моль	Характеристика N-бензилиденгидразида КЭАК	
	$C_{\text{за}}$, моль/моль	$C_{\text{п}}$, %
1	0,160	47,18
5	0,181	53,12
7	0,188	55,17
10	0,218	64,18
15	0,187	54,84

При исследовании реакции гидразида КЭАК с ароматическими альдегидами оказалось, что, так же как и в случае предыдущих исследований, проведенных с гидразидом карбоксиэтилдекстрана [20], гидразидами альгиновой, сульфатированной альгиновой [11] и карбоксиметилированной альгиновой кислот [3], электроноакцепторные заместители в бензольном ядре альдегида ускоряют реакцию образования гидразонов, а электронодонорные – затрудняют. Так, при замене гидроксильной группы в *p*-положении бензальдегида на нитрогруппу процент гидразидных групп полисахарида, прореагировавших с альдегидом, увеличивается с 30% до 76%.

При этом число ацилгидразонов в образцах полисахарида линейно зависит от константы Гаммета заместителя в альдегиде (рисунок 3). Это может свидетельствовать о том, что гидразиды КЭАК реагируют с ароматическими альдегидами по одному механизму и пространственные факторы оказывают примерно одинаковое влияние на реакцию гидразида с используемыми в исследовании *p*-замещенными бензальдегидами.

Как и ожидалось, гидразиды карбоксиэтилированной альгиновой кислоты более активны в реакциях с ароматическими альдегидами, чем гидразиды альгиновой и сульфатированной альгиновой кислот, что, вероятно, связано с большей доступностью гидразидов карбоксиэтильных групп для реагента (они находятся дальше от полимерной цепи, чем гидразиды уроновых кислот самого полисахарида). Оказалось также, что гидразиды карбоксиметил- и карбоксиэтилальгиновой кислоты реагируют примерно с одинаковой скоростью, хотя, по нашим предположениям, нуклеофильность гидразида КЭАК выше. Вероятно, и этот факт можно объяснить доступностью гидразидных групп, которая в образцах карбоксиметилальгиновой кислоты выше, чем у гидразидов КЭАК, из-за большей более чем в 2 раза степени замещения (таблица 3).

При взаимодействии гидразидов КЭАК с 5-нитрофурфуролом и 3-(5-нитро-1-фурил)-2-пропенам степень превращения гидразидных групп достигает 97,1% и 95,6% и превышает степень превращения гидрази-

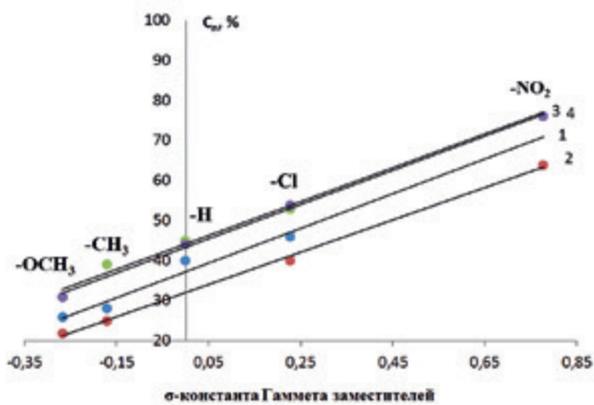


Рисунок 3. Зависимость степени превращения гидразидных групп сульфатированной альгиновой кислоты (1), альгиновой кислоты (2), карбоксиметилальгиновой кислоты (3) и карбоксиэтилированной альгиновой кислоты (4) в гидразоны от о-констант Гаммета заместителей

дов сульфатированной, карбоксиметилированной и самой альгиновой кислоты. Вероятно, это можно объяснить большей реакционной способностью гидразидных групп карбоксиэтилальгиновой кислоты и их доступностью для альдегида.

Таблица 3.

Результаты реакции гидразидов сульфатированной альгиновой кислоты (ГАКС), альгиновой кислоты (ГАК), карбоксиметилальгиновой кислоты (ГКМАК) и гидразидов КЭАК с ароматическими альдегидами

Альдегид	Степень превращения C _{пр} , %			
	ГАКС (C _{зг} =0,46)	ГАК (C _{зг} =0,26)	ГКМАК (C _{зг} =0,86)	ГКЭАК (C _{зг} =0,34)
<i>n</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ CHO	59,2	63,51	-	76,2
<i>n</i> -Cl-C ₆ H ₄ CHO	45,7	39,51	53,3	53,8
C ₆ H ₅ CHO	39,6	43,41	45,4	43,8
<i>n</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄ CHO	27,9	25,41	39	-
<i>n</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄ CHO	25,6	22,01	30,7	30,7
<i>o</i> -OH-C ₆ H ₄ CHO	41,6	-	46,1	57,5
5-NO ₂ -C ₄ H ₂ OCHO	73,6	74	78	97,1
5-NO ₂ C ₄ H ₂ OC ₂ H ₂ CHO	58,3	56	75	95,6

Примечание: 178 °С, этанол, 1 ч, каталитическое количество уксусной кислоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом:

1. Гидразиды карбоксиэтилированной альгиновой кислоты, так же как и гидразиды других полисахаридкарбоновых кислот, образуют полимерные ацилгидразоны с ароматическими альдегидами со степенью превращения гидразидных групп в гидразоны до 100%.
2. Степень превращения гидразидных групп карбоксиэтилальгиновой кислоты в гидразоны зависит от электрофильности альдегидной группы,

поэтому электрооакцепторные заместители в *n*-положении ароматического кольца увеличивают, а электронодонорные уменьшают число бензилиденовых групп в полисахариде.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.М. Титов. Целительные свойства морских водорослей. – СПб.: Нева, 2004. 128 с.
2. Н.А. Hoppe, T. Levring, Y. Tanaka. Marine alga in Pharmaceutical science. – Berlin; N.Y. 1979. 351 p.
3. С.И. Ансон, Е.В. Новикова, А.А. Иозеп. О гидразиде альгиновой кислоты и его реакции с ароматическими альдегидами // Журнал прикладной химии. 2008. Т. 81. № 4. С. 611–613.
4. С.И. Ансон, Е.В. Новикова, А.А. Иозеп. Азид альгиновой кислоты и его реакции с ароматическими аминами // Журнал прикладной химии. 2009. Т. 82. № 3. С. 451–454.
5. С.И. Ансон, Е.В. Новикова, А.А. Иозеп. Внутримолекулярные ложные эфиры альгиновой кислоты // Журнал прикладной химии. 2009. Т. 82. № 6. С. 1037–1039.
6. Е.С. Серебренникова, С.И. Ансон, О.Б. Щенникова, А.А. Иозеп. Реакции азидов альгиновой кислоты с ароматическими аминами в органических средах // Химическая промышленность. 2012. Т. 89. № 3. С. 113–117.
7. Е.С. Серебренникова, А.А. Иозеп. Сульфатирование альгиновой кислоты раствором серного ангидрида в 1,2-дихлорэтаноле // Химическая промышленность. 2011. Т. 88. № 6. С. 277–280.
8. Е.С. Серебренникова, А.А. Иозеп. Сульфатирование альгиновой кислоты хлорсульфоновой кислотой в среде формамида и 1,2-дихлорэтана // Журнал общей химии. 2012. Т. 82. № 2. С. 340–342.
9. Е.С. Серебренникова, А.А. Иозеп. Сложные эфиры сульфатированной альгиновой кислоты // Бултеровские сообщения. 2011. Т. 28. № 19. С. 41–44.
10. Е.С. Серебренникова, Е.С. Грошева, А.А. Иозеп. Азиды сульфатированной альгиновой кислоты и их реакции с ароматическими аминами // Бултеровские сообщения. 2012. Т. 29. № 2. С. 13–17.
11. Е.С. Серебренникова, О.Б. Щенникова, А.А. Иозеп. Гидразиды и бензилиденгидразиды сульфатированной альгиновой кислоты // Химическая промышленность. 2012. Т. 89. № 2. С. 80–85.
12. Е.С. Серебренникова, Е.О. Коломина, А.А. Иозеп. Карбоксиметилальгиновая кислота и её реакции со спиртами // Бултеровские сообщения. 2012. Т. 30. № 6. С. 57–62.
13. Е.С. Серебренникова, М.С. Мороз, А.И. Черёмушкин, А.А. Иозеп. Реакции карбоксиметилальгиновой кислоты с некоторыми N-нуклеофилами // Бултеровские сообщения. 2012. Т. 31. № 7. С. 18–23.
14. А.И. Черёмушкин, А.А. Иозеп. Азиды карбоксиметилальгиновой кислоты и их реакции с N-нуклеофилами // ЖОХ. 2014. Т. 84. № 12. С. 1991–1996.
15. А.И. Черёмушкин, Т.И. Тарадейко, А.А. Иозеп. Этиловый эфир карбоксиметилальгиновой кислоты и его ацилирующая активность в реакциях с N-нуклеофилами // ЖОХ. 2015. Т. 85. Вып. 6. С. 1012–1016.
16. Д.Н. Кутькина, А.И. Черёмушкин, А.А. Иозеп. Особенности N-ацилирования бензиламина карбоксиметилальгиновой кислотой // ЖОХ. 2016. Т. 86. Вып. 8. С. 1402–1403.
17. Е.С. Серебренникова, В.Л. Давыдова, С.В. Гурина, А.А. Иозеп. Изучение антимикробной активности некоторых производных альгиновой кислоты // Проблемы медицинской микологии. 2013. Т. 15. № 4. С. 60–62.
18. Т.И. Тарадейко, Т.М. Седелкина, Т.А. Тарасова, А.А. Иозеп. Алкилирование альгиновой кислоты акриламидом // ЖОХ. 2016. Т. 86. Вып. 8. С. 1345–1349.
19. Т.И. Тарадейко, Т.М. Седелкина, С.Н. Галашева, А.А. Иозеп. Синтез гидразидов карбоксиэтилальгиновой кислоты // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 3(20). С. 110–114.
20. А.А. Иозеп, Н.К. Бессонова, Б.В. Пассет. Синтез гидразидов, азидов и замещенных амидов карбоксиэтилдекстрана // Журнал прикладной химии. 1998. Т. 71. Вып. 6. С. 998–1003.

Ректификационная система BuchiGlasUster со склада в Москве

Установка периодической ректификации BuchiGlasUster в комплектации «под ключ» доступна со склада в Москве. При необходимости в комплект поставки может быть включен термостат и вакуумный насос со склада.



РАБОЧИЕ УСЛОВИЯ:

- Взрывозащищенное исполнение.
- Диапазон рабочих температур: -60...+200С
- Диапазон рабочих давлений: -1...+0,5 бар
- Материалы в контакте со средой:
 - боросиликатное стекло 3.3.
 - PTFE
 - эмаль белого и синего цвета

КОМПЛЕКТАЦИЯ:

Кубовая ёмкость рабочим объёмом 15 л из эмалированной стали, имеет рубашку с резьбовыми адаптерами M16*1 для подключения циркуляционного термостата, обогреваемая часть снабжена теплоизоляцией в стальном кожухе.

Куполообразная крышка сосуда из стекла.

Система перемешивания для равномерного кипения смеси в кубе с двойным уплотнением из PTFE-колец на подшипниках качения, не требующим смазки и отвечающим требованиям FDA.



Скидка*
15%
Промокод:
phct



*При предъявлении промокода покупателю предоставляется скидка в размере 15%. Количество товаров, участвующих в акции, ограничено. Подробности акции просьба уточнять у эксклюзивного дистрибьютора BuchiGlasUster на территории РФ:

УДК 615.282.84-547.551.525.211.1

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ РЯДА СЕРЕБРЯНЫХ СОЛЕЙ ПИРАЗОЛ-3-КАРБОКСАМИДОВ *IN VITRO*

В.В. Новикова^{1*}, А.А. Русских¹

Резюме. Целью исследования являлось изучение противогрибковой активности нового перспективного соединения ряда пиразол-3-карбоксамидов, содержащего ион серебра, в отношении клинических изолятов *Candida* spp. микрометодом двукратных серийных разведений в жидкой среде. Представлены результаты углубленного исследования данного соединения в отношении клинических штаммов *Candida albicans* – типичного патогена, вызывающего поверхностный и инвазивный кандидоз, а также в отношении реже встречаемых не-*albicans* видов *Candida* spp., проявляющих резистентность к наиболее часто используемым антимикотикам. Изученное соединение проявило высокую антифунгальную активность, в том числе в отношении полирезистентных клинических изолятов (МПК 0,03–4,6 мг/л).

Ключевые слова: кандидоз, противогрибковая активность, *Candida* spp., серебряные соли пиразол-3-карбоксамидов.

THE INVESTIGATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NEW SILVER SALT OF PYRAZOL-3-CARBOXAMIDES *IN VITRO*

V.V. Novikova^{1*}, A.A. Russkih¹

Abstract. The investigation of the antifungal activity of promising new compound of some pyrazole-3-carboxamides containing the ion of silver, against clinical isolates of *Candida* spp. by means micromethod two-fold serial dilution in liquid medium was the aim of the study. The results of an in-depth study of these compound for clinical strains of *Candida albicans*, a typical pathogen that causes surface and invasive candidiasis, as well as for less frequent non-*albicans* species of *Candida* spp., showing resistance to the most commonly used antimycotics, are presented. The studied compound showed a high antifungal activity, including against to multiresistant clinical isolates (MIC of 0.03 to 4.6 mg/l).

Keywords: candidiasis, antifungal activity, *Candida* spp., silver salts of pyrazole-3-carboxamides.

1 – ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

1 – Perm State Pharmaceutical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Field str., Perm, 614990, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: vvpperm@yandex.ru
Тел.: 8 (342) 282 09 29

ВВЕДЕНИЕ

Клинические проявления инфекции, вызванной грибами *Candida* spp., разнообразны: от локального поражения слизистых оболочек до тяжелых форм инвазивного кандидоза с полиорганном поражением. Преобладание *Candida albicans* в этиологической структуре поверхностных и инвазивных кандидозов неоспоримо. Однако реже встречающиеся не-*albicans* виды *Candida* spp. – *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* и др. – представляют не меньший интерес для исследований с целью поиска эффективных антифунгальных средств в связи с высокой резистентностью данных видов ко многим используемым антимикотикам [1–3].

Инвазивный кандидоз (ИК) – патология, часто встречаемая у лиц с выраженной иммунодепрессией. По данным Глобального фонда по

борьбе с грибковыми инфекциями (Global Action Fund for Fungal Infections, GAFFI), ежегодно ИК регистрируется у более чем 750 000 человек и является причиной летального исхода у более чем 350 000 человек в мире [4].

Как отмечает А.В. Веселов с соавторами [5], на сегодняшний день имеется четкая тенденция снижения числа случаев ИК, вызванного *C. albicans*, и возрастание частоты выделения не-*albicans* видов. По данным европейских исследователей, доля *C. albicans*, выделенных при ИК, составляет 45,4–70%, *C. glabrata* – 9,0–21,1%, *C. parapsilosis* – 3,7–24,9%, *C. krusei* – 1,6–8%. По данным российского исследования «КРИТ» («Кандидоз в отделениях реанимации и интенсивной терапии»), доля *C. albicans*, выделенных из крови, составила только 48%, на втором и третьем местах по частоте выделения находятся *C. parapsilosis* (17%) и *C. glabrata* (14%).

В случае поверхностных форм кандидозной инфекции, в частности наиболее часто встречаемого вульвовагинального кандидоза, лидирующие позиции в этиологической структуре, помимо *C. albicans* (66–88%), занимает *C. glabrata* (3,6–35,3%), реже встречаются *C. krusei* (2–19%), *C. parapsilosis* (1,8–14,2%) [1–3, 6].

В настоящее время все острее встает проблема резистентности грибковых патогенов к используемым антимикотикам. По данным многоцентрового исследования, проведенного в период 2011–2015 гг. в шести федеральных округах России, резистентность возбудителей ИК к флуконазолу составила 12%, в том числе изолятов *Candida albicans* – 2,3%, не-*albicans* видов *Candida* – 19% [7].

По данным других исследований, показатели чувствительности *C. albicans*, выделенных из секрета влагалища [2], к флуконазолу составили только 61%, все изученные штаммы не-*albicans* видов *Candida* были резистентны к этому препарату. Установлено прогрессивное снижение чувствительности *C. albicans* к флуконазолу со 100% до 70,4% в течение семилетнего периода наблюдения [1]. В работе [8] обсуждаются низкие показатели чувствительности к флуконазолу изолятов *C. albicans*, выделенных от пациенток с вульвовагинальным кандидозом: только у 8 обследованных пациенток из 25 (32%) выделены штаммы *C. albicans*, минимальная подавляющая концентрация (МПК) флуконазола в отношении которых составила 2 мг/л, что в соответствии с критериями EUCAST и CLSI [14, 15] свидетельствует о чувствительности штамма к этому препарату. Остальные штаммы оказались резистентны или имели дозозависимую чувствительность (МПК флуконазола составила 4–128 мг/л).

По результатам наших исследований [3] зафиксированы высокие показатели резистентности изолятов *Candida spp.*, выделенных из отделяемого половых путей, к антимикотикам азолового ряда: 64,8% *C. albicans* были резистентны к клотримазолу, 88,9% – к кетоконазолу, 90,7% – к флуконазолу. Большинство (60–80%) изолятов *C. glabrata* проявили устойчивость к кетоконазолу и флуконазолу. Наиболее высокие показатели резистентности к флуконазолу и кетоконазолу выявлены у *C. krusei* – 100% изолятов.

Таким образом, в настоящее время формируется тенденция к увеличению значимости не-*albicans* видов в этиологии кандидозов. Помимо этого, остро встает проблема множественной резистентности данных патогенов, что определяет необходимость поиска соединений, обладающих противогрибковой активностью в отношении *Candida spp.*

Полученные нами ранее результаты [9, 10] свидетельствуют о возможности поиска эффективного противогрибкового средства среди серебряных солей гетероциклических соединений. Наиболее перспек-

тивным рядом можно рассматривать серебряные соли пиразол-3-карбоксамидов, проявляющих высокую антимикотическую активность в отношении типовых и клинических штаммов *Candida spp.* [11].

Целью данного исследования было изучение антифунгальной активности нового соединения ряда серебряных солей пиразол-3-карбоксамидов в отношении устойчивых изолятов *Candida spp.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с ранее описанными методиками [11] получено малотоксичное соединение RA-49, содержащее ион серебра.

Исследованы 40 штаммов грибов рода *Candida*, выделенных от пациентов многопрофильных клиник (поликлиники и стационары) г. Перми (биосубстрат – отделяемое влагалища, зева, мокрота, испражнения): 36 штаммов *C. albicans*, 3 штамма *C. krusei*, 1 штамм *C. glabrata*. Для первичной оценки чувствительности выделенных штаммов грибов был использован дискодиффузионный метод – рутинный способ, используемый в практическом здравоохранении. Посевы осуществляли на агар Сабуро (производитель – ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболensk). Использовали диски ДИ-ПЛС-50-01 производства компании ООО «НИЦФ», содержащие 40 мкг амфотерицина В, 40 мкг флуконазола, 10 мкг клотримазола, 80 ЕД нистатина. Инкубированные чашки с дисками инкубировали при температуре 25±1 °С в течение 40–48 ч. Интерпретацию результатов осуществляли в соответствии с инструкцией производителя. В настоящее исследование вошли штаммы, резистентные к одному и более антимикотикам.

Исследование противогрибковой активности изучаемого соединения, проявившего высокую антимикотическую активность в отношении типового штамма *C. albicans* ATCC 885-653 (МПК 0,05–0,2 мг/л), по отношению к указанным клиническим штаммам проводили микрометодом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде в 96-луночных планшетах, рекомендованным [12–15], чувствительность каждого из штаммов определяли в двух повторах. Посевы осуществляли на среду Сабуро (производитель – ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболensk). Концентрация микробных клеток в опыте составила (2–5)×10⁵ КОЕ/мл. Для положительного контроля использовали питательную среду без противогрибкового препарата с внесенной исследуемой культурой, качество среды контролировали, применяя типовые штаммы микроорганизмов в соответствии с инструкцией по применению. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду. Планшеты инкубировали в термостате при температуре 35±1 °С [13–15]. Оценку роста культур проводили ви-

зуально через 24 часа инкубирования в соответствии с [14]. В качестве значения МПК принимали концентрацию препарата в последней прозрачной лунке серии разведения. Полученные первичные результаты обрабатывали с использованием стандартных статистических методов, усредняя результаты, полученные в двух повторах. В качестве препарата сравнения использовали флуконазол, выбор которого обусловлен его высокой востребованностью в клинической практике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе настоящего исследования выявлено, что изучаемое соединение проявляет высокую противогрибковую активность в отношении представителей рода *Candida*. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Распределение популяции исследованных клинических изолятов *Candida spp.* по значениям МПК к изученным соединениям

Исследуемые соединения	Количество штаммов с соответствующими МПК (мг/л)										
	0,025	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,1	6,2	12,5	25*
Тестируемое соединение	15	2	2	0	2	1	4	4	4	2	4
Флуконазол	0	1	0	0	4	4	5	9	5	3	9

Примечание: * – 25 мг/л и более.

На основании данных о степени чувствительности (распределении значений МПК) можно рассчитать кумулятивные показатели чувствительности популяции штаммов – МПК₅₀ и МПК₉₀, которые могут быть использованы для оценки устойчивости вида к исследуемым препаратам. Установлено, что изученное соединение имеет значения МПК₅₀ и МПК₉₀, превышающие по степени активности препарат сравнения (рисунок 1).

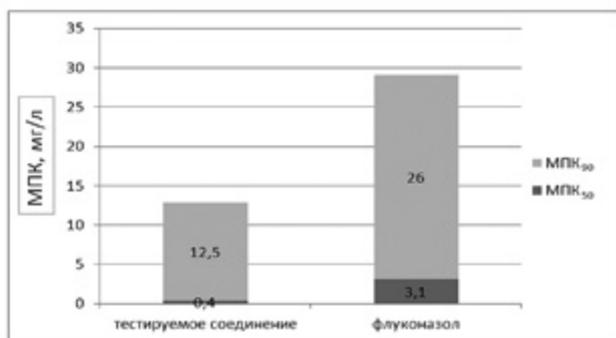


Рисунок 1. Кумулятивные показатели чувствительности популяции штаммов (МПК₅₀ и МПК₉₀) к тестируемому соединению

Ввиду типичной для не-*albicans* штаммов высокой резистентности к используемым антимикотическим

препаратам была проанализирована противогрибковая активность в отношении данных изолятов. Полученные усредненные данные представлены на рисунке 2.

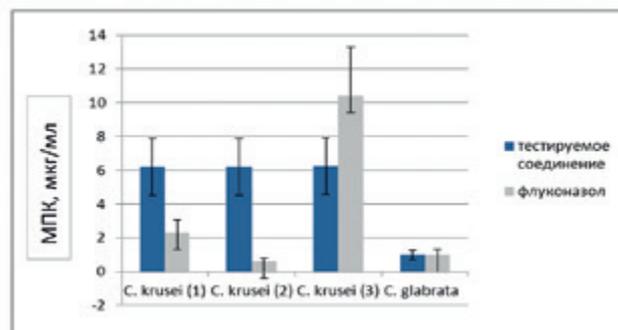


Рисунок 2. Чувствительность клинических изолятов *Candida non-albicans* к тестируемому соединению

Вследствие особой важности проблемы развития множественной устойчивости циркулирующих штаммов грибов к антимикотическим препаратам была изучена противогрибковая активность тестируемого соединения по отношению к 5 полирезистентным (устойчивым к трем и более антимикотикам) изолятам по данным дискодиффузионного метода. Установлено наличие высокой противогрибковой активности по отношению к данным штаммам (таблица 2). Все множественно резистентные штаммы были устойчивы к флуконазолу и амфотерицину, МПК тестируемого соединения же составила 0,03–4,6 мг/л. При этом можно отметить, что МПК в отношении штаммов, резистентных к клотримазолу, выше, чем в отношении изолятов, не проявляющих устойчивости к данному антимикотику.

Таблица 2.

Противогрибковая активность тестируемого соединения по отношению к полирезистентным изолятам *Candida spp.*

Исследуемый клинический штамм	Результаты чувствительности изолятов к противогрибковым препаратам по данным дискодиффузионного метода (диаметр зоны задержки роста, мм)				МПК тестируемого соединения, мг/л
	амфотерицин	нистатин	флуконазол	клотримазол	
<i>C. albicans</i> (1)	13(R**)	16(R)	15(R)	15 (S***)	0,03±0,01
<i>C. albicans</i> (2)	10(R)	17(R)	18(R)	17 (S)	0,03±0,01
<i>C. albicans</i> (3)	11(R)	16(R)	16(R)	15 (S)	0,03±0,01
<i>C. albicans</i> (4)	11(R)	20 (S)	16(R)	11 (R)	3,9±2,3
<i>C. krusei</i>	11(R)	19(S)	16(R)	10 (R)	4,6±1,5

Примечание: ** – резистентен, *** – чувствителен.

Механизм действия изучаемого соединения, возможно, связан с ингибирующим воздействием серебра на ферментные системы микроорганизмов [16]. Согласно литературным данным, атомы серебра способны связываться с тиольными группами некоторых ферментов с формированием сульфидов серебра, что приводит к нарушению метаболизма микроорганизмов [16]. Описано также образование комплексов нуклеиновых кислот с серебром, вследствие чего нарушается пространственная структура ДНК и клетка утрачивает способность к делению [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлено соединение ряда серебряных солей пиразол-3-карбоксамидов, проявляющее высокую антимикотическую активность в отношении полирезистентных штаммов *Candida* spp. представляющее интерес для дальнейшего доклинического исследования: изучения механизма антифунгального действия, скорости формирования резистентности, изучения противогрибковой активности в экспериментах *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.С. Анкирская, В.В. Муравьёва, С.А. Фурсова и др. Мониторинг видового состава и чувствительности к антимикотикам дрожжеподобных грибов, выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2006. Т. 8. № 1. С. 87–95.
2. И.О. Малова, Ю.А. Кузнецова. Чувствительность к антимикотикам *Candida* spp., выделенных от пациенток с хроническим рецидивирующим кандидозом урогенитального тракта // Проблемы медицинской микологии. 2013. Т. 15. № 2. С. 103.
3. В.В. Новикова, С.Г. Езов, А.И. Селиванова. Анализ видового состава и чувствительности клинических изолятов *Candida* spp. к современным антимикотикам // Медицинский альманах. 2017. № 2. С. 138–141.
4. Н.В. Васильева, И.В. Выборнова, Е.Р. Рауш. Определение чувствительности возбудителей инвазивного кандидоза к флуконазолу с использованием дисков различных производителей // Проблемы медицинской микологии. 2016. Т. 18. № 2. С. 8–11.
5. А.В. Веселов, Р.С. Козлов. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. 2016. № 18 (2, Прил. 2). С. 1–104.
6. S. Mohanty, I. Xess, F. Hasan, A. Kapil et al. Prevalence & susceptibility to fluconazole of *Candida* species causing vulvovaginitis // Indian J Med Res. 2007. № 126(3). P. 216–219.
7. Е.Р. Рауш. Особенности возбудителей внутрибольничного инвазивного кандидоза: автореф. дис. ... к.мед.н. – СПб.: СЗГМУ им. И.И.Мечникова, 2015. 24 с.
8. D. Marchaim, L. Lemanek, S. Bheemreddy, J. Sobel Fluconazole-Resistant *Candida albicans* Vulvovaginitis // Obstetrics & Gynecology. 2012. V. 120(6). P. 1407–1414.
9. С.В. Ухов, М.Е. Коньшин, В.В. Новикова и др. Синтез и противомикробная активность серебряных солей замещенных амидов 2-иминокумарин-3-карбоновой кислоты // Химико-фармацевтический журнал. 2004. № 4. С.15–16.
10. В.В. Новикова, В.Л. Гейн, О.В. Бобровская Изучение антимикотической активности перспективных соединений ряда серебряных солей пирролопиразолов // Биомедицина. 2017. № 2. С. 66–71.
11. В.В. Новикова, В.Л. Гейн, О.В. Бобровская. Антимикотическая активность новых серебряных солей пиразол-3-карбоксамидов // Проблемы медицинской микологии. 2017. Т. 19. № 3. С. 64–66.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / ФГБУ «НЦЭСМП» Министерства здравоохранения РФ. – М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
13. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации. 2015. URL: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/clinical-recommendations> (дата обращения 10.03.2017).
14. CLSI M27-A3. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Third Edition. Approved Standard. CLSI. – Wayne. 2008.
15. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2007, EUCAST Definitive Document EDef 7.1: Method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts // Clinl Microbiol Infect. 2008. V. 14. P. 398–405.
16. L.N. Lysenkova, I.A. Godovikov, A.M. Korolev, V.N. Danilenko, et al. Synthesis and anti-actinomycotic activity of the thiocyanato derivative of oligomycin A modified in the 2-hydroxypropyl side chain // Macroheterocycles. European Journal of Medicinal Chemistry. 2011. V. 46. P. 423–428.

УДК 547.794.3

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1,3,4-ТИАДИАЗОЛА, ОБЛАДАЮЩИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

А.С. Кошевенко^{1*}, В.Н. Юсковец¹, Е.П. Ананьева¹, И.П. Яковлев¹,
Т.Л. Семакова¹

Резюме. Разработан перспективный метод получения новых гетероциклических соединений – хлоридов 2-[(Z)-1-(3,5-диарил-1,3,4-тиадиазол-2(3H)-илиден)метил]-3,5-диарил-1,3,4-тиадиазол-3-ия. Структура и индивидуальность полученных соединений доказаны физико-химическими методами идентификации органических соединений: ¹H- и ¹³C-ЯМР-спектроскопией, ИК-спектроскопией, масс-спектрометрией. Определена антибактериальная активность в отношении культур *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. Показано, что данные соединения обладают выраженной антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий. Выявлено наиболее активное соединение, которое потенциально может быть использовано в медицине в качестве антимикробного средства.

Ключевые слова: 1,3,4-тиадиазол, малонилдихлорид, N'-арилтиобензгидразид, антимикробная активность, минимальная подавляющая концентрация.

NEW 1,3,4-TIADIAZOLE DERIVATIVES WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY

A.S. Koshevenko^{1*}, V.N. Yuskovets¹, E.P. Ananyeva¹, I.P. Yakovlev¹, T.L. Semakova¹

Abstract. The method of obtaining new heterocyclic compounds – chlorides 2-[(Z)-1-(3,5-diaryl-1,3,4-thiadiazol-2(3H)-iliden)methyl]-3,5-diaryl-1,3,4-thiadiazol-3 was developed. The structure and individuality of the obtained compounds are proved by the physico-chemical methods for the identification of organic compounds: ¹H and ¹³C NMR, IR spectrometry, mass spectrometry. Antibacterial activity was defined against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. It was shown that these compounds have a pronounced antibacterial activity against gram-positive bacteria. The most active compound has been identified, which can potentially be used in medicine as an antimicrobial agent.

Keywords: 1,3,4-thiadiazole, malonyl chloride, N'-arylthiobenzhydrazide antibacterial activity, the minimal inhibitory concentration.

¹ – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

¹ – Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Russian Federation Ministry of Healthcare, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: anastasia.koshevenko@pharminnotech.com

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с данными ВОЗ каждый год в мире от инфекционных заболеваний умирает 17 млн человек. Данные заболевания на сегодняшний день занимают 3–4-е место в рейтинге причин смертности [1]. При этом особую тревогу вызывает распространение резистентных штаммов микроорганизмов [2]. Считается, что порядка 70% внутригоспитальных инфекций вызваны штаммами, устойчивыми к одному или нескольким антибиотикам [3].

Например, через 7 лет после введения в практику пенициллина 50% штаммов *Staphylococcus aureus* были невосприимчивы к действию этого антибиотика, так как распространялись штаммы бактерий, вырабатывающих пенициллиназу [3]. Затем, после введения в практику метициллина, устойчивого к воздействию пеницил-

линазы, появились устойчивые бактериальные штаммы, резистентность которых была обусловлена другим механизмом: бактериальная клетка изменяла белок-мишень, предотвращая его блокирование [4].

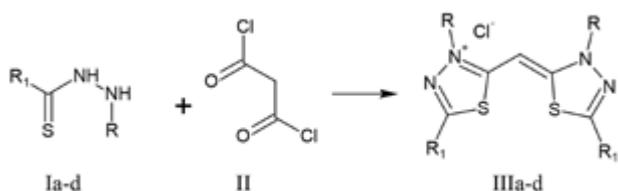
Наибольшее внимание обращает на себя факт увеличения количества зарегистрированных случаев появления штаммов, устойчивых к резервным антибиотикам. Так, например, увеличилось количество сообщений о появлении штаммов *S. aureus*, резистентных к ванкомицину [5].

Таким образом, несмотря на наличие в настоящее время большого количества средств для лечения инфекций, данная группа заболеваний остается достаточно значимой для здравоохранения и человечества в целом, что требует расширения действующего арсенала с помощью новых эффективных нетоксичных противомикробных средств.

Целью данной работы является синтез и изучение противомикробной активности новых производных 1,3,4-тиадиазола, аналоги которых обладают целым рядом практически важных свойств, в том числе высокой биологической активностью [6–8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На кафедре органической химии путем взаимодействия замещенных *N'*-арилтиобензгидразидов (**Ia-d**) с малонилдихлоридом (**II**) в соотношении 1:1 в среде кипящего ацетонитрила получены хлориды 2-[(*Z*)-1-(3,5-диарил-1,3,4-тиадиазол-2(*3H*)-илиден)метил]-3,5-диарил-1,3,4-тиадиазол-3-ия (**IIIa-d**):



R=Ph; R¹=Ph (**Ia**, **IIIa**); R=3,5-диFC₆H₄; R¹=4-FC₆H₄ (**Ib**, **IIIb**); R=4-FC₆H₄; R¹=Ph (**Ic**, **IIIc**); R=3,5-диFC₆H₄; R¹=Ph (**Id**, **IIIId**).

Выход продуктов в виде ярко-желтых мелких игольчатых кристаллов составил 75–90% от теоретического из расчета на *N'*-арилтиобензгидразид (таблица 1).

Таблица 1.

Характеристика соединений IIIa-e

№	R	R ¹	Т. пл., °С	Выход, %	R _f ^a
IIIa	Ph	Ph	269–271	90	0,87
IIIb	3,5-диFC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄	279–281	87	0,62
IIIc	4-FC ₆ H ₄	Ph	>300	88	0,38
IIIId	3,5-диFC ₆ H ₄	Ph	234–236	86	0,51

Строение синтезированных веществ было доказано физико-химическими методами идентификации органических соединений: ¹H- и ¹³C-ЯМР-спектроскопией (прибор Avance III, Bruker, США), ИК-спектроскопией (прибор ФСМ-1201, «Инфраспек», Россия), масс-спектрометрией (прибор micrOTOF, Bruker, США).

В спектрах ¹H-ЯМР соединений IIIa-d в CDCl₃ присутствуют сигналы протонов бензольных колец (δ 5,89–8,11 м.д.), протона метинового мостика между 1,3,4-тиадиазольными циклами (δ 5,89–6,35 м.д.) с соотношением интегральных интенсивностей 20:1.

Спектры ¹³C-ЯМР этих соединений характеризуются сигналами ядер углерода бензольных колец (δ 125,4–136,8 м.д.), тиадиазольных циклов (δ 153,67–168,56 м.д.) и метинового мостика (δ 79,26–83,88 м.д.).

Для ИК-спектров веществ IIIa-d (таблетки KBr) наиболее характерной является область 1120–1640 см⁻¹, где наблюдаются полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям связей C=C и

C=N сопряженной системы. Аналогичные колебания C–H-связей бензольных колец находятся в диапазоне 2350–3100 см⁻¹.

Состав полученных веществ также был подтвержден данными масс-спектрометрии [*m/z*: 525 (**IIIa**), 633 (**IIIb**), 561 (**IIIc**), 597 (**IIIId**), 662 (**IIIe**)].

Антибактериальную активность исследовали на тест-культурах микроорганизмов: *Escherichia coli* штамм ATCC25922, *Staphylococcus aureus* штамм Р 209, *Bacillus cereus* штамм varmycolides 537. Антимикробное действие полученных соединений определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде – мясо-пептонном бульоне (МПБ) с последующим высевом на плотную питательную среду – мясо-пептонный агар (МПА) для определения минимальной подавляющей концентрации исследуемых соединений.

Исходные растворы производных 1,3,4-тиадиазола готовили в 50% водном ДМСО («Татхимфармпрепараты», Россия) из-за их ограниченной растворимости в воде.

Для приготовления взвеси бактериальных культур использовали двухсуточные культуры, выращенные на МПА. Готовили взвесь по бактериальному стандарту мутности Мак-Фарланда (2·10⁸ КОЕ/мл), затем полученную суспензию разводили до концентрации 10⁶ КОЕ/мл и вносили по 0,1 мл в каждую пробирку ряда. Микробная нагрузка составляла 10⁵ КОЕ/мл.

Бактериальные культуры выращивали в течение 24 ч при температуре 37 °С. Антимикробный эффект определяли по отсутствию роста тест-микроорганизма в МПБ при минимальной концентрации препарата, а характер противомикробного действия (бактериостатическое или бактерицидное) – при отсутствии роста на плотной питательной среде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве препаратов сравнения были выбраны антимикробные препараты ванкомицин и тейкопланин. По химической структуре они являются гликопептидами и применяются при инфекциях, вызванных грамположительными микроорганизмами.

Золотистый стафилококк (*St. aureus*) является возбудителем гнойно-воспалительных инфекций различной локализации, в том числе госпитальных инфекций, обладает резистентностью ко многим лекарственным препаратам [9]. Из литературных данных известно, что в отношении *St. aureus* минимальная подавляющая концентрация ванкомицина и тейкопланина составляет 1–12,5 мкг/мл [10].

Следует отметить, что все исследуемые соединения обладали бактерицидным действием.

Установлено, что вещества IIIa (исходное соединение) и IIIc (с двумя атомами фтора, введенными в

бензольное кольцо в третьем и пятом положении) проявляли высокую антимикробную активность в отношении стафилококка (МПК – 1,9 и 3,8 мкг/мл соответственно). При введении в молекулу более двух атомов фтора (производные **IIIb**, **IIIc**) отмечали снижение антибактериального действия до МПК 32 мкг/мл (рисунок 1).

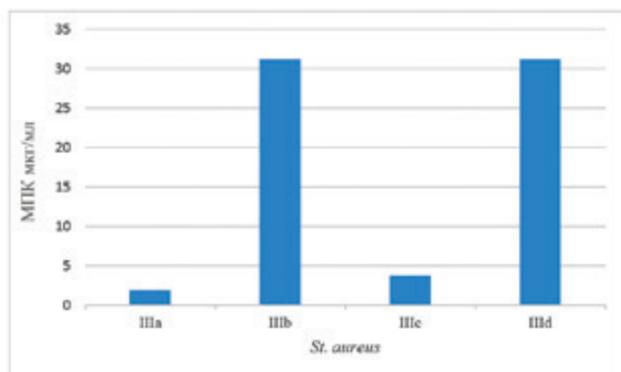


Рисунок 1. Антимикробная активность производных 1,3,4-тиадиазола в отношении *St. aureus*

При изучении активности производных 1,3,4-тиадиазола в отношении *E. coli* установлено, что все исследуемые соединения оказались неактивными, МПК составляла 125 мкг/мл.

Таким образом синтезированные нами производные 1,3,4-тиадиазола проявляли выраженную антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий (*St. aureus*), в связи с этим было исследовано их антимикробное действие в отношении спорообразующих грамположительных бактерий рода *Bacillus*.

В качестве тест-микроорганизма использовали *B. cereus*, который является условно-патогенной бактерией, возбудителем токсикоинфекций. При исследовании антимикробной активности в отношении *B. cereus* удалось установить, что наибольшей активностью также обладают соединения **IIIa** и **IIIc**. Минимальная подавляющая концентрация составляет 1,9 и 3,8 мкг/мл соответственно, что коррелирует с результатами антимикробной активности в отношении *St. aureus*.

Химическая модификация соединений **IIIb** и **IIIд** приводила к снижению антибактериальной активности в 2–8 раз в отношении *B. cereus* (рисунок 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами разработаны эффективные методы получения новых производных 1,3,4-тиадиазола (**IIIa-d**), доказано их строение.

Установлено, что данные соединения обладают антимикробной активностью в отношении грамположительных бактерий *St. aureus*, *B. cereus*. Показано влияние заместителей на проявление антимикробного действия.

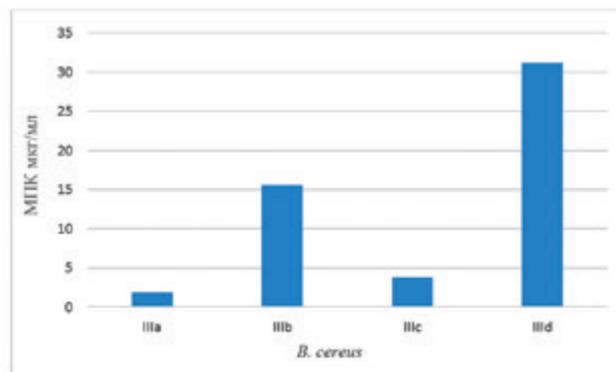


Рисунок 2. Антимикробная активность в отношении спорообразующих бактерий *B. cereus*

Выявлено, что соединения **IIIa** и **IIIc** оказались наиболее активными в отношении *St. aureus* в ряду синтезированных препаратов, а их антимикробный эффект сопоставим с препаратами сравнения.

Полученные результаты позволяют потенцировать соединение **IIIa** как перспективное лекарственное средство, обладающее антибактериальной активностью на уровне существующих на рынке препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

- 10 ведущих причин смерти в мире // Информационный бюллетень ВОЗ. 2014. № 310.
- M. Merelli, M. Bassetti, C. Temperoni, A. Astilean. New antibiotics for bad bugs: where are we? // Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2013. P. 12–22.
- R.P. Wenzel. The antibiotic pipeline—challenges, costs, and values // N Engl J Med. 2004. P. 351; P. 523–526.
- S.E. Cosgrove, D. Sakoulas, E.N. Perencevich, M.J. Schwaber, A.W. Karchmer, Y. Carmeli. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-0 Resistant and Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis // Clin Infect Dis. 2006. P. 53–59.
- R.J. Scheffler, S. Colmer, H. Tynan, A.L. Demain, V.P. Gullo. Antimicrobials, drug discovery, and genome mining // Appl Microbiol Biotechnol. 2013. P. 969–978.
- K. Shalini, N. Kumar, S. Drabu, P.K. Sharma. Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles // Beilstein J Org Chem. 2011. P. 668–77.
- S.F. Barbuceanu, G. Saramet, G.L. Almajan, C. Draghici, F. Barbuceanu, G. Bancescu. New heterocyclic compounds from 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole class bearing diphenylsulfone moieties: synthesis, characterization and antimicrobial activity evaluation // Eur J Med Chem. 2012. P. 417–423.
- L. Yet. Pyrazoles // Comprehensive Heterocyclic Chemistry III. 2008. V. 4. P. 3–141.
- А.Г. Довнар, Е.С. Носонова. Характеристика множественной резистентности клинических штаммов энтеробактерий, ацинетобактериальных кандид // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2011. № 4. С. 53–54.
- Ю.Б. Белоусов, О.В. Филиппова, О.А. Селютин, Д.Ю. Белоусов. Сравнительная характеристика препаратов ванкомицина, зарегистрированных в РФ // Качественная клиническая практика. 2009. № 5.



ИНТЕГРИРОВАННОЕ РЕШЕНИЕ ПО ПОЛУЧЕНИЮ АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ИНГРЕДИЕНТОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ТВЕРДЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ОТ ГК "ФАРМКОНТРАКТ"

Термостат ICS i-Temp si 90e

Контроль температуры в реакторе в диапазоне +20...+90°C. В качестве теплоносителя используется вода под давлением. Малый внутренний объем и высокая мощность нагрева/охлаждения позволяют поддерживать температуру с высокой точностью и быстро компенсировать температурные эффекты процесса.

Моноблочный кулачковый насос Inoxra TLS

Позволяет перекачивать в реактор реагенты и растворители, в том числе жидкости с высокой вязкостью и суспензии. Конструкция насоса обеспечивает возможность безразборной очистки, регулировка расхода осуществляется при помощи частотного преобразователя.

Реакторная система Patent объемом 100 л

Проведение химической реакции при повышенной температуре, в том числе в режиме кипячения растворителя, контролируемая загрузка при помощи мерных емкостей и насоса. Излишки растворителя удаляются после окончания процесса методом прямой дистилляции.

Чиллер Julabo FLW7006

Эффективное охлаждение раствора в кристаллизаторе до температуры -10°C. Чиллер имеет водяное охлаждение и позволяет устанавливать заданное значение температуры в циркуляционном контуре. Мощный насос позволяет осуществить расположение чиллера в удаленном помещении.

Кристаллизатор BuchiGlasUster Mixing vessel 100

В прозрачном аппарате при интенсивном перемешивании происходит охлаждение реакционной массы до выпадения кристаллов продукта. Сосуд имеет вентиль донного слива без «мертвого объема» с большим проходным диаметром для удобства выгрузки образовавшейся суспензии.



Горизонтальная фильтрующая центрифуга Heinkel H 1000 P

Центрифуга периодического действия для эффективного разделения суспензий объемом до 170 л. Встроенная система промывки, управление с ПЛК в полностью автоматическом режиме. Режим предварительного и финального отжима. Выгрузка осадка осуществляется автоматически через боковой порт при помощи специального ножа.

Вакуумно-сушильный шкаф Binder vdi 115

Эффективная сушка порошкообразных АФИ. В комплекте вакуумный мембранный насос, система улавливания паров. Полностью гладкая внутренняя поверхность из нержавеющей стали AISI316L позволяет легко проводить очистку после окончания работы.

Вихревая мельница FPS ProMill 12

Мельница обеспечивает прецизионный размол полученного порошка АФИ до размеров порядка 50-100 мкм. Конструкция обеспечивает наилучшие значения тонины помола. Полностью соответствует фармацевтическим стандартам для оборудования, применяемого для измельчения. Управление процессом осуществляется при помощи PLC-системы.

CIP/SIP-станция Inoxra

Эффективная очистка всех аппаратов технологической цепочки. Независимые контуры для промывки несколькими моющими растворами и стерилизации. Управление процессами мойки и стерилизации осуществляется в полностью автоматическом режиме при помощи ПЛК с сенсорным дисплеем.



УДК 615.076

ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ ПРЕПАРАТОВ АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА НА СОДЕРЖАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ

Т.В. Кукунина^{1*}, А.Г. Исрафилов¹, М.Л. Романенкова¹, Р.С. Гайнуллина¹, Л.Г. Федько¹

Резюме. Рассмотрена проблема определения бактериальных эндотоксинов в препаратах альбумина человека. Для повышения безопасности препаратов рекомендован вариант двойного контроля, включающий биологический контроль на кроликах, а также определение бактериальных эндотоксинов методом ЛАЛ-теста. Описаны причины, обосновывающие необходимость двойного контроля препаратов альбумина человека на содержание пирогенов и бактериальных эндотоксинов, основной из которых является особая природа молекулы альбумина, обратимо связывающая большое количество соединений, в том числе эндотоксины. Изложены известные причины ложноположительных и ложноотрицательных реакций ЛАЛ-теста, а также универсальный вариант пробоподготовки, включающий разведение, температурную обработку и использование специальных диспергирующих агентов.

Ключевые слова: альбумин человека, пирогенность, бактериальные эндотоксины, ЛАЛ-тест, ложноположительные реакции, ложноотрицательные реакции.

PECULIARITIES OF CONTROL OF HUMAN ALBUMIN DRUGS ON THE CONTENT OF BACTERIAL ENDOTOXINS

T.V. Kukurina^{1*}, A.G. Israfilov¹, M.L. Romanenkova¹, R.S. Gaynullina¹, L.G. Fedko¹

Abstract. The problem was considered to determine bacterial endotoxins in human albumin drugs. To improve the safety of medicines the option of dual control was recommended, which includes the rabbit pyrogen test and determining bacterial endotoxins by the LAL-test. The causes described justify the need for dual control of albumin drugs on the content of the pyrogens/bacterial endotoxins, the main of which is the special nature of the albumin molecule reversibly binding a large number of compounds, including endotoxins. There were given known causes of false-positive and false-negative reactions of the LAL-test, and sample preparation variant including dilution, temperature treatment and the use of special dispersing agents.

Keywords: human albumin, pyrogenicity, bacterial endotoxin, LAL-test, false-positive reactions, false-negative reactions.

1 – Филиал ФГУП «НПО «Микроген» в г. Уфа «Иммунопрепарат», 450014, Россия, г. Уфа, ул. Новороссийская, д. 105

1 – Branch of Stock Company «Scientific-production Association «Microgen» in Ufa «Immunopreпарат», 105, Novorossiyskaya str., Ufa, 450014, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: tatianna-kukurina@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Среди препаратов плазмы крови, применяемых в клинической практике, первое место по частоте и объему трансфузий принадлежит человеческому альбумину. Главная и перво-степенная задача производителей препаратов альбумина человека состоит в том, чтобы обеспечить максимальное отсутствие побочных реакций, среди которых пирогенные занимают лидирующее место по частоте и тяжести [1–3]. Пирогены/эндотоксины ответственны за развитие лихорадочных и гемолитических реакций, острой почечной недостаточности, шока, приводящих в некоторых случаях даже к летальному исходу.

Известно, что альбумин может связываться с эндотоксинами, делая их при этом недоступными для определения с помощью ЛАЛ-

теста [4, 5]. В связи с тем, что данное связывание носит обратимый характер, содержание бактериальных эндотоксинов (БЭ) в препаратах альбумина человека при хранении может повышаться, что несет очевидную угрозу здоровью и жизни пациентов. По этой причине за рубежом все препараты альбумина при выпуске подвергаются двойному контролю на содержание бактериальных эндотоксинов и пирогенов, что позволяет снизить риск повышения БЭ во время хранения. В то же время самый простой вариант ЛАЛ-теста, полуколичественный гель-тромб-тест, может не показывать достоверного содержания БЭ в препаратах, при этом могут иметь место как ложноположительные, так и ложноотрицательные реакции. В связи с этим, учитывая высокую актуальность данного вопроса для инфузионных препаратов, особенно для препаратов из плазмы крови, остановимся подробнее на некоторых нюансах контроля БЭ.

Препараты альбумина человека, как и все препараты плазмы крови, должны контролироваться на содержание БЭ с помощью количественных валидированных методов, дающих достоверные результаты, тем более что содержание БЭ относится к показателю безопасности. Для России этот вопрос остается пока открытым, так как основным методом контроля пирогенности остается биологический тест на кроликах.

КОНТРОЛЬ НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ

Основным методом контроля пирогенности долгое время являлся биологический тест на кроликах, который позволял контролировать только готовые препараты. Сущность данного метода заключается во внутривенном введении трем кроликам стерильного раствора и фиксации изменения температуры. При повышении температуры кроликов выше допустимой нормы препарат считается пирогенным [6, 7]. Впервые биологический метод контроля пирогенности на кроликах вошел в Фармакопею США XII издания в 1942 г. [8].

С 1970 по 1974 гг. двенадцатью основными производителями ЧСА в США было получено 219 рекламационных писем о пирогенных реакциях, вызванных инфузиями 25% растворов альбумина человека. Все препараты прошли биологический контроль на кроликах как на момент выпуска, так и на момент отзыва и могли считаться апириогенными [3]. Эти случаи, вероятно, послужили основанием к проведению масштабных исследований по изучению природы пирогенов/эндотоксинов в фармацевтических препаратах, разработки методов их определения и способов удаления.

Ранее было установлено, что в патогенезе пирогенной реакции ключевую роль играют эндотоксины (липополисахариды) [9], которые являются составной частью мембранной оболочки грамотрицательных бактерий. По своему химическому строению эндотоксины являются гетерополимерами, которые включают липидные и полисахаридные фрагменты. Хотя сами по себе эндотоксины не являются токсичными веществами, однако их попадание в организм активирует отдельные звенья иммунной системы, в основном процесс идет через активацию моноцитов и макрофагов, что приводит к высвобождению целого ряда медиаторов воспаления, таких как фактор некроза опухоли, интерлейкины (особенно ИЛ-6 и ИЛ-1), и других агентов. Развитие каскадной противовоспалительной реакции, сопровождающейся повышением температуры и лихорадкой (так называемый эндотоксический шок), может привести к летальному исходу [10, 11].

РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ ЛАЛ-ТЕСТА

Разработка метода определения БЭ была основана на исследовании того факта, что заражение мечехвоста *Limulus polyphemus*, вызванное грамотрицательными бактериями, приводит к обширному внутрисосудистому гемолимфоидному гелеобразованию, что ведет к смерти членистоногого [12]. Последующие работы [13, 14] показали, что такая внутриклеточная коагуляция вызвана реакцией между эндотоксином и коагулирующим белком в амебоцитах, циркулирующих в гемолимфе мечехвоста. Данный принцип в дальнейшем лег в основу коммерческих препаратов для определения эндотоксинов *in vitro* [15]. Поскольку первые исследования проводились на мечехвостах вида *Limulus polyphemus*, препарат, полученный из их крови, был назван лизатом амебоцитов Лимулус или сокращенно ЛАЛ-реактив, анализ получил название ЛАЛ-тест [16]. В 1977 г. этот тест был принят и рекомендован United States Food and Drug Administration (FDA) и Федеральным регистром США (42FR 57749) как стандартный метод определения БЭ [17]. К 1983 г. в руководстве FDA было указано, что ЛАЛ-тест может использоваться для контроля эндотоксинов в готовой лекарственной продукции. Эти тесты были описаны в серии проектов и руководствах, одним из которых являлось руководство FDA по валидации ЛАЛ-теста в качестве теста на эндотоксины готовых парентеральных препаратов медицинского и ветеринарного назначения, биологических продуктов, медицинского оборудования [18]. FDA подтвердило, что опубликованные документы United States Pharmacopeia (USP) и Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI), описывающие методы и способы расчета пирогена, а также допустимые концентрации эндотоксинов, обеспечивают производителей препаратов всей необходимой информацией как на стадиях производства, так и на этапах контроля [19–21].

В дальнейшем данный подход позволил осуществить внедрение ЛАЛ-теста для постадийного контроля производственного процесса, что помогло установить фактическую пирогенность 45% коммерческих серий препарата альбумина человека, считавшихся апириогенными по биологическому тесту на кроликах, а также провести контроль содержания БЭ в процессе производства с выявлением стадий и материалов, ответственных за их внесение.

ВАРИАНТЫ МЕТОДА ЛАЛ-ТЕСТА

Для качественного и количественного определения содержания эндотоксинов разработаны три принципиально отличающихся между собой варианта ЛАЛ-теста [19, 21–23]:

- гель-тромб-тест, в котором результаты оцениваются визуально по образованию устойчивого геля;
- турбидиметрический метод – с инструментальной оценкой результатов по образованию помутнения реакционной смеси;
- хромогенный метод – с инструментальной оценкой результатов по образованию окрашивания, возникающего в результате введения в реакционную смесь хромогенного субстрата взамен коагулогена.

Гель-тромб-тест – это самый простой вариант ЛАЛ-теста и требует минимального лабораторного оборудования. Положительным результатом считается образование твердого гель-тромба на дне реакционной пробирки, который остается без изменений при переворачивании (выдерживает переворачивание без разрушения). Концентрацию эндотоксинов в испытуемом образце можно определить как самое высокое полученное разведение, при котором еще наблюдается коагуляция, умноженное на чувствительность ЛАЛ-реактива [24, 25].

Турбидиметрический метод может проводиться в двух вариантах: по конечной точке и кинетический. Этот тест основан на измерении степени мутности, развивающейся в образце вследствие осаждения коагулогена из ЛАЛ-реактива при увеличении концентрации эндотоксина. Реактив для этого теста содержит коагулоген в количестве, достаточном для образования мутного раствора, но недостаточном для образования твердого геля при действии на лизат эндотоксина [16]. В варианте турбидиметрического метода по конечной точке после необходимого времени инкубирования (обычно 1 ч) проводится измерение оптической плотности (ОП) разведений испытуемого образца (при 405 нм), которая коррелирует с концентрацией эндотоксина по калибровочной кривой, построенной с использованием разведений стандартного образца эндотоксина [24, 26]. Чем выше концентрация эндотоксинов в образце, тем больше абсорбция при фотометрическом измерении. В данном случае количественно определяется только та концентрация эндотоксина, которая может вызывать появление измеримой мутности в течение инкубирования.

В отличие от первого варианта в кинетическом турбидиметрическом методе измерение ОП происходит в течение всего времени инкубирования через одинаковые промежутки времени. Чем выше концентрация эндотоксина в образце, тем быстрее будет протекать реакция и тем меньше времени потребует для достижения предельной ОП.

В 1977 г. Nakamura с соавторами [27] обнаружил, что активированный эндотоксином ЛАЛ-реактив мо-

жет также отщеплять небольшие хромогенные пептиды примерно в тех же местах, что и в коагулогене, этот принцип в дальнейшем и лег в основу хромогенного метода ЛАЛ-теста. Коагулирующий фермент, активированный в каскаде реакций, отщепляет хромофор – *l*-нитроанилин (ПНА) от хромогенного субстрата, вызывая при этом желтое окрашивание. После необходимого времени инкубирования (обычно 1 ч) количество высвобожденного ПНА, которое измеряется фотометрически (при 405 нм), пропорционально количеству эндотоксинов в образце. Чем выше концентрация эндотоксинов, тем быстрее протекает реакция и образуется желтое окрашивание [28, 29].

Хромогенный метод ЛАЛ-теста существует в трех вариантах: первые два – по конечной точке, а третий – кинетический [30]. В обоих вариантах метода по конечной точке вышеописанная реакция останавливается после определенного времени инкубирования путем добавления кислоты, после чего происходит фотометрическое измерение ОП смеси. В первом варианте метода по конечной точке комплекс «пептид – ПНА» используется только как источник окрашивания. Во втором варианте, называемом диазохромогенный метод ЛАЛ-теста, высвобождаемый ПНА присоединяется к диазосоединению. Когда реакция останавливается, итоговая смесь становится ярко-красного цвета и ее оптическая плотность измеряется на более высокой длине волны – 540 нм. Чем выше концентрация эндотоксинов в образце, тем больше ПНА высвобождается из пептида и тем более насыщенный желтый или ярко-красный цвет будет у финальной смеси. Концентрация эндотоксинов в анализируемом образце традиционно находится по калибровочной кривой, построенной относительно стандарта эндотоксина.

Наиболее сложная модификация ЛАЛ-теста – это кинетический хромогенный вариант. Главный принцип этого теста очень похож на описанный выше, то есть активированный фермент катализирует отщепление ПНА от бесцветного субстрата, вызывая при этом появление желтого окрашивания. Однако фотометрическое измерение проводится непрерывно, в течение всего периода инкубирования (обычно 50–60 мин) через постоянные интервалы времени (например, 30 с). Время, прошедшее до появления желтого окрашивания (время реакции), обратно пропорционально количеству присутствующих эндотоксинов в анализируемом образце. В случае присутствия большого количества эндотоксинов реакция протекает мгновенно. Если содержание эндотоксинов в образце низкое, время реакции становится достаточно продолжительным. Расчет концентрации эндотоксинов в образце основан на компьютерном анализе скорости этих изменений [31].

Таблица 1. Сравнение методов ЛАЛ-теста [24]

Характеристики	Метод	Гель-тромб-тест		Турбидиметрический тест		Хромогенный тест			
		2	3	Кинетический	4	По конечной точке	5	Кинетический	6
Стоимость		Самая низкая стоимость оборудования	Относительно недорогое, широко доступное оборудование	От средней до высокой стоимости оборудования	Относительно недорогое, широко доступное оборудование	Самое дорогое оборудование			
Чувствительность		Чувствительный, как правило, до 0,03 ЕЭ/мл	Самый чувствительный (предел обнаружения – до 0,001 ЕЭ/мл)	Самый чувствительный (предел обнаружения – до 0,001 ЕЭ/мл на LAL-5000)	Более чувствительный (предел обнаружения – до 0,005 ЕЭ/мл)	Более чувствительный (предел обнаружения – до 0,005 ЕЭ/мл)			
Рабочий диапазон		Не имеет	0,01–0,1 ЕЭ/мл	0,001–100 ЕЭ/мл	0,01–0,1 ЕЭ/мл	0,005–50 ЕЭ/мл			
Разрешающая способность		±200%	±25%	±25% или 50%*	±25%	±25% или 50%*			
Восприимчивость к мешающим соединениям		Устойчивый, обычно менее восприимчив к мешающим соединениям, чем другие методы	Имеют больше мешающих факторов, чем гель-тромб-тест, но более высокая чувствительность позволяет нивелировать их разведением образцов						
Временной фактор		Строгое считывание результатов через 1 ч	Критично строгое соблюдение времени протекания реакции	Автоматический контроль времени протекания реакции обеспечивается оборудованием	Автоматический контроль времени протекания реакции, более легкая остановка реакции для чтения результатов, чем в турбидиметрическом тесте по конечной точке	Критично строгое соблюдение времени протекания реакции, более легкая остановка реакции для чтения результатов, чем в турбидиметрическом тесте по конечной точке	Автоматический контроль времени протекания реакции обеспечивается оборудованием		
Требования к реакционной посуде		Пробирки из щелочного стекла	Пробирки из боросиликатного стекла или микропланшеты**	Пробирки из боросиликатного стекла (LAL-5000) или микропланшеты**	Пробирки из боросиликатного стекла	Микропланшеты**, иногда пробирки из боросиликатного стекла	Микропланшеты** для быстрого и легкого разведения		
Дополнительная информация		Нормативный метод USP. Легкая интерпретация результатов. Возможность одновременного анализа большого количества образцов	–	LAL-5000: очень хороший температурный контроль; индивидуальный контроль температуры каждой лунки; возможность добавления образцов в процессе анализа	Диазотипные опции позволяют тестировать образцы, поглощающие при 405 нм	–	–		

Примечание: * Разрешающая способность кинетических методов зависит от допустимого диапазона стелени восстановления. В 1987 г. руководство по валидации ЛАЛ-теста FDA установило, что предел восстановления внутренних стандартов составляет ±25%. В 1991 г. FDA в своем промежуточном руководстве по кинетическим ЛАЛ-техникам увеличило диапазон восстановления до ±50%. Это изменение не распространялось на медицинские изделия.

**Микропланшеты практически не могут быть депирогенизированы пользователем самостоятельно. В случае их использования следует ожидать случайно загрязненных лунок («горячих» лунок). По этой причине каждый раз необходимо использовать гарантированно чистые планшеты. В качестве варианта рекомендуются планшеты Ruyorplates фирмы Associates of Care Cod, имеющие сертификат анализа.

В статье «Бактериальные эндотоксины», принятой Европейской Фармакопеей [32], фармакопеями США [19], Японии [33], Китая [34], Российской Федерации [35], разрешается проведение анализа шестью различными методами ЛАЛ-теста (таблица 1):

- a) качественным гель-тромб-тестом;
- b) полуколичественным гель-тромб-тестом;
- c) количественным кинетическим турбидиметрическим тестом;
- d) количественным кинетическим хромогенным тестом;
- e) количественным хромогенным тестом по конечной точке;
- f) количественным турбидиметрическим тестом по конечной точке.

Согласно данным, представленным М.Е. Dawson [24] (таблица 1), наиболее чувствительным вариантом ЛАЛ-теста является турбидиметрический метод. Более широкий рабочий диапазон имеет кинетический метод по сравнению с тестом по конечной точке, что позволяет проводить анализ без дополнительных разведений. Переход от гель-тромб-теста к турбидиметрическому или хромогенному варианту повышает разрешающую способность метода как минимум в 4 раза (с 200 до 50%).

Нормативные документы [18, 36, 37–39] в основном предъявляют близкие требования по содержанию БЭ в препаратах альбумина человека и парентеральных препаратах в целом (таблица 2).

Таблица 2.

Нормативные требования к содержанию БЭ в препаратах альбумина человека

Ссылка на нормативный документ	Метод	ЛАЛ-тест	
		Белок, г/л	Содержание БЭ, ЕЭ/мл
ФС.3.3.2.0006.15 «Альбумин человека», ГФ XIII [36]		50	0,5
		100–200	1,3
		250	1,7
Европейская Фармакопея [37]		не более 50	менее 0,5
		50–200	менее 1,3
		200–250	менее 1,7
Китайская Фармакопея [38]		50	0,50
		100	0,83
		200	1,67
		250	2,08
Требования Японии [39]		50 и 200–250	менее 0,6
Руководство по валидации FDA [18]		50	0,50
		200	1,33
		250	1,67

В китайской ФС [38] предъявляются более мягкие требования по содержанию БЭ (2,08 ЕЭ/мл) для 25% раствора альбумина человека по сравнению с требованиями ГФ XIII [36], ЕФ [37] и FDA [18], однако для 10% раствора альбумина содержание БЭ должно быть не выше 0,83 ЕЭ/мл, тогда как в других, перечисленных выше, нормативных документах допустимым содержанием является 1,3 ЕЭ/мл. Минимальные требования к биологическим продуктам Японии [39] устанавливают наиболее жесткие нормативы содержания БЭ для всех выпускаемых концентраций препарата альбумина человека – 0,6 ЕЭ/мл, в связи с этим можно предположить, что препараты альбумина человека японского производства являются более безопасными по содержанию БЭ во всех выпускаемых концентрациях.

ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ ЛАЛ-ТЕСТА ПО СРАВНЕНИЮ С БИОЛОГИЧЕСКИМ ТЕСТОМ НА КРОЛИКАХ

На сегодняшний день ЛАЛ-тест узаконен многими фармакопеями [19, 32–35] и является альтернативным методом контроля пирогенности. По сравнению с биологическим тестом на кроликах ЛАЛ-тест отличается более высокой чувствительностью (в 10–100 раз), специфичностью и правильностью, кроме того, он считается более экономичным и менее вариabельным, детектирует субпирогенные дозы эндотоксинов, для проведения контроля достаточно небольшого количества образца. Однако метод контроля пирогенности на кроликах является более универсальным в связи с тем, что позволяет выявить пирогенные реакции не только на грамотрицательные бактерии, но и на грамположительные, а также на микобактерии, грибы, вирусы и пр. Несмотря на это, значимым недостатком контроля пирогенности на кроликах является в 10 раз более высокая чувствительность людей к пирогенам по сравнению с кроликами [40, 41], а также известные случаи толерантности отдельных кроликов к пирогенам [42], что может создавать очевидный риск пирогенных реакций для пациентов. Помимо этого, эндотоксины могут находиться в связанном состоянии с альбумином, что приводит к их маскировке и невыявлению. В связи с этим отдельный контроль на содержание эндотоксинов/пирогенов либо тестом на кроликах, либо ЛАЛ-тестом не позволит гарантировать полную безопасность препаратов альбумина человека [8], поэтому многие ведущие производители, основываясь на регламентирующих нормативных документах [43, 44], осуществляют параллельный контроль двумя методами.

Согласно документу European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM) [45] в общей монографии для всех препаратов плазмы крови рекомендован двойной контроль на пирогенность и

эндотоксины. В минимальных требованиях Японии [39] приоритетным методом является тест на эндотоксины, тест на пирогенность проводится только в том случае, когда содержание БЭ превышает установленный критерий 0,6 ЕЭ/мл. Для повышения безопасности по показателю «пирогенность» один из лидеров производства препаратов плазмы крови, фирма Baxter [42], отдает предпочтение ЛАЛ-тесту: частота контроля ЛАЛ-тестом (143 196) в 5 раз превышает частоту проведения теста на кроликах (28 410).

В официальном руководстве Евросоюза по получению разрешения на реализацию серии препарата альбумина человека [44] приводится следующий алгоритм контроля: для промежуточной проверки полуфабриката проводится тест на кроликах, а для официального выпуска серии осуществляется обязательный параллельный контроль как на кроликах, так и с помощью ЛАЛ-теста. Интересен комментарий European Medicines Agency (ЕМЕА) [46]: при наличии противоречивых результатов параллельных тестов – на эндотоксины и пирогены – серии препарата не могут быть выпущены. В монографии Европейской Фармакопеи № 0255 на препарат альбумина человека [37] говорится о приоритетности ЛАЛ-теста только при условии, что все пирогенные субстанции являются эндотоксинами, а также получены положительные результаты валидации метода. В случае отрицательных результатов валидации приоритет отдается тесту на кроликах. При проведении валидации ЛАЛ-теста необходимо применять индивидуальный подход, учитывающий возможность влияния цветности и мутности на результаты хромогенного и турбидиметрического методов [18, 47, 48].

ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ЛОЖНООТРИЦАТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ЛАЛ-ТЕСТА

Несмотря на большой успех в разработке количественных методов определения бактериальных эндотоксинов как в готовом препарате альбумина человека, так и на стадиях технологического процесса, известны определенные трудности с получением достоверных результатов, связанные с ложноположительными и ложноотрицательными реакциями [49–52].

Каждая молекула эндотоксина состоит из длинной цепочки гидрофильного сахара, цепочки гидрофобной жирной кислоты и отрицательно заряженной фосфатной группы, в связи с чем эндотоксины связываются с белками, характеризующимися большим разнообразием. Это связывание изменяет мицеллярную и/или агрегированную структуру, что отражается на изменении активности. H.D Hochstein с соавторами и R.C. Skames с соавторами [50, 52] подтверждают существование явления связывания эндотоксинов и мас-

кировки компонентов, которые могут присутствовать в плазме и ее дериватах. Считается, что липидные участки (липид А) молекул эндотоксина, которые являются чувствительными к ЛАЛ-активации, могут становиться ассоциированными, что приводит к невозможности активирования ЛАЛ-реактива. В пункте 4 официального документа ЕМЕА [53] сообщается об обратимом связывании эндотоксина с альбумином, о возможности отсоединения эндотоксина в любой момент времени и его переходе в свободную форму из-за снижения сорбционной функции альбумина во время хранения. Из всех препаратов данный факт характерен только для препаратов альбумина в связи с тем, что молекула альбумина состоит из гомологичных доменов, два из которых имеют открытый гидрофобный «карман», посредством которого идет связывание с липидной частью молекулы эндотоксина [54]. Переход связанного эндотоксина в свободную форму может вызывать появление пирогенной реакции, несмотря на то, что ранее препарат был апиогенным. Альбумин – единственная в своем роде молекула, с которой связывается до 97–99% любых соединений. Поэтому специальная пробоподготовка, предшествующая самому определению эндотоксинов в препарате альбумина, очень важна и должна обеспечивать полный переход эндотоксинов в свободную форму.

Существует несколько факторов, которые могут вызывать не ложноотрицательные, а ложноположительные реакции при постановке ЛАЛ-теста, например, такими факторами являются сами препараты крови и полинуклеотиды [55]. Другим важным источником ложноположительных реакций являются β -1,3-глюканы из грибов, дрожжей (при несоблюдении правил надлежащей производственной практики), целлюлозных материалов. Эти вещества содержат полимеры глюкозы с различной молекулярной массой, связанные главным образом посредством β -1,3-глюкозидных связей. Если присутствует значительное количество β -1,3-глюканов определенного размерного класса, это может привести к появлению ЛАЛ-реакции, не связанной с присутствием бактериальных эндотоксинов [56, 57].

Исследования, проведенные Гематологическим научным центром Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва, А.В. Карякин), подтверждают присутствие β -1,3-глюканов грибов в отечественных препаратах альбумина человека [58]. Однако в зарубежных аналогах данные примеси обнаружены не были, что обусловлено соблюдением правил надлежащей производственной практики (Good Manufacturing Practice, GMP). В связи с этим для контроля отечественных препаратов альбумина человека требуется использование специфических тест-систем, учитывающих влияние β -1,3-глюканов, во избежание получения завышенных результатов. При отсутствии высокоспецифичных ЛАЛ-тестов рекомендуется ис-

пользование β -блокаторов (например, β -G-Blocker фирмы Lonza) [59] или специальных буферов (например, Glucashield[®] фирмы Associates of Cape Cod) [4]. β -блокатор блокирует чувствительный к глюкозам мостик G в ЛАЛ-реактиве, делая его более специфичным к эндотоксинам. Его использование рекомендуется в случаях ожидаемой и/или подтвержденной контаминации β -1,3-глюканами, а также при условии отрицательного ответа, полученного при анализе концентрированного образца, и положительного ответа при повышении степени разведения и, возможно, отрицательного ответа в наибольшем разведении.

ОСОБЕННОСТИ ПРОБОПОДГОТОВКИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ БЭ

В качестве пробоподготовки при определении эндотоксинов в белковых растворах методом ЛАЛ-теста для удаления эндотоксина из белка предлагается множество методов, однако в РФ официально утвержденных методик или стандартных операционных процедур для препаратов плазмы крови пока не существует. В доступной литературе предлагается обработка перхлорной кислотой [60], фенольная экстракция [61], метод разведения-нагрева [62]. Однако обычные методы – обработка солями, детергентами [63, 64], ультрафильтрация, температурная обработка – часто оказываются неэффективными либо требуют разведения в 10^6 раз [5], что является неприемлемым для гель-тромб-теста. При использовании принципа разведения пробы до нивелирования усиливающего или ингибирующего эффекта мешающих соединений происходит значительное снижение чувствительности метода, так как может понадобиться высокая степень разведения, превышающая предел чувствительности ЛАЛ-реактива. Так, по данным Laurie Fife [65], только концентрация альбумина менее 0,1% не интерферирует с определением эндотоксинов, что требует разведения 20% раствора альбумина человека как минимум в 200 раз, 10% – в 100 раз, 5% – в 50 раз и использования высокочувствительных турбидиметрических и хромогенных методов ЛАЛ-теста. Так, с учетом чувствительности обычно используемого гель-тромб-теста (0,03 ЕЭ/мл) и предельного содержания БЭ в препаратах альбумина человека, согласно ЕФ и ГФ XIII (для 5% раствора альбумина – менее 0,5 ЕЭ/мл, для 10% – менее 1,3 ЕЭ/мл, 20 и 25% – менее 1,7 ЕЭ/мл) [36, 37] необходимые максимально допустимые разведения составят соответственно 16,7; 43,3; 56,7, что, к сожалению, не удовлетворяет необходимым вышеприведенным уровням разведений для снижения влияния мешающих соединений.

По этой причине гель-тромб-тест не может быть использован для контроля БЭ в препаратах альбумина, во-первых, из-за низкой чувствительности метода, а во-вторых, из-за полуколичественной оценки резуль-

татов и невозможности проведения валидации метода в качестве количественного теста. Выходом из создавшейся ситуации является использование только количественных, более высокочувствительных хромогенных или турбидиметрических методов определения эндотоксинов по конечной точке или кинетических. Широкий линейный диапазон данных методов (определяется как отношение максимальной точки линейного диапазона к минимальной и составляет, согласно данным, приведенным в таблице 1, от 10^3 до 10^5 , является безразмерной величиной, так как \max ЕЭ/мл / \min ЕЭ/мл в отличие от гель-тромб-теста позволяет провести валидацию метода при необходимых разведениях препарата альбумина, исключая влияние мешающих соединений [66]. Поэтому на сегодняшний день фирмой Baxter 55% всех ЛАЛ-тестирований осуществляется кинетическим методом (не гель-тромб-тестом), который дает как минимум в 2 раза меньшую величину отклонений по сравнению с гель-тромб-тестом [42].

Однако при определении содержания эндотоксинов в растворе альбумина, сыворотке или плазме крови хромогенным методом на измерение поглощения при 405 нм может оказывать влияние желтый цвет анализируемого образца. В этом случае рекомендуется методом диазотирования перевести высвобожденный хромофор ПНА в азокраситель красного цвета, что позволит повысить чувствительность метода примерно в 2 раза [16], или использовать турбидиметрический метод.

Для устранения эффекта ингибирования и перевода связанных эндотоксинов в свободную форму, а также для удаления мешающего влияния белков и пептидов рекомендуется использовать специальные диспергирующие агенты. Так, фирма Lonza на этапе пробоподготовки предлагает использовать диссоциирующие агенты как других фирм (BioDtech, Inc.'s EndoPrep[™]) [5], так и своего производства (Pyrosperse[™], Dispersing Agent) [67]. Pyrosperse[™] Dispersing Agent представляет собой свободный от эндотоксинов раствор металломофицированного полиэлектролита, относящегося к группе металломофицированных полианионных диспергирующих веществ. Его применение рекомендуется для препаратов, в которых причиной ингибирования является связывание эндотоксинов или присутствие маскирующих компонентов. На сегодняшний день Pyrosperse[™] Dispersing Agent с успехом применяется для ЛАЛ-тестирования таких препаратов, как человеческий сывороточный альбумин 5 и 25%, фракция белков плазмы, растворы электролитов, антигемофильный фактор, липидные эмульсии и др. Диспергирующий реагент добавляется к тестируемому образцу до самого ЛАЛ-тестирования. Его концентрация подбирается индивидуально, посредством экспериментов. Однако проведенные исследования показали, что концентрации Pyrosperse[™]

Dispersing Agent, превышающие или эквивалентные 1/2,5 (объем/объем), не являются эффективными. Поэтому рекомендуется добавлять его таким образом, чтобы финальная концентрация в анализируемом образце составляла 1/50 [67].

Известно, что наибольшие сложности возникают при определении бактериальных эндотоксинов в крови, плазме или препаратах, полученных из них [16]. Однако эту проблему можно решить, проводя специальную пробоподготовку, включающую разведение, температурную обработку и воздействие специальных агентов [68, 69].

Так, предлагается проводить следующую пробоподготовку [69, 70], включающую температурную обработку (при 60–65 °С в течение 30 мин или при 37 °С в течение 60 мин), снижение ионной силы (рН) до значения 1–4 (посредством подбора необходимого разведения и ионной силы) и деградацию не сериновыми протеазами (к 30 мкл образца добавляется 270 мкл ESP™-буфера № 1 с кислым значением рН, содержащим двухвалентные катионы, и 30 мкл ESP™-раствора протеаз, далее проводится инкубирование при перемешивании на водяной бане при 37 °С в течение 30–180 мин). После протеолиза к 50 мкл полученного раствора добавляется 450 мкл ESP™-буфера № 2 для достижения нейтрального значения рН и проводится тестирование. При проведении валидации метода определяется время, необходимое для протеолиза по данным электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ), дающее максимальный выход по эндотоксинам.

Сотрудниками фирмы Lonza также разработана специальная методика определения содержания БЭ, которая может быть использована как для контроля как препаратов крови, включая альбумин, так и плазмы крови, сыворотки [68]. В случае контроля плазмы должна использоваться плазма после удаления лейкоцитов и тромбоцитов, путем центрифугирования на низких скоростях. Препараты из сыворотки крови, цельная кровь после удаления фибриногена, коагулянтов, клеток крови и т.д. могут быть протестированы тем же способом, что и плазма крови. Процедура пробоподготовки образца включает в себя последовательное выполнение нескольких этапов, таких как (1) разведение образца плазмы или сыворотки в соотношении 1:10 (но не ниже, чем 1:3, так как образцы могут коагулировать при более низких разведениях) с помощью воды для ЛАЛ-теста; (2) инкубирование при 70 °С не менее 15 мин (температура и длительность инкубирования могут подбираться индивидуально); (3) проведение двукратных разведений с помощью воды для ЛАЛ-теста первоначально разведенного (в 10 раз) и проинкубированного (при 70 °С в течение 15 мин) образца.

Некоторые образцы препаратов могут потребовать подбора оптимальных условий – более или менее длительного инкубирования и/или большей или меньшей температуры инкубирования – для получения достоверного коэффициента восстановления положительного контроля испытуемого образца (Positive Product Control recovery, PPC recovery), степени восстановления, отвечающего валидационным критериям по правильности и воспроизводимости (отношение обнаруживаемого количества эндотоксинов к внесенному в %). Допустимые количественные критерии по PPC recovery 50 (75) % приведены в таблице 1 [24]. Приведенные условия инкубирования (15 мин при 70 °С) являются примерными и могут меняться в зависимости от получаемых результатов.

Для самого контроля БЭ в большинстве препаратов крови фирмой Lonza рекомендуется использовать набор Pyrogen-5000, так как при его использовании наблюдается наименьшее влияние мешающих факторов и минимальное искажение результатов анализа. Кинетический набор Kinetic-QCL Assay также может быть использован, однако в этом случае потребуются проводить большие разведения для достижения подобного коэффициента восстановления положительного контроля испытуемого образца. Если анализируемый образец содержит антикоагулянт, такой как гепарин или ЭДТА, то может потребоваться использование раствора MgCl₂ для преодоления хелатирующего эффекта антикоагулянтов [68]. В этом случае первое десятикратное разведение до инкубирования также проводится с помощью воды для ЛАЛ-теста, в то время как последующие двукратные разведения выполняются с помощью 10 мМ раствора MgCl₂. Само проведение ЛАЛ-теста осуществляется согласно инструкции к набору или нормативной документации, стандартной операционной процедуре.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для повышения безопасности и конкурентоспособности отечественных препаратов альбумина человека производителям и контролирующим органам необходимо проводить двойной контроль препаратов на пирогены/эндотоксины, а именно осуществлять параллельный контроль пирогенности (*in vivo*) биологическим тестом на кроликах и контроль на бактериальные эндотоксины (*in vitro*) количественным ЛАЛ-тестом (хромогенным или турбидиметрическим) с использованием специальной пробоподготовки, способствующей переводу связанной формы эндотоксинов в свободную, доказанной валидационными протоколами. Это позволит в максимальной степени снизить риск побочных реакций у пациентов, вызванных БЭ/пирогенами, а также гарантировать безопасность по БЭ в течение всего срока годности не только самих препаратов альбумина человека, но также и лекарственных средств, содержащих в своем составе альбумин в качестве стабилизатора.

ЛИТЕРАТУРА

- G. Yamey. Albumin industry launches global promotion // *BMJ*. 2000. V. 320(7234). P. 533.
- T. Zhou et al. Review of the rational use and adverse reactions to human serum albumin in the People's Republic of China // *Patient Prefer Adherence*. 2013. V. 7. P. 1207–1212.
- A.C. Steere, M.K. Rifaat, E.B. Seligmann et al. Pyrogen reactions associated with the infusion of normal serum albumin (human) // *Transfusion*. 1978. V. 18 (1). P. 102–107.
- M.E. Dawson. Interference with the LAL test and how to address it. Associates of Cape Cod, Inc., Woods Hole, Massachusetts // *LAL Update*. 2005. V. 22(3). P. 1–6.
- Improved endotoxin detection in protein/peptide and antibody samples using EndoPrep™. EndoPrep™ Application notes – Rev 1 09-11-08 // *BioDtech*. 2008. P. 1-10. URL: <http://www.endotoxin-test.com/endo-prep-sample-treatment-proteins-antibodies-peptides/> (дата обращения 22.12.2017).
- Chapter 2.6.8. Pyrogens // *European pharmacopoeia* 8.0. 2013.
- Chapter <151>. Pyrogen Test // *United States Pharmacopoeia*. 2011.
- M.E. Weary. A short history of the Limulus amoebocyte lysate (LAL) test // *Endo-safe Times*. 2007. V. 13 (1). URL: http://www.biobit.ro/produse/documente/qc_mm_n_endo_safe_times_august_2010.pdf (дата обращения 17.12.2017).
- E.T. Rietschel, T. Kirikae, F.U. Sveda et al. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function // *FASEB J*. 1994. V. 8. P. 217–225.
- V. Liebers, T. Brüning, M. Raulf-Heimsoth. Occupational endotoxin-exposure and possible health effects on humans // *Am J Ind Med*. 2006. V. 49. P. 474–491.
- E.S. Van Amersfoort, T.J.C. Van Berkel, J. Kuiper. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock // *Clin. Microbiol. Rev*. 2003. V. 16. P. 379–414.
- F.B. Bang. A bacterial diseases of *Limulus polyphemus* // *Bull Johns Hopkins Hosp*. 1956. V. 98. P. 325–351.
- J. Levin, F.B. Bang. Clottable protein in *Limulus*: its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin // *Thromb Diath Haemorrh*. 1968. V. 19. P. 186–197.
- J. Levin, F.B. Bang. The role of endotoxin in the extracellular coagulation of *Limulus* blood // *Bull Johns Hopkins Hosp*. 1964. V. 115. P. 265–274.
- J. Levin et al. History of the *Limulus* Lysate Test // *Bacterial endotoxins: structure, biomedical significance, and detection with the Limulus Amoebocyte Lysate Test*. – N.Y.: Alan R. Liss, Inc., 1985. P. 3–28.
- А.Г. Ситников, Л.А. Травина, В.А. Багирова. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности. – М. 1997. 96 с.
- Licensing of *Limulus* Amoebocyte Lysate, Use as an Alternative for Rabbit Pyrogen Test. 42 FR 57749. November 4, 1977.
- Guideline on Validation of the *Limulus* Amoebocyte Lysate Test As an End-product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs // *Biological Products and Medical Devices*. U.S. FDA. December 1987/June 2011.
- Chapter <85>. Bacterial Endotoxins Test // *United States Pharmacopoeia* 36. *United States Pharmacopoeia Convention*, Rockville, MD, 2012. 90 p.
- Chapter <161>. Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Device // *United States Pharmacopoeia* 36. 2012. 131 p.
- ANSI/AAMI ST72:2011/(R)2016. Bacterial endotoxins – Test methods, routine monitoring, and alternatives to batch testing. Association for the Advancement of Medical Instrumentation, Arlington, VA, 2011.
- 3.4. Test for bacterial endotoxins. Document QAS/11.452 FINAL / *World Health Organization*, July 2012. P. 1–13. URL: http://www.who.int/medicines/publications/pharmacopoeia/Bacterial-endotoxins_QAS11-452_FINAL_July12.pdf (дата обращения 10.12.2017).
- ICH guideline Q4B. Annex 14 to Note for Evaluation and Recommendation of Pharmacopoeial Texts for Use in the ICH Regions on Bacterial Endotoxins Tests – General Chapter. EMA/CHMP/ICH/529785/2010 *European Medicines Agency*, September 2010, pp. 1-10. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2012/12/WC500136403.pdf (дата обращения 10.12.2017).
- M.E. Dawson. A wealth of options. Choosing an LAL test method. Associates of Cape Cod, Inc., Woods Hole, Massachusetts // *LAL Update*. 1995. V. 13 (3). P. 1–6.
- R.L. Górný, J. Douwes, P. Versloot, D. Heederik, J. Dutkiewicz. Application of the classic *Limulus* test and the quantitative kinetic chromogenic LAL method for evaluation of endotoxin concentration in indoor air // *Ann Agric Environ Med*. 1999. V. 6. P. 45–51.
- Lonza: *Limulus* Amoebocyte Lysate (LAL) PYROGENT®-5000. Cat. № N383, N384, N588, N688. Lonza. – Walkersville. 2007.
- S. Nakamura, T. Morita, S. Iwanaga, M. Niwa, K. Takahashi. A sensitive substrate for the clotting enzyme in horseshoe crab hemocytes // *J Biochem*. 1977. V. 81. P. 1567–1569.
- Limulus* Amoebocyte Lysate CHROMO-LAL for the Detection and Quantitation of Gram-negative Bacterial Endotoxins (Lipopolysaccharides). Associates of Cape Cod, Inc. Cat. № C0031. ACC, Falmouth, 2007.
- S. Iwanaga, T. Morita, T. Harada, S. Nakamura, M. Niwa, K. Takada, T. Kimura, S. Sakakibara. Chromogenic substrates for horseshoe crab clotting enzyme. Its application for the assay of bacterial endotoxins // *Hemostasis* 1978. V. 7. P. 183–188.
- M.J. Devleeschouwer, M.F. Cornil, J. Dony. Studies on the sensitivity and specificity of the *Limulus* amoebocyte lysate test and rabbit pyrogen assays // *Appl Environ Microbiol*. 1985. V. 50. P. 1509–1511.
- Limulus* Amoebocyte Lysate (LAL) Kinetic-QCL. Cat. № 50-650. Cambrex, Walkersville, 2008.
- Chapter 2.6.14. Bacterial endotoxins // *European pharmacopoeia* 8.0, 2013.
- 4.01. Bacterial Endotoxins Test // *Japanese pharmacopoeia* XIV. Chapter 6. P. 20–23.
- Test for Bacterial Endotoxin // *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, Volume III. Appendix XII. 2015. P. A120–A124.
- ОФС.1.2.4.0006.15. Бактериальные эндотоксины // *Государственная фармакопея Российской Федерации*. XIII изд. 2015. URL: <http://pharmacopoeia.ru/of-1-2-4-0006-15-bakterialnye-endotoksiny/> (дата обращения 10.12.2017).
- ФС.3.3.2.0006.15. Альбумин человека // *Государственная фармакопея Российской Федерации*. XIII изд. 2015. URL: <http://pharmacopoeia.ru/fs-3-3-2-0006-15-albumin-cheloveka/> (дата обращения 15.10.2017).

37. Human Albumin solution 01/2013:0255 // European pharmacopoeia 8.0. Chapter 0255. 2013.
38. Monographs Human Albumin // Pharmacopoeia of the people's republic of China. V. III. 2005. P. 175–177.
39. Human albumin. 3.9. Pyrogen test // Minimum requirements for biological products. National institute of infectious diseases Japan. 2006. P. 217–218.
40. J.F. Cooper, J. Levin, H.N. Wagner. Quantitative comparison of *in vitro* and *in vivo* methods for the detection of endotoxin // J. Lab. Clin. Med. 1971. V. 78. P. 138–148.
41. S.M. Wolff. Biological effects of bacterial endotoxins in man // J. Infect. Dis. 1973. V. 128s. P. 251–256.
42. Determination of the bacterial endotoxin in pharmaceutical raw material, finished products and water for injection (WFI) using lysate and control standard endotoxin and bacterial endotoxin test method validation. URL: <https://www.pharmaguideline.com/2011/04/bacterial-endotoxin-test-bet-validation.html> (дата обращения 22.12.2017).
43. Guidance for Industry. Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers, FDA, June 2012. URL: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm31471B.htm> (дата обращения 22.12.2017).
44. Official Control Authority Batch Release of Human Albumin. Guideline for Human Albumin. Human Blood Derived Medical Products / Council Directive 2001/83/EC formerly 89/381/EEC, amended by Directive 2004/27/EC, EDQM, 2012.
45. Technical Guide for the Elaboration and Use of Monographs on Human Plasma-derived Products // European Pharmacopoeia. EDQM, 2015.
46. Overview of Comments Received on the Guideline on the Replacement of Rabbit Pyrogen Testing by an Alternative Test for Plasma Derived Medical Products (EMA/CHMP/BWP/452081/2007).
47. Endotoxins: Pyrogens, LAL Testing and Depyrogenation / Ed. by K.L. Williams. – Boca Raton: CRC Press, 2007. 440 p.
48. T.J. Joiner, P.F. Kraus, T.C. Kupiec. Comparison of endotoxin testing methods for pharmaceutical products // International Journal of Pharmaceutical Compounding. 2002. V. 6. № 6. P. 408–409.
49. A. Gardi, G. Arpagaus. The Limulus Amebocyte lysate test, a useful tool for the control of plasma fractions // Develop. Biol. Standard. 1977. V. 34. P. 21–26.
50. H.D. Hochstein, E.G. Seligmann, R.B. Marquina, E. Rivera. Limulus Amebocyte lysate testing in normal serum albumin (human) // Develop. Biol. Standard. 1979. V. 44. P. 35–52.
51. J. Levin, P.A. Tomasulo, R.S. Oser. Detection of endotoxemia in human blood and demonstration of an inhibitor // J. Lab. Clin. Med. 1970. V. 75. P. 903–911.
52. R.C. Skames, N.Y. Ann. The inactivation of endotoxin after interaction with certain proteins of normal serum // Acad. Sci. 1966. V. 133. P. 644–662.
53. Guideline on the Replacement of Rabbit Pyrogen Testing by an Alternative Test for Plasma Derived Medicinal Products. Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency. Doc. Ref. EMA/CHMP/BWP/452081/2007. – London. 2009.
54. S.A. David, P. Balaram, V.I. Mathan. Characterization of the interaction of lipid A and lipopolysaccharide with human serum albumin: implications for an endotoxin carrier function for albumin // Journal of Endotoxin Research. 1995. V. 2. № 2. P. 99–106.
55. R. Elin, S. Wolff. Nonspecificity of the Limulus Amebocyte Lysate test: Positive reactions with polynucleotides and proteins // J. Infect. Diseases. 1973. V. 128. P. 349–352.
56. P.F. Rolansky, T.J. Novitsky. Sensitivity of Limulus Amebocyte Lysate (LAL) to LAL-reactive glucans // J. Clinical microbiology. 1991. V. 29. P. 2477–2483.
57. A. Kakinuma, T. Asano, H. Torri, Y. Sugino. Gelation of Limulus amebocyte lysate by an antitumor (1→3)-β-D-glucan // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1981. V. 101. P. 434–439.
58. А.В. Карякин. Отечественные препараты крови и проблемы соответствия международным требованиям // Гематология и трансфузиология. 2012. № 3. Приложение. С. 112–113.
59. Beta-G-Blocker Kit Cat. № N190. Lonza, Walkersville, 2013. URL: http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_B-G-Blocker_Product_Insert.pdf (дата обращения 15.12.2017).
60. T. Obayashi. Addition of perchloric acid to blood samples for colorimetric limulus test using chromogenic substrate: comparison with conventional procedures and clinical applications // J. Lab. Clin. Med. 1984. V. 104(3). P. 321–330.
61. O. Westphal, O. Luderitz, F. Blister. Extraction of bacteria with phenol/water // Naturforsch. B: Anorg. Chem. Org. Chem. Biochem. Biophys. Biol. 1952. V. 7B. P. 148–155.
62. R.I. Roth, F.C. Levin, J. Levin. Optimization of detection of bacterial endotoxin in plasma with the Limulus test // J. Lab. Clin. Med. 1990. V. 116(2). P. 153–161.
63. J.A. Rudbach, K.C. Milner. Reaction of endotoxin and surfactants. III, Effect of sodium lauryl sulfate on the structure and pyrogenicity of endotoxin // Canadian J. of Microbiol. 1968. V. 14. P. 1173–1178.
64. K.J. Sweadner, M. Forte, L.L. Nelson. Filtration removal of endotoxins (pyrogens) in solution in different states of aggregation // J. Applied and Environmental Microbiology. 1977. P. 382–385.
65. Medical Devices and LAL Testing. Associates of Cape Cod, Inc. Hong Kong, 2008. URL: http://www.service.hkpc.org/bme2008/CPD_Activities/Powerpoint_LAL.pdf (дата обращения 15.12.2017).
66. Rapid Micro Methods PTS – LAL. Endosafe Products and services. Charles river laboratories. P. 1–36. URL: <https://www.yumpu.com/en/document/view/31599122/rapid-micro-methods-pts-a-lal-cvg> (дата обращения 22.12.2017).
67. Pyrospense™ (dispersing agent). Cat. № N188. Lonza, Walkersville, 2014. URL: http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_PYROSPERSE_Product_Insert.pdf (дата обращения 15.12.2017).
68. Lonza Manuals Product Instructions. Serum Plasma Testing with PYROGENT-5000 and Kinetic-QCL Assays. Technical Tips. URL: <http://www.phmb.com/campaigns/pharmabiotech/linkedin-qc-sst/qc-tech-tip-serum-plasma.aspx> (дата обращения 22.12.2017).
69. Accurate Endotoxin Detection in Human Plasma With ESP™. Endotoxin Sample Preparation (ESP™) Kit // ESP™ Application Notes. BioDtech, Inc. 2014. Rev 2 11-13-14. P. 1–9. URL: <http://biodtechinc.com/wp-content/uploads/2014/09/ESP-Application-Note.pdf> (дата обращения 17.12.2017).
70. Patent US № 8921063 B2. Enhancing endotoxin detection / M.G. Pepe, M.K. Champion.

УДК 615.074

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ НОСИТЕЛЕЙ И КЛЕТОЧНЫХ ФОРМ ВИНКРИСТИНА И ВИНБЛАСТИНА ПРИ ХРАНЕНИИ

О.В. Тринеева^{1*}, А.Д. Халахакун¹

Резюме. Сотрудниками кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии были получены модифицированные формы известных в терапии онкологических заболеваний терпеноиндольных алкалоидов (ТИА) – винкристина (VCR) и винбластина (VBL) путем их включения в эритроцитарные носители (ЭН). Данный способ модификации позволяет решить одновременно проблемы направленного транспорта данных эффективных противоопухолевых препаратов и снижения частоты и силы побочных эффектов, а следовательно, и увеличения комплаентности больных к назначенному лечению. В данной работе проведены исследования стабильности и сроков годности инкапсулированных ТИА в ЭН. Установлено, что выдерживание ТИА-инкапсулированной эритроцитарной формы при температуре +4 °С до 7 дней является оптимальным условием для хранения ТИА-препаратов без значительного снижения терапевтической дозы (не ниже 95% от инкапсулированного количества).

Ключевые слова: винкрисдин, винбластин, направленный транспорт лекарственных веществ, эритроцитарные носители, степень гемолиза эритроцитов.

STUDY OF STABILITY OF CELL CARRIERS AND CELLULAR FORMS OF VINKRISTIN AND VINBLASTIN IN STORAGE

O.V. Trineeva^{1*}, A.J. Halahakoon¹

Abstract. Employees of the department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology received modified forms of terpene-indole alkaloids (TIA) – vincristine (VCR) and vinblastine (VBL) known in the therapy of oncological diseases by incorporating them into erythrocyte carriers (EN). This method of modification allows solving simultaneously the problems of directional transport of effective antitumor drugs and reducing the frequency and strength of side effects, and, consequently, increasing the patient's compliance to the prescribed treatment. In this paper, stability and shelf life studies of encapsulated TIAs in EN have been carried out. It was found that keeping TIA encapsulated erythrocyte form at +4 °C for 7 days is the optimal condition for storage of TIA preparations without significant reduction of the therapeutic dose (not less than 95% of the encapsulated amount).

Keywords: vincristine, vinblastine, directed transport of medicinal substances, erythrocyte carriers, degree of hemolysis of erythrocytes.

1 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

1 – Voronezh State University, 1, Universitetskaya pl., Voronezh, 394006, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: trineevaov@mail.ru

Тел.: 8 (473) 253 07 89

ВВЕДЕНИЕ

Направленный транспорт лекарственных веществ – это способ модификации для улучшения их поступления в ткани-мишени [1]. Кроме того, стоимость разработки направленного транспорта известных антибактериальных и противоопухолевых препаратов в разы уступает стоимости разработки новых лекарственных средств. Это объясняется двумя причинами: во-первых, тем, что обычно в качестве носителей используются мицеллы (липосомы), наночастицы, биополимеры и аутологичные форменные элементы крови, для большинства которых вопросы биобезопасности хорошо изучены; во-вторых, «старые» препараты имеют мощное доклиническое и клиническое досье. Именно поэтому для модифицированного лекарственного средства («старый» препарат плюс носитель) чаще всего достаточ-

но проведения ограниченного изучения токсичности и эффективности [1, 2]. При этом достаточно часто за рамками исследований остаются вопросы изучения фармакокинетики модифицированных лекарственных средств [1].

В литературе имеются сведения о возможности использования клеточных носителей (КН) в качестве систем доставки различных лекарственных средств к патологически измененным органам и клеткам-мишеням. В научных публикациях пока отсутствуют сведения о применении КН для винкристина (VCR) и винбластина (VBL) – высокотоксичных противоопухолевых алкалоидов группы индола, входящих в стандарты лечения некоторых онкологических заболеваний. В связи с этим актуальным является исследование возможности применения КН для загрузки VCR и VBL с целью уменьшения побочных явлений, улучшения эффективности препарата и переносимости

химиотерапии. Особенную актуальность приобретают исследования стабильности и сроков годности модифицированного лекарственного средства.

Сотрудниками кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии были получены модифицированные формы известных в терапии онкологических заболеваний терпеноиндольных алкалоидов (ТИА) – VCR и VBL путем их включения в эритроцитарные носители (ЭН) [3]. Для получения эритроцитарной клеточной формы VCR и VBL использовали модифицированный метод гипоосмотического лизиса. При этом получали по четыре серии ЭН с загруженными ТИА-препаратами (VCR_Ery I-IV, а также VBL_Ery I-IV). Загрузку эритроцитов ТИА проводили также при наличии в среде инкубации модифицирующих агентов: апротонного растворителя – диметилсульфоксида (ДМСО), полиэтиленгликолей (ПЭГ-4000, ПЭГ-400) и аденозинтрифосфата (АТФ). Данный способ модификации позволяет решить одновременно проблемы направленного транспорта данных эффективных противоопухолевых препаратов и снижения частоты и силы побочных эффектов, а следовательно, и увеличения комплаентности больных к назначенному лечению.

Цель работы – изучение стабильности клеточных носителей с включенными ТИА при хранении в различных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве ТИА-препаратов применяли винкристина сульфат и винбластин сульфат, которые соответствовали требованиям частных фармакопейных статей государственных фармакопей (ГФ): США – UPS 30-NF25 («VINBLASTINE SULFATE FOR INJECTION», PF 32(5), Pg. 1470, USP Reference standards; «VINBLASTINE SULFATE», PF 32(5), Pg. 1470, USP Reference standards; «VINCRISTINE SULFATE FOR INJECTION», PF 32(5), Pg. 1470, USP Reference standards; «VINCRISTINE SULFATE FOR INJECTION», PF 32(5), Pg. 1470, USP Reference standards; «VINCRISTINE SULFATE», PF 32(5), Pg. 1470); Европы – EPh. 8 («VINCRISTINE SULFATE», Pg. 3536; «VINBLASTINE SULFATE», Pg. 3535); Японии – J.Ph. XVII («VINCRISTINE SULFATE», Pg. 1764; «VINBLASTINE SULFATE», Pg. 1762); Британии – BPh 2013. Были использованы следующие препараты: «Винкрестин-Тева», раствор для внутривенного введения, 2 мг / 2 мл (рег. № П N015355/01 от 18.09.08, Teva Pharmaceutical Industries, Израиль / PHARMACHEMIE, Нидерланды); «Веро-винкрестин», раствор для внутривенного введения, 1 мг / 2 мл [рег. № Р N002383/01-2003 от 02.04.08, «ЛЭНС-ФАРМ» (Россия)]; «Винкрестин-Рихтер», лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, 1 мг (код EAN: 5997001358955; рег. № П N014883/01, 2008-06-11); «Винбластин-ЛЭНС», лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, 5 мг [рег. № Р N000203/01 от 18.08.06, «ЛЭНС-ФАРМ» (Россия), дочерняя компания «ВЕРО-ФАРМ» (Россия)].

Для изучения стабильности клеточных носителей с включенными ТИА образцы инкубировали в Na-фосфатном буферном растворе («ПанЭко», Россия, серия 1116) при различных температурах. Стабильность ЭН с включенными ТИА определяли по высвобождению гемоглобина из эритроцитов при хранении. Степень гемолиза эритроцитов – показатель, демонстрирующий способность сохранения целостности эритроцитов при хранении. При высокой степени гемолиза эритроцитов теряется способность сохранять терапевтическую концентрацию ТИА-препаратов.

Определение степени гемолиза ТИА-инкапсулированных эритроцитов: 0,5 мл ТИА-инкапсулированных эритроцитов инкубировали в 10 мл Na-фосфатного буферного раствора при +4 °С, +10 °С и комнатной температуре. Из каждой пробы взято 8 мл супернатанта. 0,5 мл полученного супернатанта разбавляли до 10 мл Na-фосфатным буферным раствором и измеряли оптическую плотность полученного раствора при длине волны 540 нм относительно 0,01 М Na-фосфатного буферного раствора (спектрофотометр Hitachi U-1900, Япония).

Контрольная проба: 0,5 мл свежезолированных эритроцитов дважды промывали изотоническим раствором натрия хлорида и инкубировали их в Na-фосфатном буферном растворе при соответствующей температуре в течение 6 ч. Степень гемолиза рассчитывали по формуле:

$$K_{(Hb)} = \frac{A_{(ТИА-ЭН)}}{A_{(КЭ)}}$$

где $K_{(Hb)}$ – степень гемолиза, $A_{(ТИА-ЭН)}$ – оптическая плотность ТИА-инкапсулированных эритроцитов, $A_{(КЭ)}$ – оптическая плотность контрольных эритроцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты, представленные в таблице 1 и на рисунке 1, показывают, что температура и продолжительность хранения значительным образом влияют на стабильность КН, заполненных изучаемыми алкалоидами. Так, увеличение температуры в первый день хранения с +4 до +10 °С несущественно увеличивает степень гемолиза ЭН, в то время как при хранении при температуре +20 °С данный показатель возрастает в среднем в 1,5 раза относительно образцов, хранившихся при температуре +4 °С и в 1,3 раза по сравнению с контролем. Продолжительность хранения увеличивает степень гемолиза ЭН с включенными ТИА-препаратами на третьи сутки в 1,7 раза, а на шестые сутки – в 2,5 раза. Из полученных результатов видно, что хранение ТИА-инкапсулированных ЭН при температуре +4 °С в Na-фосфатном буферном растворе является оптимальным. В дальнейшем для опреде-

Таблица 1.

Степень гемолиза ТИА-инкапсулированных эритроцитарных форм при хранении в различных условиях

Форма ЭН	1 день			3 день			6 день		
	Температура, °С			Температура, °С			Температура, °С		
	4	10	20	4	10	20	4	10	20
ЭН (Ery)	1,028	1,057	1,415	1,764	1,849	2,057	2,283	2,528	3,028
VCR_EryI	1,189	1,236	1,764	1,943	2,34	2,811	2,887	3,094	3,575
VCR_Ery II	1,142	1,283	1,811	2,038	2,283	2,783	2,915	3,123	3,472
VCR_Ery III	1,208	1,264	1,849	1,981	2,255	2,811	2,84	3,283	3,698
VCR_EryIV	1,226	1,311	1,783	2,085	2,302	2,764	2,925	3,104	3,528
VBL_EryI	1,142	1,226	1,868	2,047	2,217	2,717	2,906	3,17	3,472
VBL_EryII	1,208	1,264	1,915	2,066	2,255	2,679	2,925	3,226	3,481
VBL_EryIII	1,245	1,302	1,868	1,962	2,292	2,802	3,009	3,283	3,491
VBL_EryIV	1,189	1,321	1,849	2,075	2,245	2,698	2,972	3,198	3,604

Примечание: *Abs – контрольная проба – 0,109. Здесь и далее: VCR_Ery и VBL_Ery – эритроцитарные формы препаратов, полученные в немодифицированной среде для инкубации.

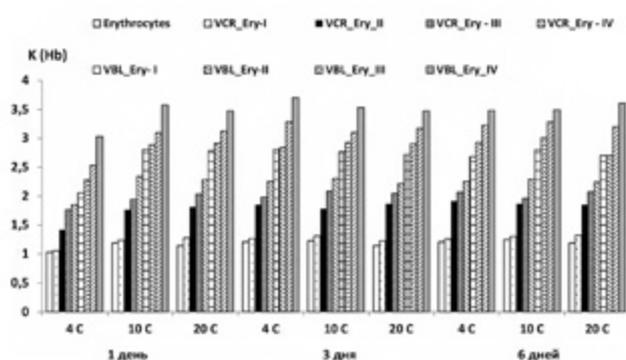


Рисунок 1. Гистограмма степени гемолиза ТИА-инкапсулированных эритроцитарных форм при хранении в различных условиях

ления возможного срока хранения рассматривались только образцы ТИА-ЭН, содержащиеся в холодильнике при температуре +4 °С (рисунок 2). Степень гемолиза определяли методом, описанным выше. Результаты представлены в таблице 2 и на рисунке 2. Полученные данные об интенсивности роста степени

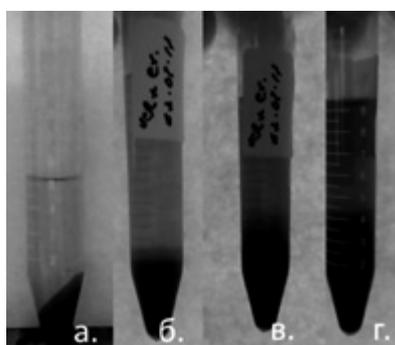


Рисунок 2. Степень гемолиза VCR-инкапсулированных эритроцитов после хранения в Na-фосфатном буферном растворе с pH=7,4 при температуре +4 °C: а) после получения образца; б) после 1 недели хранения; в) после 3 недель хранения; г) после 4 недель хранения

гемолиза за наблюдаемый период показали возможность хранения ТИА-ЭН до двух недель. Наблюдения за стабильностью исследуемых объектов продемонстрировали, что хранение в течение четырех недель приводило к увеличению степени гемолиза более чем в 10 раз.

Таблица 2.

Степень гемолиза ТИА-инкапсулированных эритроцитарных форм при хранении при +4 °С

Эритроцитарная форма	Время хранения (недели)			
	1 нед.	2 нед.	3 нед.	4 нед.
ЭН (Ery)	1	1,4444	3,2556	10,3259
VCR_Ery-I	1,0963	1,7296	4,3926	11,7963
VCR_Ery_II	1,1259	1,6963	4,5037	11,6889
VCR_Ery – III	1,1481	1,7481	4,6111	12,0704
VCR_Ery – IV	1,1037	1,6407	4,5370	14,0111
VBL_Ery_I	1,1481	2,2148	5,0667	14,7630
VBL_Ery_II	1,1704	2,2519	5,0963	14,5444
VCR-PEG-4000_1:5	1,0185	1,9889	4,1778	11,1741
VCR-PEG-4000_1:10	1,0407	2,0074	4,2185	11,3259
VCR-PEG-4000_1:20	1,0481	2,0407	4,4667	11,4407
VCR-PEG-4000_1:50	1,0667	2,1000	4,5889	11,7296
VCR-PEG-4000_1:100	1,1037	2,1926	4,5259	12,1296
VBL-PEG-4000_1:10	1,0222	1,9963	4,6148	12,5444
VBL-PEG-4000_1:20	1,0407	2,0333	4,7481	11,1667
VBL-PEG-4000_1:50	1,0481	2,0037	4,4111	11,5259
VBL-PEG-4000_1:100	1,1074	2,2148	4,7370	12,1667
VBL-PEG-4000_1:100	1,1185	2,2370	4,8222	12,4630
VCR_ATP	1,1037	2,5704	5,3852	13,3630
VBL_ATP	1,1333	2,6222	5,563	13,9852
VCR_DMSO	1,0704	2,1333	5,1556	11,5148
VBL_DMSO	1,0593	2,1556	5,1926	11,7889

Примечание: *Abs – контрольная проба – 0,270. Здесь и далее: VCR-PEG и VBL-PEG – эритроцитарные формы препаратов, полученные в среде инкубации, модифицированной ПЭГ; VBL и VCR_DMSO – эритроцитарные формы препаратов, полученные в среде инкубации, модифицированной ДМСО; VBL и VCR_ATP – эритроцитарные формы препаратов, полученные в среде инкубации, модифицированной АТФ.

Для оценки количественного содержания VCR и VBL в исследуемых образцах было проведено их определение по ранее разработанной и валидированной спектрофотометрической методике. Результаты представлены в таблице 3 и на рисунке 3. Полученные результаты обобщены в таблице 4 и на рисунке 4 (а-г). При хранении до 7 суток количественное содержание ТИА-препаратов в ЭН снижается постепенно. После 3 дней хранения ЭН при температуре +4 °С остаточное содержание инкапсулированной дозы препаратов в среднем составляет 98,54%; после 7 дней хранения – 95,96%, резко снижаясь к 14-му дню хранения до 24,78%. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что ТИА-инкапсулированные ЭН можно хранить при температуре +4 °С до 7 дней без значительного снижения терапевтической дозы (не ниже 95% от инкапсулированных ТИА-препаратов).

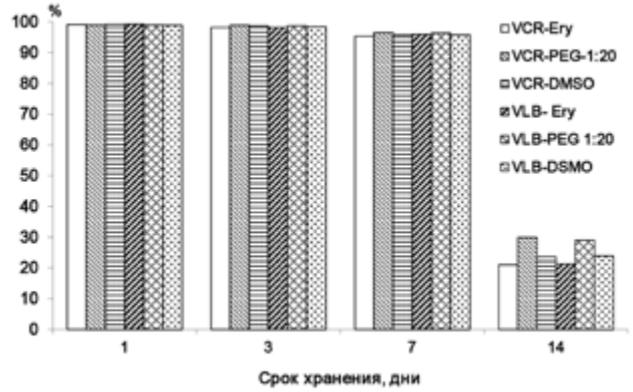


Рисунок 3. Графическое представление количественного содержания инкапсулированных ТИА после хранения образцов при температуре +4 °С

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, представленные в таблице 1 и на рисунке 1, показывают, что выдерживание ТИА-инкапсулированной эритроцитарной формы при +4 °С

является оптимальным условием для хранения ТИА-препаратов. При хранении количественное содержание ТИА-препаратов в эритроцитах изменяется. Установлено, что после 3 дней хранения ЭН при температуре +4 °С остаточное содержание инкапсулирован-

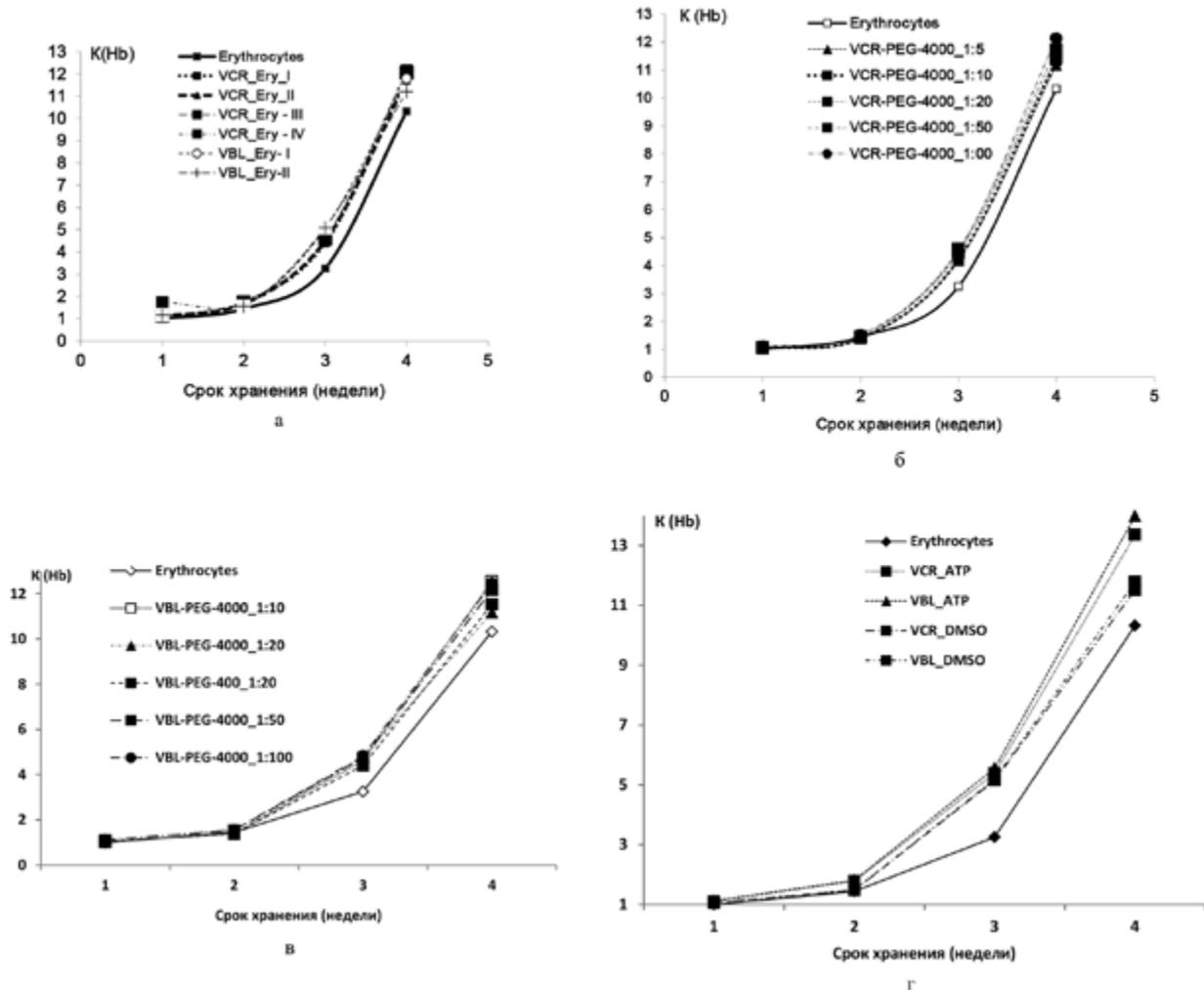


Рисунок 4. Степень гемолиза ТИА-инкапсулированных ЭН при хранении при температуре +4 °С в течение 4 недель

ной дозы препаратов в среднем составляет 98,535%; после 7 дней хранения – 95,964%, резко снижаясь к 14-му дню хранения до 24,780%. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что ТИА-инкапсулированные ЭН можно хранить при температуре +4 °С до 7 дней без значительного снижения терапевтической дозы (не ниже 95% от инкапсулированных ТИА-препаратов).

Таблица 3.

Количественное содержание инкапсулированных ТИА после хранения образцов при температуре +4 °С

Эритроцитарные формы препарата	Инкапсулированное количество ТИА (мкг)	Температура хранения +4 °С			
		Дни хранения			
		1	3	7	14
Найдено препаратов после хранения, %					
VCR-ЭН I	873,475	99,109	-	-	-
VCR-ЭН II	846,866	-	98,180	-	-
VCR-ЭН III	859,277	-	-	95,314	-
VCR-ЭН IV	893,068	-	-	-	20,985
VCR-ПЭГ-1:20	1078,869	99,011	-	-	-
VCR-ПЭГ-1:20	1026,908	-	98,927	-	-
VCR-ПЭГ-1:20	1059,131	-	-	97,502	-
VCR-ПЭГ-1:20	1024,685	-	-	-	29,913
VCR-ДМСО	1246,908	99,194	-	-	-
VCR-ДМСО	1179,731	-	98,721	-	-
VCR-ДМСО	1248,668	-	-	97,059	-
VCR-ДМСО	1206,786	-	-	-	23,657
VBL-ЭН I	891,733	99,288	-	-	-
VBL-ЭН II	871,727	-	98,193	-	-
VBL-ЭН III	911,738	-	-	95,969	-
VBL-ЭН IV	906,678	-	-	-	21,313
VBL-ПЭГ 1:20	1057,178	99,013	-	-	-
VBL-ПЭГ 1:20	1091,378	-	98,695	-	-
VBL-ПЭГ 1:20	1089,116	-	-	97,376	-
VBL-ПЭГ 1:20	1096,543	-	-	-	28,990
VBL-ДМСО	1291,731	98,950	-	-	-
VBL-ДМСО	1269,173	-	98,494	-	-
VBL-ДМСО	1209,156	-	-	97,190	-
VBL-ДМСО	1245,867	-	-	-	23,941

Примечание: *Количества ТИА-препаратов, применяемых для инкапсулирования – 2000 мкг.

Таблица 4.

Рекомендуемые сроки годности ЭН с ТИА-препаратами при различных режимах хранения

Вид эритроцитарной формы	Температура хранения, °С			
	4	4	10	20
	Рекомендуемый срок хранения, дни	Максимальный срок хранения, дни		
Свободные ЭН	7	10	7	1
VCR-ЭН	3	7	3	-
VCR-ПЭГ-1:20	3	7	3	-
VCR-ДМСО	3	7	3	-
VBL-ЭН	3	7	3	-
VBL-ПЭГ-1:20	3	7	3	-
VBL-ДМСО	3	7	3	-

ЛИТЕРАТУРА

1. А.В. Заборовский, К.Г. Гуревич. Моделирование направленного транспорта лекарственных веществ. Часть I. Однократное введение // Сибирский онкологический журнал. 2017. № 1(16). С. 59–65.
2. А.В. Заборовский, К.Г. Гуревич. Моделирование направленного транспорта лекарственных веществ. Часть II. Многократное введение // Сибирский онкологический журнал. 2017. Т. 16. № 2. С. 36–41.
3. О.В. Тринеева, А.Д. Халахакун, А.И. Сливкин, Е.Е. Чупандина. Морфологические и физико-химические свойства эритроцитарных носителей, инкапсулированных терпеноиндольными алкалоидами // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018. № 1(22). С. 146–151.



- дозирование жидких субстанций в пластиковые и стеклянные флаконы с дальнейшей укупоркой крышками
- точные шприцевые дозаторы (4 или 6) обеспечивают минимальное вспенивание и розлив любых объемов
- производительность: 4 200 – 7 200 единиц/час
- автоматическое управление, в т.ч. автоматическая передача флаконов на этикетировку
- быстрая перенастройка форматов
- закрытие флаконов одним или несколькими закупоривающими приспособлениями
- непрерывная подача флаконов на розлив

АВТОМАТИЧЕСКАЯ ЛИНИЯ РОЗЛИВА

FC



Тесномасо: МЫ ДЕЛАЕМ ТОЛЬКО САМОЕ ЛУЧШЕЕ!

УДК 615.322

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СПИРТОВОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПИЖМЫ БАЛЬЗАМИЧЕСКОЙ

Н.В. Чебышев¹, В.В. Черкас¹, Н.Д. Стреляев^{1*}, Р.М. Кузнецов¹, Д.И. Сологова¹, Е.П. Давосыр¹

Резюме. В статье приведены результаты изучения химического состава спиртового извлечения пижмы бальзамической. Компонентный состав полученных образцов спиртового извлечения изучали методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Качественный анализ проводили по библиотеке полных масс-спектров NIST-05 и соответствующим значениям хроматографических линейных индексов удерживания. Методом хромато-масс-спектрометрии в спиртовом извлечении, полученном из травы пижмы бальзамической, было идентифицировано 42 соединения. Маркерными являются туйон, карвон, цинеол, лимонен. Совокупность соединений, идентифицированных методом хромато-масс-спектрометрии, дает возможность определить данный вид сырья.

Ключевые слова: трава пижмы бальзамической, хромато-масс-спектрометрия, карвон.

STUDING THE CHEMICAL COMPOSITION OF ALCOHOL EXTRACTION TANSY BALSAMIC

N.V. Chebyshev¹, V.V. Cherkas¹, N.D. Strelaev^{1*}, R.M. Kuznecov¹, D.I. Sologova¹, E.P. Davosir¹

Abstract. The results of the study of the chemical composition of alcohol extract of tansy balsamic are given in this article. The component composition of samples of alcohol extraction samples was studied by gas chromatography-mass spectrometry. Qualitative analysis was carried out on the NIST-05 complete mass spectra library and corresponding to the values of chromatographic linear indices. Forty two compounds were identified indicated by the method of chromatography-mass spectrometry in alcohol extraction, obtained from balsamic tansy. Markers are the thujone, the carvone, the cineole, the limonene. The combination of compounds identified by the methods of chromatography-mass spectrometry makes it possible to identify this type of raw material.

Keywords: balsamic tansy herb, chromatography-mass spectrometry, carvone.

1 – ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2, Trubeckaya str., Moscow, 119991, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: docstrelaeva@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Перед современной фармацией поставлена важная задача по увеличению производства и улучшению обеспечения населения медикаментами, изготавливаемыми из сырья культивируемых и дикорастущих лекарственных растений. Актуальной проблемой является изучение лекарственных растений, обладающих антигельминтными свойствами.

В качестве антигельминтных средств предложен широкий ассортимент синтетических препаратов. Известны препараты пирантела памоат, пиперазина адипинат, левамизол, мебендазол, нафтамон. Однако все данные лекарственные препараты обладают большим количеством побочных эффектов. Антигельминтные препараты из лекарственного растительного сырья менее токсичны для организма. В настоящий момент в фармакопеех различных стран представлены следующие растительные препараты: семена

тыквы, цветки пижмы обыкновенной, трава золотысячника, трава полыни горькой, цветки полыни цитварной и другие лекарственные препараты [1].

В современном научном мире проводятся исследования антигельминтных свойств петролеума и петролеумных извлечений из лекарственного растительного сырья [7, 8]. Поэтому изыскание новых лекарственных растений, обладающих антигельминтными свойствами, является актуальным.

Tanacetum vulgare L. (пижма обыкновенная, семейство Asteraceae, астровые) – многолетнее травянистое растение, является самым распространённым и популярным растением рода пижма.

В Государственной фармакопее России представлена фармакопейная статья на сырье цветки пижмы [1]. Препараты на основе пижмы обычно-

венной широко применяются в современной медицине. Предлагается использование настоя из цветков пижмы в качестве антигельминтного средства [3, 4]. Данный препарат используется при гельминтозах, вызванных круглыми червями – нематодами. Второй препарат на основе пижмы – экстракт из цветков пижмы «Танацехол» обладает желчегонным действием, при этом отмечается спазмолитический эффект и изменение биохимического состава желчи. Следует учитывать противопоказания – желчекаменную болезнь. В народной медицине пижма используется гораздо шире. Учитывается её действие на пищеварительную систему в качестве улучшающего пищеварение средства, на сердечно сосудистую систему, способность пижмы повышать артериальное давление [5].

Tanacetum balsamita L. (пижма бальзамическая, семейство *Asteraceae*, астровые) – многолетнее травянистое растение рода пижма, известное в культуре на протяжении трех тысячелетий. Синонимы: кануфер, пиретрум бальзамический, сарацинская мята, бальзамическая рябинка. Сырьем пижмы обыкновенной, перспективным для изучения и стандартизации, являются цветки пижмы (*Flores Tanacetii balsamitae*), листья пижмы (*Folia Tanacetii balsamitae*), трава пижмы (*Herba Tanacetii balsamitae*).

Данное лекарственное растение не является фармакопейным. Пижма бальзамическая рассматривается как средство народной медицины, перспективное для изучения. В народной медицине предлагают использование пижмы бальзамической в качестве противопаразитарного, противовоспалительного средства [5], однако биологически активные вещества данного растения практически не изучены.

Целью данного исследования явилось изучение химического состава спиртового извлечения пижмы бальзамической.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходное воздушно-сухое сырье – листья пижмы бальзамической. Сырье заготавливалось во время цветения в ботаническом саду Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Цельное сырье пижмы бальзамической представляет собой цельные простые черешковые листья, по форме эллиптические, жилкование перистое, размеры листовой пластинки 5–8 см в длину и 3–4 см в ширину, серовато-зеленого цвета, ароматного запаха, водное извлечение листьев имеет горький вкус (рисунок 1).

Было получено спиртовое извлечение, представляющее собой прозрачную бурозеленую жидкость с ароматным запахом (рисунок 2).

Компонентный состав полученных образцов спиртового извлечения изучали методом газовой хромато-масс-спектрометрии [9]. Спиртовое извлечение получали методом мацерации в течение 14 дней.



Рисунок 1. Листья пижмы бальзамической

В качестве экстрагента использовали 96% спирт. Исследование проводили на приборе, состоящем из газового хроматографа 7890 (колонка HP-5, 50 м × 320 мкм × 1,05 мкм) и масс-селективного детектора 5975 С с квадрупольным масс-анализатором (Agilent Technologies, США). Температурная программа хроматографирования: при 40 °С – изотерма 2 мин; далее программируемый нагрев до 250 °С со скоростью 5 °С/мин; при 250 °С – изотерма 15 мин; далее программируемый нагрев до 320 °С со скоростью 25 °С/мин; при 320 °С – изотерма 5 мин. Инжектор с делением потока 1 : 50. Температура инжектора – 250 °С. Температура интерфейса – 280 °С. Газ-носитель – гелий; скорость потока – 1 мл/мин. Хроматограмма образцов – по полному ионному току. Условия масс-спектрометрического анализа: энергия ионизирующих электронов – 70 эВ; регистрация масс-спектров в положительных ионах в диапазоне (m/z) от 20 до 450 со скоростью 2,5 скан/с. Программное обеспечение – ChemStation E 02.00 (Agilent Technologies, США). Идентификацию компонентного состава



Рисунок 2. Спиртовое извлечение из пижмы бальзамической



Газовый хроматограф Agilent Technologies 7890

(качественный анализ) проводили по библиотеке полных масс-спектров NIST-05 и соответствующим значениям хроматографических линейных индексов удерживания. Относительное содержание (%) компонентов смеси (количественный анализ) вычисляли из соотношения площадей хроматографических пиков (методом простой нормировки).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе экспериментальных исследований выявлено следующее: методом хромато-масс спектрометрии в спиртовом извлечении, полученном из травы пижмы обыкновенной, было идентифицировано 42 соединения.

Вещества, содержащиеся в пижме бальзамической: кумол (0,19%), эвкалиптол (2,69%), 2-метилбутил-2-метилбутаноат (0,25%), пинокарвон (0,22%), мента-1,8-диен-2-ол (0,21%), эпоксид α -безоболена (0,13%), дигидрокарвон (0,22%), вербенон (0,11%), эпоксимента-1,8-диен (0,24%), карвон (29,30%), оксид карвона (0,23%), 2-пиперидинон, N-4-бромо-n-бутил (0,35%), карвеолацетат (0,19%), кубелол (0,10%), β -безобелен (2,37%), изовалерат геранила (0,11%), изокаламендиол (0,16%), оксид кариофиллена (0,12%), пивалат лимонен-6-ола (0,23%), лонгипинокарвон (0,09%), циклогексанкарбоксальдегид, 6-метил-3-(1-метилэтил)-2-оксо-1-(3-оксобутил) – (0,40%), 1-гептатриакотанол (0,46%), бутил 6,9,12-гексадекатриэноат (0,26%), метилизоко-стат (0,17%), метил-10-гептадецен-8-иноат (0,37%), гексагидрофарнезол (0,26%), 2-гексадецен-1-ол,3,7,11,15-тетраметил (1,01%), бензил(1-метилнонадецил) (0,11%), эпокси-2-циклопента[3,4]циклопропа [8,9] циклоундецоксирен-5-1,2,9,10-тетракистекагидро-3,6,8,10-пентаметил – (0,39%), метил-2-4,8-диметил-1,2,3,4,5,6,7-октагидронафтален-2-ила акрилат (8,10%), 1,3,12-нонадекатриен-5,14-диол (0,13%), кислота доко-сатетраеновая, метилэстер (0,29%), 2-гексадеканол (0,27%), олеамид (2,55%), этилизоалкоголят (0,39%), 24,25-дигидроксивитамин D₃ (0,13%), армид E (2,04%), диацетат 2-октодеcanoат глицерола (0,59%), 9-окта-деноиная кислота-2-ацетилокси-1-[ацетилоксиметил] этилэстер (2,03%), глицерил-1-олеатдиацетат (10,83%) (таблица 1). Соединения, идентифицированные в спиртовом извлечении из пижмы бальзамической, можно условно подразделить на классы: терпеноиды, сесквитерпены, тритерпеновые соединения, витамины, жирные кислоты, эфиры жирных кислот и ряд других соединений (рисунок 3).

Соединения, которые можно отнести к мажорным (содержание более 1%): туйон, карвон, безобелен, олеамид.

Соединения, которые можно отнести к минорным (содержание менее 1%): кумол, лимонен, цинеол, пинокарвон, дигидрокарвон, оксид карвона, изокаламендиол, оксид кариофиллена, лонгипинокарвон, витамин D₃.

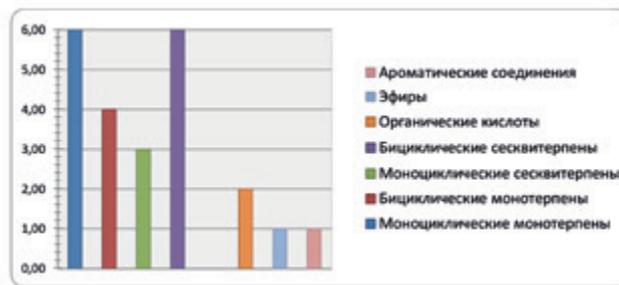


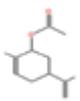
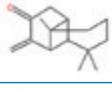
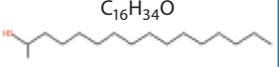
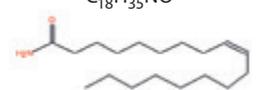
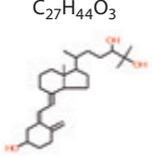
Рисунок 3. Основные группы соединений, содержащихся в спиртовом извлечении пижмы бальзамической

Таблица 1.

Основные соединения, идентифицированные в спиртовом извлечении, полученном из пижмы бальзамической

№	Название химического соединения	Структурная формула	Время удерживания, R(t)	Спиртовое извлечение пижмы
1	Кумол	<chem>C10H14</chem> 	7,458	0,19
2	Лимонен	<chem>C10H16</chem> 	7,529	0,16
3	Цинеол	<chem>C10H18O</chem> 	7,577	0,69
4	Туйон	<chem>C10H16O</chem> 	8,806; 8,974	10,78
5	Пинокарвон	<chem>C10H14O</chem> 	9,721	0,22
6	Мента-1,8-диен-2-ол	<chem>C10H16O</chem> 	9,894; 11,144	0,21
7	α -бизаболена эпоксид	<chem>C15H24O</chem> 	10,067	0,131
8	Дигидрокарвон	<chem>C10H16O</chem> 	10,229	0,22
9	Вербенон	<chem>C10H14O</chem> 	10,527	0,11
10	3,9-эпокси-мента-1,8-диен	<chem>C10H14O</chem> 	10,695	0,24
11	Карвон	<chem>C10H14O</chem> 	10,917	29,304
12	Оксид карвона	<chem>C10H14O2</chem> 	11,22; 11,65	0,23

Окончание табл. 1

№	Название химического соединения	Структурная формула	Время удерживания, R(t)	Спиртовое извлечение пижмы
13	Карвеолацетат	<chem>C12H18O2</chem> 	12,524	0,19
14	Кубелол	<chem>C15H26O</chem> 	14,164	0,10
15	β-бизаболен	<chem>C15H24</chem> 	14,208	2,37
16	Изокаламендиол	<chem>C15H26O2</chem> 	14,403	0,16
17	Оксид карофиллена	<chem>C15H24O</chem> 	15,047	0,12
18	Лонгипинокарвон	<chem>C15H22O</chem> 	15,501	0,09
19	6,9,12,15-досатетраеновая кислота, метилэстер	<chem>C23H38O2</chem> 	19,176	0,29
20	2-гексадеканол	<chem>C16H34O</chem> 	19,388	0,27
21	Олеамид	<chem>C18H35NO</chem> 	20,329	2,55
22	24,25-дигидроксивитамин D ₃	<chem>C27H44O3</chem> 	21,320	0,13

Следует отметить, что содержание туйона превышает 10%. Данное вещество является одной из стереоизомерных форм кетона, относящегося к классу производных терпенов. Свое название получило от имени растения туя, из которого оно было впервые получено. Оно имеет широкий спектр фармакологической активности, что определяет его назначение.

Содержание карвона – более 29%, это природное соединение из семейства терпеноидов. Карвон содержится во многих эфирных маслах: тминном [ок. 60% (+)-К.], укропном, масле кудрявой мяты [до 70% (-)-К.] и др., откуда его и выделяют. Усиливает отделение секрета пищеварительными железами, моторику пищеварительного тракта, повышает аппетит, способствует

нормализации обмена веществ в организме. Широко используется в пищевой промышленности в качестве ароматизатора, в составе косметики и гигиенических средств. Карвон применяют в качестве смягчающего кожу компонента, антимикробного агента, а также отдушки [2, 10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментальных исследований спиртового извлечения, полученного из травы пижмы обыкновенной, было идентифицировано 42 соединения. Так как содержание карвона и туйона является максимальным в анализируемой пробе и при многочисленных повторах эксперимента туйон и карвон занимают лидирующее положение среди терпеноидов, можно сделать вывод о том, что данные соединения являются маркерными для данного вида сырья. Карвон, цинеол и лимонен обуславливают характерный аромат сырья. Каждое соединение в отдельности присутствует в других растительных объектах: туйон – в туйе, карвон – в мяте карвонного типа, тмине, цинеол – в эвкалипте и шалфее, однако совокупность соединений, идентифицированных методом хромато-масс-спектрометрии, дает возможность идентифицировать именно данный вид сырья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд.
2. Р. Аль Джомма, М.Л. Максимов, А.В. Стреляева, В.М. Садыков, А.М. Вахидова. Новые препараты из растительного сырья для лечения гельминтозов животных // Ветеринарный врач. 2015. № 5. С. 14.
3. Химическая энциклопедия. В 5 т. Т. 2 Даффа-Меди / И. Л. Кнунянц и др. – М.: Советская энциклопедия, 1990. 671 с.
4. В.А. Куркин, А.В. Куркина, А.И. Хусаинова. Способ определения подлинности сиропа пижмы обыкновенной // Фармация. 2012. № 3. С. 27–30.
5. А.В. Куркина. Исследование флавоноидного состава цветков пижмы обыкновенной // Химия растительного сырья. 2012. № 3. С. 29–30.
6. А.Н. Обухов. Лекарственные растения, сырьё и препараты. – Краснодар. 1962. 298 с.
7. И.А. Самылина, А.В. Стреляева, Н.Б. Лазарева, В.М. Садыков. Гомеопатические препараты из фармакопейного лекарственного растительного сырья. – М.: МИА, 2012. 431с.
8. А.В. Стреляева, Д.В. Курилов, С.С. Зуев и др. Сравнительное изучение физико-химических свойств и компонентного состава петролеума из нефти различных месторождений // Фармация. 2011. № 8. С. 22–25.
9. Патент RU 2136304. Способ получения препарата чеблин, обладающего противоаскаридным действием / Н.В. Чебышев, А.В. Стреляева, И.А. Самылина, В.М. Садыков, Т.Ф. Коваленко, А.Г. Погосов; патентообладатель Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. – Заявл. 01.04.98; опубл. 10.09.99.
10. Т.А. Щеглова, Д.В. Курилов, А.В. Стреляева. Изучение химического состава и антиоксидантной активности матричной настойки из листьев шалфея лекарственного // Фармация. 2012. № 3. С. 27–30
11. JesseRussel. Carvone. – СПб. 2012. 102 с.
12. R.B. Murphy, L.H. Schneider. Comparative potencies of CCK antagonists // Soc. Neurosci. Abstr. 1992. V. 18. Part 1. P. 180.

УДК 574.24; 615.322

БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО, СОБРАННОГО В РАЙОНАХ, ИСПЫТЫВАЮЩИХ АНТРОПОГЕННУЮ НАГРУЗКУ

Н.А. Дьякова^{1*}, А.А. Мындра¹, А.И. Сливкин¹

Резюме. Изучена взаимосвязь между накоплением тяжелых металлов и водорастворимых полисахаридов в корнях одуванчика лекарственного, собранного на территории Воронежской области в естественных биогеоценозах, испытывающих на себе различное антропогенное воздействие. Результаты исследования отобранных образцов корней одуванчика лекарственного показывают в целом экологически благополучное состояние изучаемого лекарственного растительного сырья. Неудовлетворительными по содержанию мышьяка признаны лишь два образца, собранные вблизи теплоэлектростанции «ВОГРЭС» и химического предприятия ООО «Бормаш». На накопление водорастворимых полисахаридов корней одуванчика лекарственного тяжелые металлы выраженного влияния не оказывают.

Ключевые слова: Центральное Черноземье, одуванчик лекарственный, тяжелые металлы, водорастворимые полисахариды.

SAFETY AND EFFICIENCY OF MEDICINAL VEGETABLE RAW MATERIALS OF THE *TARAXACUM OFFICINALE*, COLLECTED IN THE DISTRICTS EXPERIENCING THE ANTHROPOGENIC STRAIN

N.A. Dyakova^{1*}, A.A. Mundra¹, A.Y. Slivkin¹

Abstract. The interrelation between accumulation of serious metals and water-soluble polysaccharides in roots of a *Taraxacum officinale*, collected in the territory of the Voronezh region in the natural biogeocenoses which are influenced various anthropogenic influence is studied. Results of a research of the selected samples of roots of a dandelion medicinal show, in general, ecologically safe condition of the studied medicinal vegetable raw materials. On the content of arsenic only two samples which are brought together close combined heat and power plants of «VOGRES» and the chemical company LLC «Bormash» are recognized as unsatisfactory. On accumulation of water-soluble polysaccharides of roots of a *Taraxacum officinale* serious metals don't exert the expressed impact.

Keywords: Central Black Earth, *Taraxacum officinale*, heavy metals, water-soluble polysaccharides.

1 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

1 – Voronezh State University, 1, Universitetskaya sq., Voronezh, 394006, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: office@main.vsu.ru

Ninotchka_V89@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям оценка безопасности лекарственного растительного сырья должна учитывать все потенциальные факторы риска, специфичные для данной группы лекарственных средств [1]. Основная часть заготовок лекарственного растительного сырья традиционно сосредоточена в европейской части России, причем в ее самых населенных и промышленно освоенных регионах, в частности в Центральном Черноземье [2, 3]. При этом большинство эксплуатируемых ресурсов дикорастущих лекарственных растений расположено в зоне активной хозяйственной деятельности человека [4].

Целью исследования являлось изучение взаимосвязи между накоплением тяжелых металлов и водорастворимых полисахаридов в корнях оду-

ванчика лекарственного, собранного на территории Воронежской области в естественных биогеоценозах, испытывающих на себе различное антропогенное воздействие. Актуальность данного исследования заключается в научной оценке влияния экотоксикантов на живые организмы вообще и на лекарственное растительное сырье в частности [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований в рамках Воронежской области как среднестатистической области Центрального Черноземья нами на основе уже имеющегося литературного и картографического обзора были выбраны точки отбора образцов почв и лекарственного растительного сырья. Выбор исследуемых районов обусловлен характером специфического антропоген-

ного воздействия на него (рисунок 1): химические предприятия ООО «Сибур» (28), ОАО «Минудобрения» (23), ООО «Бормаш» (24); теплоэлектроцентраль (ТЭЦ) «ВОГРЭС» (27); Нововоронежская атомная электростанция (АЭС) (8); Воронежский аэропорт (30); улица города (улица Ленинградская) (31); высоковольтные линии электропередач (ВЛЭ) (9); Воронежское водохранилище (29); города с развитой легкой промышленностью [Калач (26), Борисоглебск (25)]; зона предполагаемой добычи никеля (4); зоны активной сельскохозяйственной деятельности с внесением большого количества удобрений [Лискинский (10), Ольховатский (11), Подгоренский (12), Петропавловский (13), Грибановский (14), Хохольский (15), Новохоперский (16), Репьевский (17), Воробьевский (18), Панинский (19), Эртильский (20), Верхнехавский (21), Россошанский (22) районы]; а также зоны, подвергшиеся радионуклидному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС [Нижедневицкий (5), Острогожский (6), Семилукский (7) районы]; в качестве сравнения – заповедная зона [Воронежский биосферный заповедник (1), Хоперский государственный природный заповедник в Новохоперском районе (2) и в Борисоглебском районе (3)]. Кроме того, большое внимание уделено нами лекарственному растительному сырью, произрастающему вблизи автомобильных и железнодорожных дорог. Отборы образцов проводились вдоль дорог и на расстоянии 100, 200, 300 м от дороги. Рассматривались разные природные зоны: лесная зона (Рамонский район) (32-35), лесостепь (Аннинский район) (36-39), степь (Павловский район) (40-43), где имеются крупные транспортные развязки трассы М4 «Дон», А144 Курск–Саратов. Также рассмотрены нескоростная автомобильная дорога (Богучарский район) (44-47) и железная дорога (Рамонский район) (48-51).

В качестве объекта исследования решено было использовать корни одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* F.H. Wigg.) – лекарственного растительного сырья, собираемого, как правило, от дикорастущих организмов, являющихся характерными представителями как естественных растительных сообществ, так и урбанофлоры. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) являются основной группой биологически активных веществ в корнях одуванчика лекарственного и обладают сахароснижающим, иммуностимулирующим, диуретическим, пребиотическим, сорбирующим, прокинетическим и противоопухолевым действием [6, 7].

Анализ образцов лекарственного растительного сырья, отобранного на территории Воронежской области, проводили с использованием аналитического комплекса на базе атомно-абсорбционного спектрометра с электротермической атомизацией МГА-915МД («Люмекс», Россия). Взвешивание осуществляли с точностью до 0,0001 г на аналитических весах A&D GH-202 (AND, Япония). В изучаемых образцах определяли содержание свинца, кадмия, ртути, мышьяка, так как именно эти элементы нормируются в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных



Рисунок 1. Карта отбора образцов почв и лекарственного растительного сырья (обозначения расшифрованы в тексте)

препаратах, а также в сельскохозяйственной продукции и других продуктах питания [8]. Кроме того, определяли содержание никеля, так как Воронежская область рассматривается как перспективный источник этого токсичного элемента.

Содержание ВРПС определяли по ранее разработанной экспрессной методике с применением ультразвуковой ванны «Град 40-35» («Град-Технолоджи», Россия) [9]. Сырье измельчали до 0,2–0,5 мм, около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл кипящей воды очищенной, помещали в ультразвуковую ванну с частотой 35 КГц при температуре 80 °С, экстрагировали 40 мин. Экстракцию повторяли ещё 2 раза, прибавляя по 10 мл воды. Водные извлечения объединяли и фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл через 10 слоев марли, фильтр промывали водой и довели объём раствора до метки (раствор А). 5 мл раствора А помещали в коническую колбу объемом 25 мл, довели 95% спиртом этиловым до метки, перемешивали, охлаждали в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 1 ч. Затем содержимое колбы фильтровали через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом (0,4–0,8 атм). Фильтр с осадком сушили при температуре 100–105 °С до постоянной массы [9]. Содержание ВРПС вычисляли по формуле:



Аналитические весы A&D GH-202

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 100000}{m \cdot (100 - W)}, \quad (2)$$

где m_1 – масса высушенного фильтра, г; m_2 – масса высушенного фильтра с осадком, г; m – навеска сырья, г; W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Разница в результатах количественного определения ВРПС в корнях одуванчика лекарственного по ранее имеющимся методикам ($30,01 \pm 0,67\%$) и по предложенной ($32,89 \pm 0,32\%$) составила 2,88% [6]. Используемая методика значительно ускоряет процесс извлечения ВРПС (время количественного анализа корней одуванчика лекарственного на содержание ВРПС не превышает 3,5 ч) и увеличивает по сравнению с другими методами экстрагирования выход основного продукта в среднем на 10% [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований отобранных образцов лекарственного растительного сырья на содержание тяжелых металлов и ВРПС приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Содержание тяжелых металлов и ВРПС
в изучаемых образцах

№ п/п	Район сбора	Валовое содержание тяжелых металлов, мг/кг					Содержание ВРПС, %
		Pb	Hg	Cd	As	Ni	
1.	Воронежский биосферный заповедник	1,87	0,003	0,03	0,12	0,93	32,89
2.	Хоперский заповедник	1,76	0,004	0,04	0,09	0,87	31,17
3.	Борисоглебский район (Губари)	1,49	0,003	0,02	0,10	0,67	33,10
4.	Елань-Колено	1,10	0,004	0,04	0,12	1,03	28,59
5.	Нижнедевицк	1,94	0,004	0,06	0,11	1,74	29,81
6.	Острогожск	2,53	0,003	0,09	0,17	1,35	26,47
7.	Семилуки	2,82	0,005	0,11	0,20	1,72	25,90
8.	Нововоронеж	1,12	0,004	0,12	0,14	1,60	28,43
9.	Воронеж – Нововоронеж (ВЛЭ)	2,35	0,003	0,16	0,20	2,13	18,52
10.	Лискинский район	2,63	0,003	0,07	0,13	1,20	23,38
11.	Ольховатский район	0,95	0,004	0,09	0,20	1,58	29,63
12.	Подгоренский район	1,71	0,005	0,05	0,19	1,83	25,72
13.	Петропавловский район	2,74	0,003	0,07	0,12	1,82	23,16
14.	Грибановский район	2,72	0,004	0,12	0,15	0,91	23,53
15.	Хохольский район	1,49	0,003	0,08	0,21	1,96	24,46
16.	Новохоперский район	1,34	0,003	0,10	0,23	1,28	21,74
17.	Репьевский район	1,51	0,003	0,13	0,20	1,83	25,23
18.	Воробьевский район	1,08	0,004	0,15	0,15	2,03	27,31
19.	Панинский район	3,02	0,004	0,17	0,22	1,29	19,64
20.	Верхнехавский район	3,63	0,003	0,11	0,25	1,92	28,29
21.	Эртиль	3,73	0,005	0,10	0,12	1,70	29,60
22.	Россошанский район	2,84	0,004	0,09	0,21	1,98	21,65
23.	Россошь (химическое предприятие ОАО «Минудобрения»)	3,83	0,006	0,15	0,43	2,85	30,53
24.	Поворино	4,83	0,006	0,18	0,56	4,14	31,53

№ п/п	Район сбора	Валовое содержание тяжелых металлов, мг/кг					Содержание ВРПС, %
		Pb	Hg	Cd	As	Ni	
25.	Борисоглебск	2,85	0,005	0,15	0,21	2,36	26,30
26.	Калач	3,04	0,005	0,12	0,21	2,80	30,35
27.	Вблизи теплоэлектроцентрали «ВОГРЭС»	2,10	0,005	0,14	0,68	2,91	24,78
28.	Вблизи химического предприятия по производству синтетического каучука ООО «Сибур»	3,09	0,005	0,09	0,24	2,68	26,76
29.	Вдоль низовья Воронежского водохранилища	2,04	0,004	0,13	0,21	2,07	22,62
30.	Вблизи периметрового ограждения Воронежского аэропорта	4,36	0,006	0,14	0,23	2,57	31,42
31.	Улица города	2,39	0,005	0,12	0,25	2,85	25,32
32.	Вдоль трассы М4 (смешанный лес) (Рамонский район)	3,27	0,006	0,17	0,27	3,83	28,75
33.	100 м от трассы М4 (смешанный лес) (Рамонский район)	2,53	0,006	0,17	0,25	3,06	27,21
34.	200 м от трассы М4 (смешанный лес) (Рамонский район)	1,95	0,004	0,11	0,18	2,98	25,64
35.	300 м от трассы М4 (смешанный лес) (Рамонский район)	1,37	0,004	0,10	0,19	2,02	25,38
36.	Вдоль трассы А144 (лесостепь) (Анна)	2,80	0,005	0,12	0,24	3,35	26,39
37.	100 м от трассы А144 (лесостепь) (Анна)	2,46	0,006	0,04	0,18	2,94	25,31
38.	200 м от трассы А144 (лесостепь) (Анна)	2,02	0,006	0,03	0,14	2,78	26,11
39.	300 м от трассы А144 (лесостепь) (Анна)	1,49	0,005	0,03	0,12	2,34	26,04
40.	Вдоль трассы М4 (степная зона) (Павловск)	2,50	0,006	0,13	0,16	2,73	25,19
41.	100 м от трассы М4 (степная зона) (Павловск)	2,15	0,006	0,09	0,15	2,32	24,50
42.	200 м от трассы М4 (степная зона) (Павловск)	1,74	0,005	0,10	0,12	1,73	24,10
43.	300 м от трассы М4 (степная зона) (Павловск)	1,86	0,005	0,08	0,11	1,47	24,03
44.	Вдоль нескоростной автомобильной дороги (Богучар)	1,47	0,004	0,09	0,20	2,17	25,35
45.	100 м от нескоростной автомобильной дороги (Богучар)	1,13	0,003	0,08	0,20	2,04	23,84
46.	200 м от нескоростной автомобильной дороги (Богучар)	1,04	0,003	0,08	0,15	1,73	23,65

Окончание табл. 1

№ п/п	Район сбора	Валовое содержание тяжелых металлов, мг/кг					Содержание ВРПС, %
		Pb	Hg	Cd	As	Ni	
47.	300 м от нескоростной автомобильной дороги (Богучар)	1,17	0,003	0,08	0,15	1,28	24,81
48	Вдоль железной дороги (Рамонский район)	2,64	0,004	0,13	0,37	2,84	27,40
49.	100 м от железной дороги (Рамонский район)	1,94	0,005	0,09	0,32	2,52	24,84
50.	200 м от железной дороги (Рамонский район)	1,73	0,004	0,05	0,25	2,24	25,49
51.	300 м от железной дороги (Рамонский район)	1,52	0,004	0,05	0,20	2,36	24,62
Среднее для Воронежской области		2,35	0,004	0,10	0,21	1,97	26,21
ПДК [3]		6,0	0,1	1,0	0,5	–	–

Результаты исследования отобранных образцов корней одуванчика лекарственного показывают в целом экологически благополучное состояние изучаемого лекарственного растительного сырья. Из 51 отобранного образца неудовлетворительными признаны лишь 2: собранные вблизи теплоэлектроцентрали «ВОГРЭС» и ООО «Бормаш» (Поворино), – в них превышено содержание мышьяка [8].

Содержание ВРПС в корнях одуванчика лекарственного, определяемое по разработанной нами методике, варьирует в диапазоне от 18,52 до 33,10%. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что заметного влияния на накопление этой группы соединений антропогенное воздействие не оказывает: образцы, собранные в экологически благоприятных зонах, мало отличаются по количественному содержанию ВРПС от образцов из экологически неблагополучных районов. Для детального анализа влияния содержания в растениях тяжелых металлов на накопление биологически активных веществ были рассчитаны коэффициенты корреляции (таблица 2) [10].

Таблица 2.

Коэффициенты корреляции между содержанием тяжелых металлов и ВРПС в корнях одуванчика лекарственного

Коэффициенты корреляции				
Свинец	Ртуть	Кадмий	Мышьяк	Никель
0,23	0,24	-0,13	0,06	0,08

По данным таблицы 2 можно судить об отсутствии влияния изучаемых тяжелых металлов на накопление ВРПС в корнях одуванчика лекарственного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования отобранных образцов корней одуванчика лекарственного показывают в целом экологически благополучное состояние изучаемого лекарственного растительного сырья: лишь образцы, собранные вблизи теплоэлектроцентрали «ВОГРЭС» и ООО «Бормаш», забракованы по содержанию в них мышьяка. На накопление ВРПС корней одуванчика лекарственного определяемые тяжелые металлы выраженного влияния не оказали: образцы, собранные в экологически благоприятных зонах, мало отличаются по количественному содержанию ВРПС от образцов из экологически неблагополучных районов.

ЛИТЕРАТУРА

- И.В. Гравель, Г.П. Яковлев, Н.В. Петров. Содержание тяжелых металлов в сырье некоторых лекарственных растений, произрастающих в условиях атмосферного загрязнения (Республика Алтай) // Растительные ресурсы. 2000. Т. 36. Вып. 3. С. 99–106.
- Н.А. Великанова. Экологическая оценка состояния лекарственного растительного сырья (на примере *Polygonum aviculare* L. и *Plantago major* L.) в урбоусловиях города Воронежа и его окрестностей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Воронеж: ВГУ, 2013. 21 с.
- Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин. Оценка экологического состояния почв и лекарственного растительного сырья (травы горца птичьего и листьев подорожника большого) по содержанию тяжелых металлов в городе Воронеже и его окрестностях // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2012. № 2. С. 238–244.
- С.П. Гапонов и др. Изучение содержания водорастворимых полисахаридов в листьях подорожника большого, произрастающего в городе Воронеже и его окрестностях // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013». – Воронеж, 2013. С. 251–254.
- Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин. Экооценка лекарственного растительного сырья в урбоусловиях г. Воронежа – LAMBERT Academic Publishing, 2013. 211 с.
- Н.А. Дьякова и др. Изучение динамики изменения содержания инулина в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) и одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Webb.) в процессе вегетации // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2016. № 4. С. 133–136.
- Т.Г. Шушунова и др. Выделение инулина из корней одуванчика лекарственного с использованием ультразвука // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 6-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016». – Воронеж: ИПЦ ВГУ, 2016. С. 609–612.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. – М.: ФЭМБ, 2015. 1470 с.
- Патент РФ № 2635996. Способ получения водорастворимых полисахаридов из корней одуванчика лекарственного / Н.А. Дьякова, И.А. Самылина, А.И. Сливкин, С.П. Гапонов, А.А. Мындра; патентообладатель Воронежский государственный университет. – Заявл. 13.04.16; опубл. 17.11.17.
- Общая теория статистики: Учебник / Под ред. Р.А. Шмойловой. – Москва: Финансы и Статистика, 2004. 656 с.

УДК 615.011

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Д.Ю. Гребенкин^{1,2*}, Е.Д. Устинова², С.Ю. Горбачева², А.К. Фаева², В.И. Казей², А.В. Рябова²

Резюме. Исследована кинетика растворения четырёх наименований таблеток пролонгированного действия от различных производителей, а также препарата Депакин® Хроносфера, 500 мг, в трёх средах – pH 1,2; 4,5; 6,8 (среда контроля качества). В средах с pH 4,5 и 6,8 подтверждена эквивалентность профилей растворения таблеток пролонгированного действия, показано более раннее высвобождение АФИ из препарата Депакин® Хроносфера, 500 мг. В среде с pH 1,2 высвобождение действующего вещества незначительно из-за низкой растворимости кислотной формы молекулы в кислой среде, поэтому данные, полученные с её использованием, не учитывались.

Ключевые слова: вальпроевая кислота, растворение, ВЭЖХ.

DISSOLUTION PROFILE STUDY OF EXTENDED RELEASE VALPROIC ACID DRUG PRODUCTS FROM DIFFERENT MANUFACTURERS

D.Yu. Grebenkin^{1,2*}, E.D. Ustinova², S.Yu. Gorbacheva², A.K. Faeva², V.I. Kazey², A.V. Ryabova²

Abstract. Dissolution profiles of four extended release valproic acid tablets from different manufacturers and granules Depakine® Chronosphere 500 mg were studied in three dissolution media: pH 1.2; 4.5, 6.8 (quality control medium). Dissolution profiles similarity for tablets was approved and more rapid dissolution of Depakine® Chronosphere 500 mg was demonstrated in media pH 4.5, 6.8. API did slightly released in buffer pH 1.2 because of low solubility of valproate in acid form therefore these data were not taken into account.

Keywords: valproic acid, dissolution profile testing, HPLC.

1 – Институт биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

2 – Биоаналитическая лаборатория ООО «Экзакт Лабс», 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д. 20

1 – Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology Peoples' Friendship University of Russia, 10-2, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – Exacte Labs Bioanalytical laboratory, 20, Nauchnyi proezd, Moscow, 117246, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: gredmitrij93@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Вальпроевая кислота применяется как противосудорожный лекарственный препарат [1], входит в список жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов [2, 3].

Существуют различные лекарственные формы, содержащие в качестве действующего вещества вальпроевую кислоту: таблетки; таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой; таблетки пролонгированного действия / с пролонгированным высвобождением; гранулы с пролонгированным высвобождением / гранулы пролонгированного действия; капсулы; сироп; растворы для приёма внутрь и растворы для внутривенного введения [1]. Вальпроевая кислота в данных препаратах может находиться как в форме собственно кислоты, так и в форме солей натрия или кальция.

Целью данной работы являлось изучение эквивалентности профилей высвобождения ряда препаратов вальпроевой кислоты с пролонгированным высвобождением различных производителей в лекарственных формах «таблетки» и «гранулы» в средах растворения, имитирующих основные отделы ЖКТ с pH 1,2; 4,5; 6,8.

Препараты вальпроевой кислоты имеют узкий терапевтический индекс, то есть терапевтический диапазон, располагающийся между неэффективными и токсическими дозами, для них мал [4, 5]. Кроме того, вальпроевая кислота относится ко II классу БКС, то есть интенсивность высвобождения АФИ из лекарственной формы в высокой степени определяет скорость его поступления в системный кровоток [6]. Данные обстоятельства обостряют проблему взаимозаменяемости в отношении препаратов вальпроевой

кислоты с пролонгированным действием, и СТКР мог бы оказаться весьма информативным инструментом её оценки.

Согласно «Руководству по экспертизе лекарственных средств», том III (2014 г.), исследование кинетики растворения для препаратов с пролонгированным высвобождением, если не указано иное, проводится по тем же принципам, что и для препаратов немедленно высвобождения (среды, аппарат, температура, математическая обработка данных). Отдельные рекомендации касаются выбора временных точек: первая проба (не считая нуля) должна соответствовать диапазону высвобождения 0–20%, последняя – более 85% [7]. В ходе данной работы было принято решение отбирать пробы в двенадцати временных точках (не считая нуля) для наиболее подробного отображения форм профилей высвобождения. Методика эксперимента проводится в разделе «Материалы и методы».

Исследования профиля растворения пролонгированного препарата вальпроевой кислоты Депакин® хроно уже проводились ранее [8]. Однако в упомянутой работе временные точки были ограничены диапазоном от 1 ч до 6 ч в соответствии с требованиями нормативной документации, поэтому изученный профиль описывал уровень высвобождения только от 20% до 60%. В ходе же настоящей работы профиль растворения был изучен в более широком диапазоне, от 30 мин до 18 ч, соответственно на уровне высвобождения от менее 15% до более 85%, кроме того, для более широкого перечня препаратов. Важно подчеркнуть, что результаты настоящей работы в целом подтверждают выводы, опубликованные ранее. Отдельно отметим практически полное совпадение профилей растворения препарата Депакин® хроно, полученных в ранней и настоящей работах, в разных лабораториях, что может послужить лишним свидетельством точности и объективности данных, а также высокого качества препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты

Кинетика растворения изучалась для следующих пяти лекарственных препаратов от соответствующих производителей:

1. Депакин® хроно, таблетки пролонгированного действия, покрытые оболочкой, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия – 333 мг, вальпроевая кислота – 145 мг.

Произведено: «Санофи Винтроп Индустрия», Франция.

2. Энкорат® хроно, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия – 333 мг, вальпроевая кислота – 145 мг.

Произведено: «Сан Фармасьютикал Индастриз Лтд.», Индия.

3. Вальпарин® ХР, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия – 333 мг, вальпроевая кислота – 145 мг.

Произведено: «Торрент фармасьютикалс Лтд.», Индия.

4. Конвулекс®, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг, активное вещество: натрия вальпроат – 500 мг.

Произведено: «Герот Фармацойтика ГмБХ», Австрия.

5. Депакин® Хроносфера, Гранулы пролонгированного действия, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия – 333 мг, вальпроевая кислота – 145 мг.

Произведено: «Санофи Винтроп Индустрия», Франция.

В качестве действующих веществ в исследуемых лекарственных препаратах содержится смесь вальпроата натрия и вальпроевой кислоты, кроме лекарственного препарата Конвулекс®, где содержится только натрия вальпроат. Данные фармацевтические субстанции относятся ко II классу биофармацевтической классификационной системы (БКС) (низкая растворимость, высокая проницаемость), со снижением значения pH водных растворов растворимость субстанции падает [6].

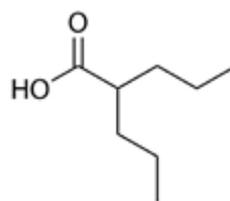


Рисунок 1. Структурная формула вальпроевой кислоты

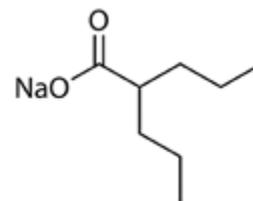


Рисунок 2. Структурная формула вальпроата натрия

Оборудование

- ВЭЖХ-система Waters Acquity UPLC с диодно-матричным детектором (Waters, США).
- Тестер растворения ERWEKA DT 827/1000, Германия.

Условия изучения кинетики растворения

Сравнительную кинетику растворения исследовали, опираясь на требования «Руководства по экспертизе лекарственных средств», том I (2013 г.) [10] и том III (2014 г.) [7], и методических указаний Минздрава России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4 (2008 г.) [11]. Описание условий испытания содержалось в проекте



Waters Acquity UPLC

нормативной документации на препарат Депакин® хроно, таблетки пролонгированного действия, 500 мг («Санофи Винтроп Индустрия», Франция), также учитывались рекомендации базы данных методик растворения FDA [12].

Исследование проводили на аппарате «Вращающаяся корзина» при скорости вращения 60 об/мин при температуре $37 \pm 0,5$ °С. Среды растворения: цитратно-фосфатный буферный раствор с рН 6,8 (среда контроля качества), ацетатный буферный раствор с рН 4,5, 0,2% раствор натрия хлорида в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты с рН 1,2. Объем среды растворения – 600 мл. Временные точки отбора проб: 0 ч, 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч, 10 ч, 12 ч, 14 ч, 16 ч и 18 ч. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды. Отобранные пробы фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм, сливая первые 3 мл фильтрата. Исследование проводили на 12 единицах каждого лекарственного препарата. Количественное определение высвободившейся вальпроевой кислоты проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детекцией при длине волны 210 нм.

Для препарата Депакин® Хроносфера, 500 мг, использовали специальные корзинки с микросеткой для предотвращения выпадения гранул лекарственного препарата из корзинок в процессе анализа.

Для препарата Депакин® Хроносфера, 500 мг, использовали специальные корзинки с микросеткой для предотвращения выпадения гранул лекарственного препарата из корзинок в процессе анализа.

Приготовление сред растворения

Цитратно-фосфатный буферный раствор с рН $6,8 \pm 0,05$:

4,77 г лимонной кислоты и 55,27 г натрия гидрофосфата помещали в мерную колбу 1000 мл, растворяли в 900 мл воды очищенной при перемешивании, доводили объем раствора до 1000 мл водой очищенной и перемешивали.

Проверяли рН раствора, при необходимости доводили значение рН до значения 6,8 раствором лимонной кислоты или раствором натрия гидроксида.

Раствор хлористоводородной кислоты 0,1 М:

87,3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной смешивали с водой очищенной, доводили до объема 1000 мл и перемешивали. 100 мл этого раствора разбавляли водой очищенной до 1000 мл и перемешивали.

0,2% раствор натрия хлорида в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты с рН $1,2 \pm 0,05$:

В мерную колбу объемом 1000 мл помещали 2,0 г натрия хлорида, растворяли в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, доводили до метки и перемешивали. Проверяли рН и при необходимости доводили до значения 1,2 раствором хлористоводородной кислоты или раствором натрия гидроксида.

2 М раствор уксусной кислоты:

В мерную колбу объемом 1000 мл вносили 700 мл воды очищенной, прибавляли 116 мл уксусной кислоты ледяной, охлаждали раствор до комнатной температуры, доводили объем раствора до метки водой очищенной и перемешивали.

Ацетатный буферный раствор с рН $4,5 \pm 0,05$:

2,99 г натрия ацетата тригидрата помещали в мерную колбу объемом 1000 мл и растворяли в 900 мл воды очищенной. К этому раствору добавляли 14 мл 2 М раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора до 1000 мл водой очищенной и перемешивали.

Измеряли рН раствора, при необходимости доводили рН до значения 4,5 раствором уксусной кислоты или раствором натрия гидроксида.

Подвижная фаза для хроматографии А – фосфатный буферный раствор с рН $2,3 \pm 0,02$:

6,085 г натрия дигидрофосфата дигидрата растворяли в мерной колбе вместимостью 1 л, доводили объем раствора водой очищенной до метки, доводили рН раствора до 2,3 ортофосфорной кислотой концентрированной.

Условия хроматографирования

Количество вальпроевой кислоты, перешедшей в раствор, определяли методом ВЭЖХ с УФ-детекцией.

Колонка:	Equisil ODS C18, 60x6 мм, 3 мкм
Температура колонки:	25 °С
Подвижная фаза:	подвижная фаза А и Б (63:37 по объему)
Подвижная фаза А:	фосфатный буферный раствор с рН 2,3
Подвижная фаза Б:	ацетонитрил
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Детектор:	УФ, 210 нм
Объем пробы:	20 мкл

Количественное определение

Приготовление стандартного раствора. Точную навеску стандартного образца вальпроата натрия (Sanofi, серия AM00007, годен до 12.2017), предварительно высушенного в сушильном шкафу в течение

8 ч при температуре 100 °С, растворяли в среде растворения до получения концентрации 0,5 мг/мл. Полученный раствор фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Количество вальпроат-ионов (выраженных в вальпроате натрия), перешедших в раствор из лекарственной формы, в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X(\%) = \frac{S(a) \times m(s) \times T \times 4}{S(s) \times LC},$$

где $S(a)$ – площадь пика действующего вещества на хроматограмме испытуемого раствора; $S(s)$ – площадь пика действующего вещества на хроматограмме стандартного раствора; $m(s)$ – навеска предварительно высушенного рабочего стандарта, мг; T – содержание действующего вещества в рабочем стандарте, %; LC – заявленное содержание действующего вещества в таблетке, мг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенного исследования можно сделать вывод об эквивалентности профилей высвобождения препаратов Депакин® хроно, таблетки пролонгированного действия, 500 мг, в сравнении с препаратами Энкорат® хроно, таблетки пролонгированного действия, 500 мг; Вальпарин® ХР, таблетки пролонгированного действия, 500 мг; Конвулекс®, таблетки пролонгированного действия, 500 мг; в средах буферных растворов с рН 6,8 (контроля качества) и рН 4,5 на основании полученных значений факторов подобию f_2 в интервале от 50 до 100 (усреднённые значе-

ния высвобождения и факторы подобию приведены в таблицах 1 и 2, профили высвобождения приведены на рисунках 3 и 4). Вместе с тем можно сделать вывод о статистически значимом отличии профиля высвобождения препарата Депакин® Хроносфера, гранулы пролонгированного действия, 500 мг, в средах буферных растворов с рН 6,8 (контроля качества) и рН 4,5 на основании полученных значений факторов подобию f_2 менее 50. В обеих средах наблюдается более интенсивное высвобождение вальпроата из препарата Депакин® Хроносфера. Известно, что для субстанций класса II БКС существует значимая корреляция *in vitro* – *in vivo*: скорость поступления АФИ в системный кровоток лимитируется его высвобождением в ЖКТ [6]. Таким образом, можно сделать предположение о том, что изученные гранулы могут иметь отличающиеся от таблеток фармакокинетические параметры и отличаются по своему терапевтическому действию. Этот вопрос особенно важен для препаратов вальпроевой кислоты, так как они относятся к категории препаратов с узким терапевтическим индексом [4, 5]. Однако несмотря на признанную в России и за рубежом информативность СТКР [13], существует возможность некорректного отражения поведения препарата в реальных условиях ЖКТ [14]. Так, «Руководство по экспертизе лекарственных средств», том I, рекомендует отдавать приоритет исследованиям биоэквивалентности, поэтому предположения об отличии терапевтического действия препарата Депакин® Хроносфера, полученные при помощи СТКР, не могут иметь самостоятельного значения в клинической практике [10].

Таблица 1.

Усреднённые значения высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия, а также значения f_2 в среде с рН 6,8

Название/ время, ч	0,5	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	18	f_2 от Депакин® хроно, %
Депакин® хроно	12,9	22,1	34,5	43,2	50,1	60,3	68,0	73,7	78,3	81,9	84,7	87,0	N/A
Энкорат® хроно	13,4	25,3	40,2	50,3	58,2	69,8	77,6	84,3	89,4	93,1	95,6	98,3	52,4
Вальпарин® ХР	10,4	18,9	33,1	44,6	54,9	69,7	79,6	86,1	90,7	94,1	96,6	98,5	51,9
Конвулекс®	16,1	25,6	38,0	46,5	52,9	62,4	70,0	76,7	82,5	87,3	91,8	93,8	68,1
Депакин® Хроносфера	27,3	40,2	54,7	63,8	70,3	78,1	83,0	86,6	89,1	91,6	93,3	94,2	40,7

Таблица 2.

Усреднённые значения высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия, а также значения f_2 в среде с рН 4,5

Название/ время, ч	0,5	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	18	f_2 от Депакин® хроно, %
Депакин® хроно	8,4	14,6	24,1	31,7	37,5	46,2	52,4	57,6	61,0	64,7	67,5	69,3	N/A
Энкорат® хроно	10,6	17,2	26,4	33,7	39,3	48,3	55,2	60,0	64,2	67,0	70,2	70,9	79,4
Вальпарин® ХР	7,9	14,8	25,0	32,9	39,5	50,4	59,1	65,6	70,1	73,6	77,0	79,9	59,3
Конвулекс®	10,7	16,1	22,9	28,4	33,6	41,8	49,3	56,1	61,4	65,4	68,5	70,8	79,2
Депакин® Хроносфера	23,7	32,7	43,8	51,7	57,2	65,4	71,0	75,3	78,6	81,7	84,3	86,6	37

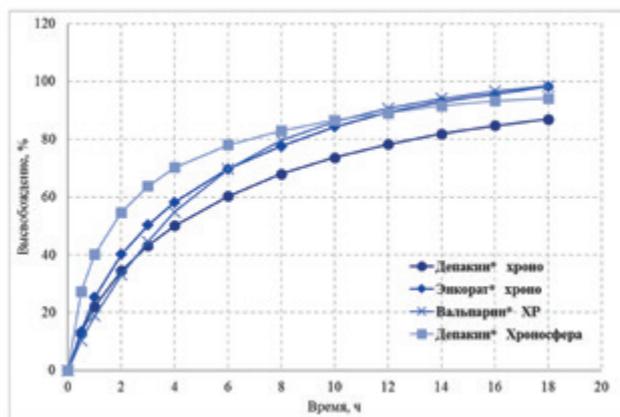


Рисунок 3. Профили высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия в среде с pH 6,8

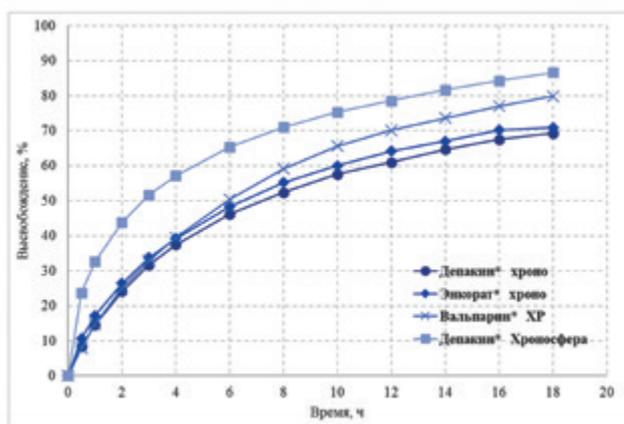


Рисунок 4. Профили высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия в среде с pH 4,6

Результаты исследований в среде буферного раствора с pH 1,2 не приводятся по причине их малой информативности. В данной среде высвобождение АФИ происходит с низкой интенсивностью, так как вещество переходит в неионизированную форму, что согласуется с имеющимися литературными данными [8]. Отметим, что наиболее значимыми являются результаты, полученные в среде с pH 6,8 (цитратно-фосфатный буфер, среда контроля качества), так как именно в соответствующем отделе ЖКТ большую часть времени находится пролонгированный препарат перорального применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов исследования можно сделать вывод об эквивалентности профилей высвобождения АФИ для изученного перечня таблеток вальпроевой кислоты пролонгированного действия различных производителей. Высвобождение АФИ из препарата Депакин® Хроносфера, гранулы пролонги-

рованного действия, 500 мг («Санофи Винтроп Индустрия», Франция), происходит с большей скоростью, что может указывать на отличия и в терапевтическом действии, так как для субстанций класса II БКС, к которым относится вальпроевая кислота, существует значимая корреляция *in vitro* – *in vivo*. Так как вальпроевая кислота является препаратом с узким терапевтическим индексом, данное обстоятельство приобретает особую важность. Тем не менее этот вывод не может учитываться в терапевтической практике без подкрепления результатами соответствующих клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вальпроевая кислота (Valproic acid) // Регистр лекарственных средств России: РЛС. URL: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_380.htm (дата обращения: 03.10.17).
2. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств (ЖНВЛП): распоряжение Правительства Российской Федерации от 07.12.2016 № 2199-р.
3. Г.В. Раменская, А.Ю. Савченко, И.Е. Шохин, М.А. Котлова, Ю.И. Кулинич, Г.Ф. Василенко, В.Г. Кукес. Биофармацевтическая классификация жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств // Фармация. 2011. № 5. С. 3–11.
4. Н.Н. Судилова, А.С. Андреева. Терапевтический лекарственный мониторинг оптимизация терапии противосудорожными препаратами // Современные наукоемкие технологии. 2004. № 3.
5. Е.Ю. Пастернак и др. Проблемы взаимозаменяемости противосудорожных средств: безопасность и эффективность препаратов вальпроевой кислоты // Неврологический журнал. 2015. Т. 20. № 5. С. 34–39.
6. R. Hanson, V. Gray. Handbook on Dissolution Testing. 3rd edition // Dissolution Technologies. 2004.
7. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. – М.: Гриф и К., 2014. 344 с.
8. А.А. Львова и др. Изучение кинетики растворения пролонгированного препарата вальпроевой кислоты (Депакин® хроно) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 3. С. 158–161.
9. База данных БКС. URL: <http://www.fptl.ru/pharmrazrabotka/BCS/350.pdf> (дата обращения: 03.10.17).
10. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. – М.: Гриф и К., 2013. 328 с.
11. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств: методические указания Минздравсоцразвития России. Приложение 4. – М. 2008.
12. FDA dissolution database. URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/> (дата обращения: 14.09.17).
13. А.А. Свистунов, Г.В. Раменская, И.Е. Шохин. Испытание «Растворение» в фармацевтической практике. Современные подходы, концепции и биофармацевтические аспекты // Ремедиум. 2011. № 11. С. 79–80.
14. Г.В. Раменская и др. Испытание «Растворение» в средах, моделирующих физиологические условия, как способ оценки поведения лекарственных средств *in vivo* // Биомедицинская химия. 2011. Т. 57. № 5. С. 482–489.



Введение

Определение остаточных растворителей – критически важная задача для фармацевтической промышленности. Правильный выбор растворителя в производстве может увеличить выход или повлиять на химические свойства синтезируемого продукта. Однако растворители не увеличивают эффективность продукта. Для обеспечения соответствия спецификациям и нормативам надлежущей производственной практики растворители необходимо удалить, насколько это возможно. Поэтому определение остаточных растворителей – это обязательная стадия в процессе производства или очистки.

Обзор технической информации

- Специализированная готовая система, использующая ГХ Intuvo 9000, парофазный пробоотборник 7697A и колонки Agilent Ultra Inert.
- Анализаторы настраиваются и тестируются на заводе в сборе, с прилагающимися методиками, и поставляются с результатами заводских испытаний.

В соответствии со статьей 467 фармакопеи США для этого используется анализ на одной колонке, с повторным анализом в случае превышения предельной концентрации. С помощью ГХ Agilent Intuvo 9000 с парофазным пробоотборником Agilent 7697A и делителем потока оба анализа можно параллельно провести на одной системе с двумя колонками и двумя детекторами.

Анализатор остаточных растворителей на базе ГХ Agilent Intuvo 9000 добавляет к инновациям Intuvo в области простоты использования улучшенный процесс разработки готовых прикладных решений с использованием готовых методик, разработанных компанией Agilent и поставляемых вместе с результатами с завода.

- После установки система тестируется еще раз на соответствие результатам заводских испытаний.

ГХ Intuvo 9000 можно сконфигурировать для работы с делителем потока, что позволяет использовать две колонки или два детектора. С помощью колонки Agilent Ultra Inert анализы можно определять как количественно, так и качественно – по временам удерживания.

Оборудование

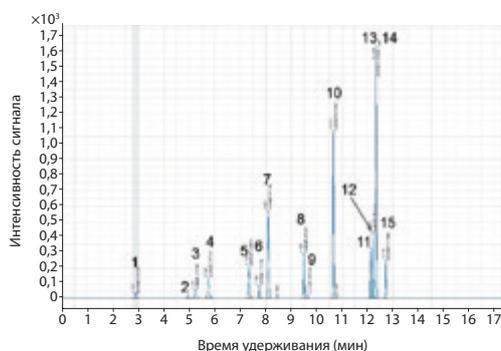
- Парофазный пробоотборник Agilent 7697A.
- ГХ Agilent 9000 Intuvo с делителем потока и двумя ПИД.
- Капиллярные колонки Agilent Ultra Inert для Intuvo: DB-Select 624 UI (123-0334UI-INT) и DB-WAX UI (123-7032UI-INT).
- Проверен на заводе Agilent и после установки на смеси остаточных растворителей Agilent, соответствующей требованиям статьи 467 фармакопеи США (5190-0492).

Результаты и обсуждение

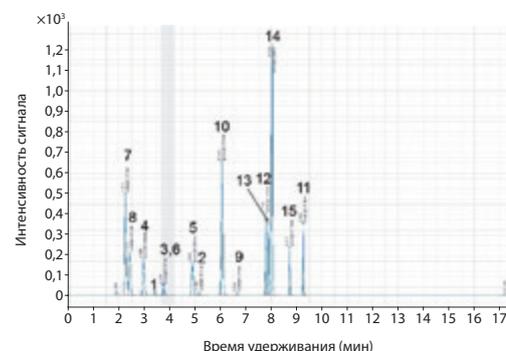
Анализатор остаточных растворителей Intuvo с парофазным пробоотборником 7697A и колонками Agilent Ultra Inert объединяет в себе компактность и простоту использования.

Надежное оборудование и готовое решение экономят время, необходимое для разработки методики, и позволяют получать быстрые и заслуживающие доверия результаты.

Agilent DB-624 Select UI (123-0334UI-INT).



Agilent DB-Wax UI (123-7032UI-INT).



Хроматограмма смеси остаточных растворителей (5190-0492) на капиллярной колонке Agilent Ultra Inert.

- | | | |
|---------------------------|---------------------|-----------------|
| 1. Метанол | 6. Тетрагидрофуран | 11. Хлорбензол |
| 2. Ацетонитрил | 7. Циклогексан | 12. Этилбензол |
| 3. Хлористый метилен | 8. Метилциклогексан | 13. Мета-ксилол |
| 4. Транс-1,2-дихлорэтилен | 9. 1,4-диоксан | 14. Пара-ксилол |
| 5. Цис-1,2-дихлорэтилен | 10. Тoluол | 15. Орто-ксилол |

УДК 616-03; 616-003.9

ИЗУЧЕНИЕ ПУТЕЙ МИГРАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ЛУЧЕВЫМ ОЖОГОМ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ

К.А. Лунёва^{1*}, А.С. Лунёв¹, О.Е. Клементьева¹, К.Э. Терновская¹,
Т.А. Астрелина¹

Резюме. Смоделированное местное лучевое поражение у кроликов контрастно визуализировалось через 48 ч после введения ¹¹¹In-меченых мезенхимальных стволовых клеток тремя различными способами (внутривенно, местно, внутрисердечно). Таким образом, проведение ОФЭКТ-исследования кроликов с местным лучевым поражением кожи визуально подтвердило возможность использования ¹¹¹In-меченых мезенхимальных стволовых клеток для визуализации и изучения процесса их миграции и достижения патологического очага.

Ключевые слова: индий-111, мезенхимальные стволовые клетки, лучевой ожог, ОФЭКТ.

STUDY OF THE WAYS OF MESENCHYMAL STEM CELLS MIGRATION IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL RADIATION SKIN BURNS

К.А. Lunyova^{1*}, А.С. Lunyov¹, О.Е. Klementyeva¹, К.Е. Ternovskaya¹, Т.А. Astrelina¹

Abstract. Rabbits' model of local radiation burn has been imaged clearly in 48 h past injection of ¹¹¹In-labeled mesenchymal stem cells using three methods of injection (intravenously, locally, intracardially). SPECT Imaging of rabbits with model of skin radiation burn has confirmed possibility to use ¹¹¹In-labeled mesenchymal stem cells for imaging and studying of its migration and accumulation in pathologic foci.

Keywords: indium-111, mesenchymal stem cells, radiation burn, SPECT Imaging.

1 – ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России), 123182, Россия, г. Москва, ул. Живописная, д. 46

1 – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA of Russia, 46, Zhivopisnaya str., Moscow, 123182, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: christfmbc@gmail.com

Тел.: 8 (499) 190 95 82

ВВЕДЕНИЕ

Одним из серьезных осложнений дистанционной лучевой терапии являются местные лучевые поражения (МЛП). Трудности терапии обусловлены характерными для лучевых язв нарушениями обменных и пролиферативных процессов в тканях, изменениями в состоянии как тканевой, так и регионарной циркуляции в зоне повреждения [1]. В ряде случаев невозможно их избежать, поскольку приоритетом является лечение основного заболевания (злокачественного новообразования), связанного с неизмеримо большим риском для жизни пациента. Развивающиеся ранние и поздние лучевые повреждения часто приводят к потере трудоспособности у социально активных лиц и значительно снижают качество их жизни. Поэтому необходимо вести дальнейший поиск и проводить активное вне-

сение новых методов терапии и реабилитации данной категории онкологических больных [2].

Определение объема МЛП позволит наилучшим образом определить тактику его дальнейшего лечения с применением высокотехнологического метода – системного введения мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Область применения МСК в клинической практике достаточно широка, так как их способность восстанавливать функции органов и замещать поврежденные клетки и ткани может стать достойной альтернативой иным методам лечения [3]. К примеру, в литературе описано множество случаев позитивного применения МСК при инсульте, почечной недостаточности, болезни Альцгеймера и Паркинсона, аутоиммунных заболеваниях, в частности болезни Крона, псориазе и других [4–7].

Однако внедрение в клиническую практику трансплантации МСК во многом зависит от изучения эффективности их накопления в определенных мишенях. Одним из способов определения объема МЛП и исследования биораспределения МСК в организме является их мечение радионуклидом (γ -эмиттером), позволяющим впоследствии произвести регистрацию ионизирующего излучения методами прямой радиометрии или эмиссионной томографии (ОФЭКТ), предоставляющими возможность не только визуальной, но и количественной оценки накопления. Множество различных соединений и клеток, меченных изотопом индия ^{111}In , благодаря его выгодным ядерно-физическим характеристикам (таблица 1) более 20 лет применяются в ядерной медицине [8].

Таблица 1.

Ядерно-физические характеристики индия-111

Период полураспада, сутки	Тип распада	Энергии γ -излучения, кэВ (доля)	Дочерний радионуклид
2,8047	электронный захват (100%)	171 (90,7%) 245 (94,1%)	кадмий-111

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемый радиофармпрепарат (РФП) представляет собой комплекс индия-111 с 8-гидроксихинолином (^{111}In -оксин), используемый для последующего мечения им МСК (рисунок 1).

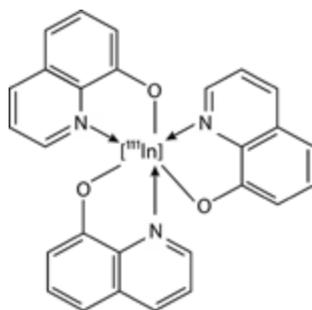


Рисунок 1. Предполагаемая формула комплекса индия-111 с 8-гидроксихинолином

Для приготовления радиофармпрепарата (раствора для мечения клеток) во флакон с лиофилизатом вводили 1,0 мл раствора индия хлорида, ^{111}In , с необходимой объемной активностью путем прокола иглой шприца резиновой пробки. Полученный раствор перемешивали. Препарат был готов к применению после полного растворения лиофилизата.

МСК человека были получены из специализированной лаборатории цитологии, генетики и иммунологии центра биомедицинских технологий ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна (руководитель центра – Т.А. Астрелина, д.м.н). К суспензии стволовых клеток (~106 клеток), находящихся в бессывороточной среде, вносили 100 мкл раствора ^{111}In -оксина с заданной объемной активностью (37 МБк/мл), после чего полученную смесь инкубировали в течение 30 и 60 мин при комнатной температуре. Затем образцы центрифугировали в течение 5 мин со скоростью вращения 5000 об/мин на центрифуге MiniSpin plus (Eppendorf, Германия) и разделяли в приготовленные заранее пробирки на надосадочную жидкость с оставшимся в растворе свободным индием-111 (не связанным с СК), смыв с мембран и собственно клетки. В пробирки с осадком клеток вносили 1 мл охлажденного раствора Хэнкса и аккуратно ресуспендировали, затем центрифугировали и удаляли надосадок в еще одну пробирку. Для определения интернализованной фракции в суспензию клеток вносили глициновый буферный раствор (50 мМ глициновый буферный раствор в 0,1 М растворе хлорида натрия с pH 2,8). Клетки инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре, затем центрифугировали, супернатант удаляли в отдельную пробирку и добавляли по 1 мл раствора Хэнкса. Методом прямой радиометрии на автоматическом гамма-счетчике Wizard 2480 (PerkinElmer, США) определяли активность в каждой из пробирок и рассчитывали эффективность мечения клеток (в % от общей активности) и интернализацию (в % от суммы счета клеток и смыва с мембран).

Интернализацию I рассчитывали как отношение интернализованной активности к общей активности, связанной с клетками (то есть интернализованной активности и фракции, связанной с рецепторами, расположенными на мембранах).

$$I = \frac{N_C}{N_{MF} + N_C} \cdot 100\%.$$

Эффективность мечения рассчитывали по формуле:

$$\omega = \frac{N_{MF} + N_C}{\sum_i N_i} \cdot 100\%.$$

где N_{MF} – счет пробирок со смывами с мембран (membrane flushing), N_C – счет пробирок с клетками (cells), $\sum_i N_i$ – сумма счета всех исследуемых пробирок.

Жизнеспособность ^{111}In -меченых МСК оценивали путем их прижизненного окрашивания трипановым синим до процедуры мечения, сразу после мечения и через 3 ч после мечения. В данном исследовании использовали метод элиминации красителя трипановый синий, который позволяет количественно оценить соотношение жизнеспособных (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) клеток путем их микроскопирования и подсчета в камере Горяева.

Эксперимент проводился на половозрелых кроликах (масса 1,2–1,5 кг), полученных из сертифицированного питомника лабораторных животных ООО «КролИнфо». Все манипуляции с животными проводили в соответствии с Директивой 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях [9].

В исследовании использовалась стандартная модель тяжелых местных лучевых поражений (МЛП) кожи при действии относительно «мягкого» рентгеновского излучения на модифицированной установке РАП100-10 (ООО «Диагностика-М», Россия). Рентгеновский аппарат, используемый в данной установке, способен работать при напряжении от 30 до 100 кВ и токе трубки от 6,1 до 10 мА. Аппарат имеет бериллиевое выходное окно излучения.

В установке предусмотрен подъёмный столик для вертикального перемещения облучаемого животного, система коллимации излучения, позволяющая менять размер поля излучения от 5 до 50 мм на расстоянии 100 мм от излучателя, лазерный указатель центра поля излучения и цифровая видеокамера для наблюдения за животным в процессе облучения.

Дозиметрические характеристики установки исследовались с помощью фантома, состоящего из тонких термолюминесцентных детекторов ТТЛД-580 и прокладок из фторопласта общей толщиной 30 мм, помещенного в плексигласовый цилиндр. Облучение фантома производилось при напряжении на трубке 30 кВ и токе 6,1 мА, с алюминиевым фильтром толщиной 0,1 мм, в течение 60 с. Расстояние от источника излучения до поверхности сборки составляло 9 см.

Животных облучали в течение 380 с до достижения дозы на поверхности кожи 110 Гр (мощность дозы – 17,5 Гр/мин) с алюминиевым фильтром 0,1 мм.

Во время облучения животных фиксировали в специальном станке на животе. Локальное облучение проводилось после удаления шерсти, площадь облучения составляла 8,2–8,5 см².

Процедуру планарной сцинтиграфии проводили на ОФЭКТ/КТ-томографе Philips Precedence 16 с настройкой фотопиков 171/245 кэВ с кроликами с МЛП кожи через 48 ч после введения различными путями ¹¹¹In-меченых МСК: внутривенно, местно (непосредственно в область МЛП кожи) и внутрисердечно. После проведения процедуры ОФЭКТ животных выводили из эксперимента путем умерщвления с дальнейшим отбором крови, проб органов и участков здоровой и пораженной кожи для количественной оценки накопления методом прямой радиометрии на автоматическом гамма-счетчике Wizard 2480 (PerkinElmer, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После проведения методологических процедур по мечению МСК с использованием ¹¹¹In-оксина были получены следующие результаты, представленные в таблице 2.

Таблица 2.

Эффективность мечения мезенхимальных стволовых клеток и интернализация

Время инкубирования, мин	Эффективность мечения, %	Интернализация, %
30	68,4±1,2	90,2±2,0
60	69,7±2,5	87,6±1,8

Анализ полученных результатов показал, что эффективность мечения, достигаемая для равных объемных активностей инкубационной среды, не зависит от времени инкубирования, поэтому в целях сокращения времени пребывания МСК вне организма достаточно инкубировать их в растворе РФП в течение 30 мин. Эксперименты по изучению интернализации показали, что изученный РФП достаточно быстро и в значительной степени проникает внутрь стволовых клеток. Столь существенная доля интернализированной активности связана с химической природой органического носителя индия-111 – 8-оксихинолина (оксина), который, как известно, является жирорастворимым соединением, что позволяет ему свободно диффундировать через клеточную мембрану, после чего радионуклид внутри клеток связывается с фосфолипидами клеточных мембран и внутренних структур клетки.

Показатели жизнеспособности стволовых клеток приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Показатели жизнеспособности мезенхимальных стволовых клеток

Время инкубирования, мин	Жизнеспособные клетки, %		
	До процедуры мечения	Сразу после процедуры мечения	Через 3 ч после процедуры мечения
30	90,6±1,3	90,1±0,9	86,3±1,6
60	92,9±1,8	83,6±1,6	72,5±1,8

Исследования, проведенные с целью выяснения влияния условий процедуры инкубирования МСК с индиймеченым комплексом, показали определенную зависимость сохранения их жизнеспособности от времени инкубирования и срока пребывания вне организма после его окончания. Отмечено некоторое снижение жизнеспособности МСК, находящихся в условиях *in vitro* в течение трех часов после окончания процедуры мечения.

Полученные ¹¹¹In-меченые МСК вводили кроликам со смоделированным МЛП кожи. Клиническая картина течения лучевого поражения кожи кроликов, облученных в дозе 110 Гр, развивалась по обычному сценарию. Латентный период длился 7–9 суток, когда поражения кожи не определяли визуально. Затем появлялась гиперемия, нарушался нормальный то-

нус кожи. На 12–13-е сутки после облучения у кроликов регистрировали проявления сухого дерматита, а к 14–16-м суткам сухой дерматит переходил во влажный. К 17–25-м суткам после облучения на коже кроликов образовывались язвы, которые представляли собой слившиеся очаги с серозно-геморрагическим отделяемым, быстро ссыхающиеся в тонкие коричневые корочки.

После внутривенного введения ^{111}In -меченых МСК происходила их миграция из кровотока, и уже через 3 ч после введения они регистрировались в легких и почках. В течение последующих двух суток активность в легких заметно снижалась, а в лучевом ожоге, напротив, увеличивалась, однако активность в почках оставалась на высоком уровне (рисунок 2).

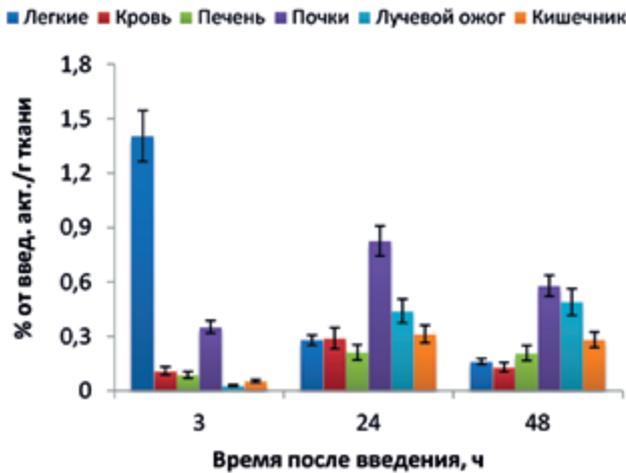


Рисунок 2. Гистограмма накопления ^{111}In -меченых МСК (внутривенное введение) в органах и тканях кроликов

После сканирования кролика с моделью патологии через 48 ч после внутривенного введения ^{111}In -меченых МСК получили изображение, подтверждающее количественные характеристики его фармакокинетики (рисунок 3).

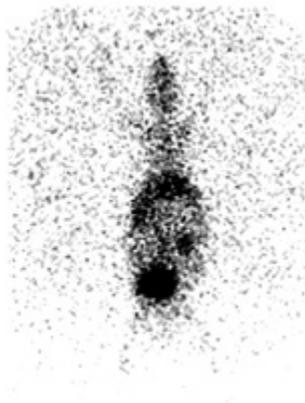


Рисунок 3. Сцинтиграмма кролика через 48 ч после внутривенного введения ^{111}In -меченых МСК

На сцинтиграмме отчетливо видны отдельные локусы почек и печени, а также самого лучевого поражения кожи (отмечено стрелкой). При расчете коэффициентов дифференциального накопления (КДН), показывающих отношение накопления между различными органами и тканями, видно (таблица 4), что визуализация

лучевого поражения с использованием ОФЭКТ возможна уже через 24 ч после внутривенного введения ^{111}In -меченых МСК.

Таблица 4.

Значения коэффициентов дифференциального накопления для кроликов с внутривенным введением ^{111}In -меченых МСК

КДН	3 ч	24 ч	48 ч
Л. ожог/Мышца	5,24±2,50	14,88±3,72	20,13±1,15
Л. ожог/Кровь	0,32±0,05	1,42±0,56	3,81±0,42

При местном введении ^{111}In -меченых МСК удалось подтвердить практически полное отсутствие распределения и миграции МСК из места введения (рисунок 4).

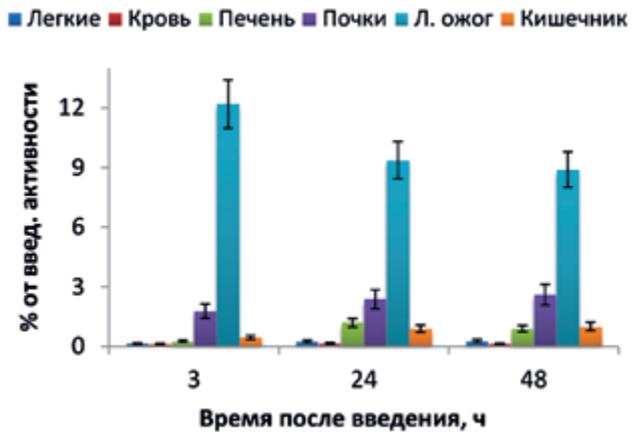


Рисунок 4. Гистограмма накопления ^{111}In -меченых МСК (местное введение) в органах и тканях кроликов

Заметные количества активности регистрировались в почках через 24 и 48 ч после введения, что подтвердилось при получении сцинтиграммы кролика (рисунок 5).

Однако согласно исследованиям *in vitro* по определению жизнеспособности меченых МСК (таблица 3) можно предположить, что через 48 ч после введения некоторая доля МСК погибает, вследствие чего радиоактивность из них попадает в кровоток и аккумулируется в почках. При анализе значений КДН (таблица 5) можно сделать вывод о постепенной миграции



Рисунок 5. Сцинтиграмма кролика через 48 ч после местного введения ^{111}In -меченых МСК

активности из места введения в кровь и мышечную ткань, так как их значения во времени уменьшаются, однако остаются значительно больше единицы, что подразумевает возможность проведения процедуры визуализации в течение длительного периода после местного введения ^{111}In -меченых МСК.

Таблица 5.

Значения коэффициентов дифференциального накопления для кроликов с внутривенным введением ^{111}In -меченых МСК

КДН	3 ч	24 ч	48 ч
Л. ожог/Мышца	406,67±47,08	234,50±33,31	222,50±29,65
Л. ожог/Кровь	101,67±14,21	58,63±7,12	68,46±7,68

При внутрисердечном введении ^{111}In -меченых МСК происходит их быстрая миграция в кровоток, откуда они аккумулируются в смоделированном ожоге, а также заметно – в почках, печени и легких (рисунок 6).

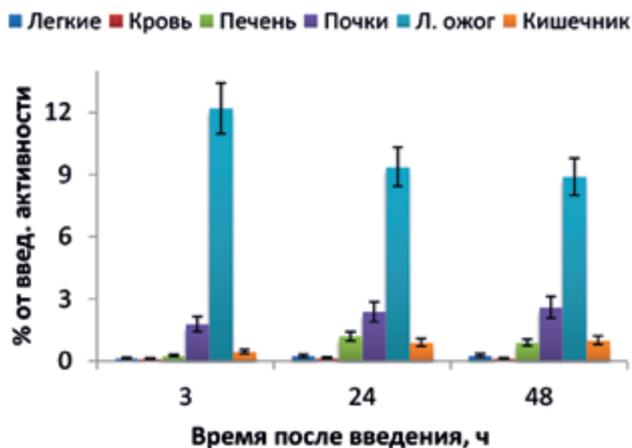


Рисунок 6. Гистограмма накопления ^{111}In -меченых МСК (местное введение) в органах и тканях кроликов



Рисунок 7. Сцинтиграмма кролика через 48 ч после внутрисердечного введения ^{111}In -меченых МСК

Полученная сцинтиграмма подтвердила количественные данные биораспределения ^{111}In -меченых МСК и позволила провести анализ, в результате которого стало очевидно, что фармакокинетика при внутрисердечном введении меченых МСК отчасти схожа с фармакокинетикой при внутривенном введении (рисунок 7).

Расчет КДН показал, что контрастная визуализа-

ция патологического очага с использованием ОФЭКТ возможна через 24–48 ч после введения ^{111}In -меченых МСК (таблица 6).

Таблица 6.

Значения коэффициентов дифференциального накопления для кроликов с внутривенным введением ^{111}In -меченых МСК

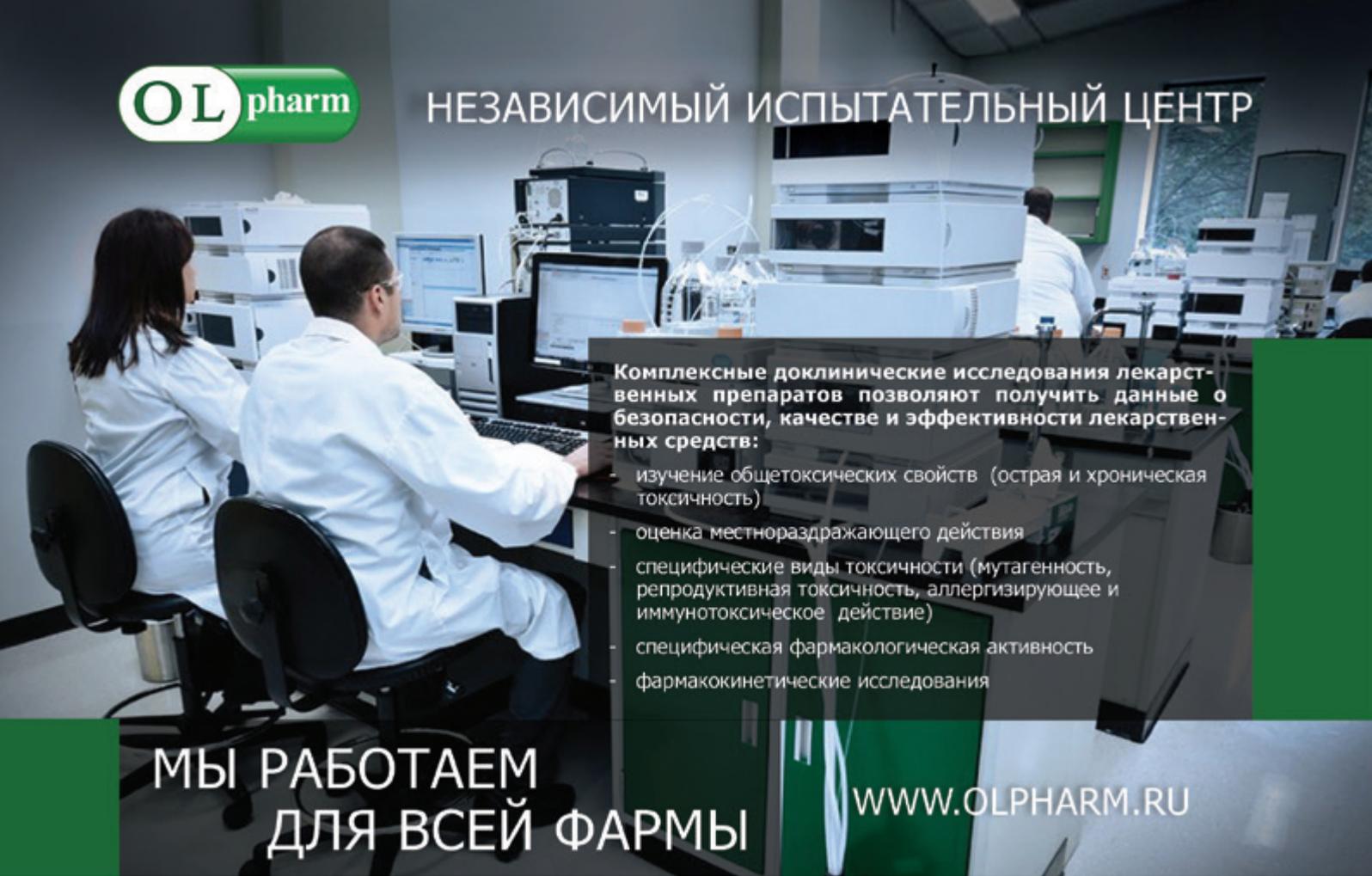
КДН	3 ч	24 ч	48 ч
Л. ожог/Мышца	1,00±0,09	7,00±0,11	19,00±0,99
Л. ожог/Кровь	0,12±0,02	1,75±0,10	7,60±0,16

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведение ОФЭКТ с кроликами с МЛП кожи визуально подтвердило возможность использования ^{111}In -меченых МСК для визуализации процесса их миграции при различном пути введения и достижения патологического очага.

ЛИТЕРАТУРА

1. П.С. Еремин, Н.А. Пигалева, М.Б. Мурзабеков и др. Исследование эффективности применения клеточных продуктов на основе жировой ткани для терапии тяжелых местных лучевых поражений // Саратовский научно-медицинский журнал. 2014. Т. 10. № 4. С. 838–844.
2. K.V. Kotenko, B.B. Moroz, N.F. Nadezhina et al. Successful treatment of localized radiation lesions in rats and humans by mesenchymal stem cell transplantation // Radiation Protection Dosimetry. 2012. V. 151(4). P. 661–665.
3. Y. Sasaki, M. Sasaki, Y. Kataoka-Sasaki et al. Synergic Effects of Rehabilitation and Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells After Stroke in Rats // Physical therapy. 2016. V. 96(11). P. 1791–1798.
4. S. Wray, N.C. Fox et al. Stem cell therapy for Alzheimer's disease: hope or hype? // Lancet Neurology. 2016. V. 15(2). P. 133–133.
5. S. Cerri, R. Greco, G. Levandis et al. Intracarotid Infusion of Mesenchymal Stem Cells in an Animal Model of Parkinson's Disease, Focusing on Cell Distribution and Neuroprotective and Behavioral Effects // Stem Cells translational Medicine. 2015. V. 4. P. 1–13.
6. О.В. Князев, А. А. Чурикова. Антицитокиновая терапия и качество жизни больных воспалительными заболеваниями кишечника // Доказательная гастроэнтерология. 2014. Т. 2. С. 17–23.
7. A. Campanati, M. Orciani, J. Ganzetti et al. The effect of etanercept on vascular endothelial growth factor production by cutaneous mesenchymal stem cells from patients with psoriasis // Journal of International Medical Research. 2016. V. 44(15). P. 6–9.
8. V. Fong, L. Johnson. Indium-111 labeled leukocyte accumulation in extremity soft tissue sarcoma // Radiology Case Reports. 2017. V. 12. № 2. P. 383–385.
9. Directive 2010/63/EU of 22/09/2010 Guide for the care and use of laboratory animals 8th edition. National Academy of Sciences. Washington, D.C. 2010.



Комплексные доклинические исследования лекарственных препаратов позволяют получить данные о безопасности, качестве и эффективности лекарственных средств:

- изучение общетоксических свойств (острая и хроническая токсичность)
- оценка местнораздражающего действия
- специфические виды токсичности (мутагенность, репродуктивная токсичность, аллергизирующее и иммуотоксическое действие)
- специфическая фармакологическая активность
- фармакокинетические исследования

МЫ РАБОТАЕМ ДЛЯ ВСЕЙ ФАРМЫ

WWW.OLPHARM.RU

Исследования в области микробиологии

- исследование и тестирование чувствительных патогенных микроорганизмов к антимикробным лекарственным средствам
- изучение антимикробного действия лекарственных средств в отношении определенных видов микроорганизмов во избежание неправильной оценки полученных результатов перед испытанием на микробиологическую чистоту и стерильность
- анализ антагонистической активности пробиотических штаммов и препаратов на их основе методом отсроченного антагонизма на плотной среде в чашках Петри



Исследования в области разработки лекарственных средств

- разработка и валидация аналитических методик
- стандартизация НД на лекарственные препараты
- изучение стабильности лекарственных средств
- изучение кинетики растворения
- исследование фармакокинетики в рамках проведения биоэквивалентности
- проведение трансфера методик

Аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.21ФЛ10
от 08.10.2014

Лицензия № 77.01.13.001.Л.000142.04.09
от 30.04.2009 на выполнение работ с
микроорганизмами 3-4 групп патогенности

ООО «ОЛФАРМ»
117105, Г. МОСКВА,
УЛ. НАГАТИНСКАЯ, Д. 3А
ТЕЛ./ФАКС: +7 (499) 611-40-36
E-MAIL: INFO@OLPHARM.RU

УДК 547.398; 547.583

АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЗАМЕЩЕННЫХ АМИДОВ И ГИДРАЗИДОВ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Н.В. Колотова^{1*}, И.П.Рудакова¹

Резюме. Исследована антиаритмическая активность 19 производных 1,4-дикарбоновых кислот в опытах на белых мышах на модели хлоркальциевой аритмии и острая токсичность 6 соединений. В качестве эталона использовали препарат «Лидокаин». Два соединения проявили антиаритмическое действие, превышающее действие эталона в 6 раз [$ED_{50}=7,3$ мг/кг (5,3÷10,0)] и в 3 раза [$ED_{50}=6,9$ мг/кг (5,0÷9,5)] соответственно. 4-аминобензоилгидразид итаконовой кислоты обладает антиаритмической активностью, такие же производные янтарной, малеиновой, цитраконовой и диметилмалеиновой кислот не активны. Активность изоникотиноилгидразида фталевой кислоты превышает антиаритмическую активность эталона, такие же гидразиды малеиновой, диметилмалеиновой и тетрахлорфталевой кислот антиаритмическим действием не обладают. Проведен анализ зависимости антиаритмической активности от структуры соединений.

Ключевые слова: монозамещенные амиды и гидразиды, 1,4-дикарбоновые кислоты, антиаритмическая активность, острая токсичность.

ANTIARRHYTHMIC ACTIVITY MONOGAMISTIC AMIDES AND HYDRAZIDES 1,4-DICARBOXYLIC ACIDS

N.V. Kolotova^{1*}, I.P. Rudakova¹

Abstract. The antiarrhythmic activity of 19 derivatives 1,4-dicarboxylic acids in experiments on white mice on the model of chlorocalcium arrhythmia and acute toxicity of 6 compounds. As a standard, the drug «Lidocaine» was used. Two compounds showed an antiarrhythmic effect exceeding the standard effect by 6 times [$ED_{50}=7.3$ mg/kg (5.3÷10.0)] and 3 times [$ED_{50}=6.9$ mg/kg (5.0÷9.5)]. 4-Aminobenzoylhydrazide itaconic acid has antiarrhythmic activity, the same derivatives of succinic, maleic, citraconic and dimethylmaleic acids are not active. Isonicotinoylhydrazide phthalic acid exceeds the antiarrhythmic activity of the standard, the same hydrazides of maleic, dimethylmaleic and tetrachlorophthalic acids do not possess an antiarrhythmic effect.

Keywords: monosubstituted amides and hydrazides, 1,4-dicarboxylic acids, antiarrhythmic activity, acute toxicity.

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

1 – Perm State Pharmaceutical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: kolotova.nina49@mail.ru

Тел.: 8 (342) 282 58 56

ВВЕДЕНИЕ

Антиаритмические средства назначают кардиологи при наличии у пациентов аритмии патологического характера, которая ухудшает качество жизни и может привести к развитию тяжелых осложнений. В настоящее время имеется достаточно большое количество антиаритмических препаратов с различным механизмом действия. Однако все они обладают побочными эффектами и имеют целый ряд противопоказаний к применению [1]. Известно, что производные янтарной, малеиновой и фталевой кислот проявляют антиаритмическую активность [2–7]. В связи с этим представляет интерес поиск соединений с антиаритмическим действием среди монозамещенных амидов и гидразидов различных 1,4-дикарбоновых кислот.

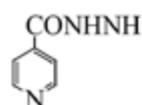
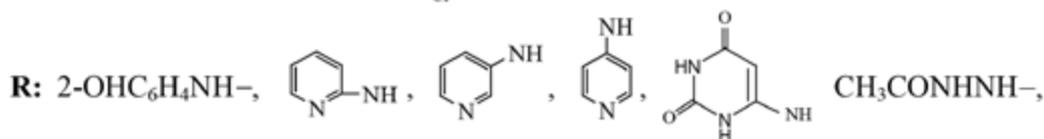
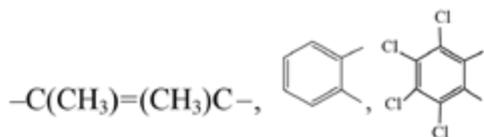
Целью данной работы является изучение антиаритмической активности, токсического действия ряда соединений и исследование зависимости биологического действия от структуры для монозамещенных амидов и гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами изучения антиаритмической активности и острой токсичности явились монозамещенные гетериламиды и ацилгидразиды янтарной, итаконовой, малеиновой, цитраконовой, диметилмалеиновой и фталевых кислот и соль гидразида малеиновой кислоты, полученные на кафедре аналитической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава РФ по известным методикам [7, 8], общей формулы:



где X-Y: $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}=\text{CH}_2$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-$,



R₁: H, K

Антиаритмическую активность исследовали на нелинейных белых мышах массой от 18 до 24 г, полученных из питомника «Андреевка» Московской области.

Активность исследовали на модели аритмии, вызванной внутривенным введением 3% раствора хлорида кальция в дозе 280 мг/кг [9]. В качестве эталона использовали антиаритмический препарат «Лидокаин» (ОАО «Биохимик», г. Саранск) с действующим сроком годности, приобретенный в аптечной сети.

Растворы исследуемых веществ вводили за 2 мин до воспроизведения аритмии. Их активность оценивали по способности предупреждать смертельные нарушения сердечного ритма.

Острую токсичность определяли на нелинейных белых мышах массой от 18 до 24 г при внутривенном способе введения водных растворов исследуемых веществ. Исследуемые вещества вводили из расчета 0,1 мл на 10 г массы в возрастающих дозах [10]. Для ряда соединений, которые не проявили антиаритмической активности, острую токсичность не определяли.

Среднесмертельную и эффективную антиаритмическую дозы определяли по методу В.Б. Прозоровского [10]. Результаты исследований приведены в таблице.

Оценка биологической активности в экспериментах на животных осуществлялась в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [11]. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3-96 «Общие требования к испытательным лабораториям») и приказу МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP) с соблюдением междуна-

рных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

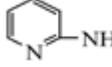
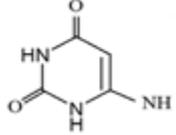
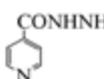
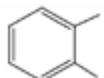
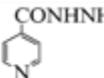
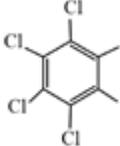
Нами были исследованы антиаритмическое действие 19 соединений и острая токсичность 6 соединений. Для монозамещенных гетериламидов (соединения 1–6) 1,4-дикарбоновых кислот антиаритмическое действие не обнаружено. Острая токсичность двух гетериламидов малеиновой и цитраконовой кислот (соединения 3, 4) достаточно высока. Из 13 монозамещенных ацилгидразидов 1,4-дикарбоновых кислот (соединения 7–19) два соединения (11 и 18) проявили антиаритмическую активность. 4-аминобензоилгидразид итаконовой кислоты (соединение 11) обладает антиаритмическим индексом 16,8, его относительная активность в 3 раза выше активности лекарственного препарата «Лидокаин», а острая токсичность в 3 раза ниже. Для 4-аминобензоилгидразидов янтарной, малеиновой, цитраконовой и диметилмалеиновой кислот (соединения 10, 12–14) антиаритмический эффект не обнаружен. Замена аминогруппы в гидразидном заместителе в соединении 11 на метоксильную (соединение 9) приводит к потере антиаритмического действия. Изоникотиноилгидразид фталевой кислоты (соединение 18) в 5,7 раза менее токсичен, чем «Лидокаин», его антиаритмический индекс равен 31,6, активность превышает антиаритмическую активность эталона в 6 раз. Изоникотиноилгидразиды малеиновой, диметилмалеиновой и тетрахлорфталевой кислот (соединения 16, 17, 19) антиаритмическим действием не обладают.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена антиаритмическая активность 19 производных различных 1,4-дикарбоновых кислот. Среди исследованных соединений обнаружены два соедине-

Таблица 1.

Острая токсичность и антиаритмическая активность производных 1,4-дикарбоновых кислот

п\п	X-Y	R	R ₁	ЛД ₅₀ , мг/кг	ЭД ₅₀ , мг/кг	Антиаритмический индекс	Относительная активность
1	CH ₂ -CH ₂		H	-	-	-	-
2	CH=CH		H	-	-	-	-
3	CH=CH		H	34,65 (25,0÷48,0)	-	-	-
4	CH=C(CH ₃)		H	65,0 (56,0÷75,0)	-	-	-
5	CH=C(CH ₃)		H	-	-	-	-
6	CH ₂ -CH ₂		H	-	-	-	-
7	CH ₂ -CH ₂	CH ₃ CONHNH	H	564,0 (470,0÷670,0)	-	-	-
8	CH=CH	CH ₃ CONHNH	K	30,0 (24,0÷38,0)	-	-	-
9	CH ₂ C=CH ₂	4-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	H	-	-	-	-
10	CH ₂ -CH ₂	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	H	-	-	-	-
11	CH ₂ C=CH ₂	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	H	116,0 (84,0÷160,0)	6,9 (5,0÷9,5)	16,8	3,3
12	CH=CH	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	H	-	-	-	-
13	CH=C(CH ₃)	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	H	-	-	-	-
14	C(CH ₃)=(CH ₃)C	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	H	-	-	-	-
15	CH ₂ C=CH ₂	2-OHC ₆ H ₄ CONHNH	H	-	-	-	-
16	CH=CH		H	-	-	-	-
17	C(CH ₃)=(CH ₃)C		H	-	-	-	-
18			H	231,0 (170,0÷320,0)	7,3 (5,3÷10,0)	31,6	6,2
19			H	-	-	-	-
Эталон		«Лидокаин»		39,3 (34,2÷44,5)	7,7 (5,9÷9,4)	5,1	1,0

ния с антиаритмическим эффектом, превышающим действие «Лидокаина», применяемого в кардиологии, к тому же менее токсичные. Поиск соединений с антиаритмической активностью среди производных 1,4-дикарбоновых кислот перспективен.

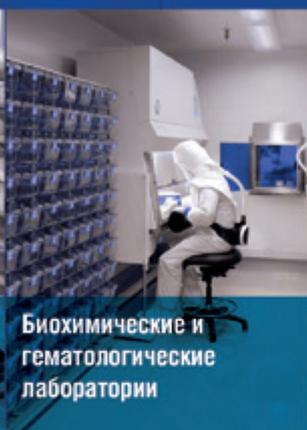
ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по кардиологии / Под ред. В.Н. Коваленко. – К.: Морион, 2008. 1424 с.
2. Патент Украины № 33864 (2001). Кардіотонічний засіб суфан у вигляді супозиторіїв / К.Х. Кулеш, С.П. Кустова, І.Б. Скачек и др. – № 99042248; заявл. 21.04.99; опубл. 15.02.01.
3. Патент Украины № 33865 (2001). Дикалієва сіль N-сукцин-DL-триптофану, що має антиангінальну та антигіпоксантичну дію / І.С. Чекман, О.І. Гриневич, Н.О. Горчакова, І.В. Ніженківська. – № 99042249; заявл. 09.07.99; опубл. 15.02.01.
4. А. с. СССР № 1095591 (1982). Аммонийная соль N-дифенилметил-
5. Н.В. Колотова, Е.Н. Козьминых, Б.Я. Сыропятов, И.П. Рудакова, Н.П. Скворцова, Н.М. Игидов, Н.И. Вахрина, В.О. Козьминых. Новые антиаритмические средства – производные арилденгидразидов малеиновой кислоты // IV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: тезисы докладов. Москва, 8–12 апреля 1997 г. – М.: РЦ «Фармединфо», 1997. С. 267.
6. В.О. Козьминых, Б.Я. Сыропятов. Замещенные амиды и гидразиды малеиновой кислоты. 3. Исследование антиагрегантной по отношению к тромбоцитам, антитромбиновой и антиаритмической активности солей бензилиден-, диарилметиленгидразидов и фениламида малеиновой кислоты // Хим.-фарм. журнал. 1993. Т. 27. № 2. С. 43–47.
7. Н.В. Колотова, Е.Н. Козьминых, В.Э. Колла и др. Замещенные амиды и гидразиды 1,4-дикарбоновых кислот. 7. Синтез и биологическая активность некоторых ацилгидразидов малеиновой, янтарной и фталевой кислот // Хим.-фарм. журнал. 1999. Т. 33. № 5. С. 22–28.
8. Н.В. Колотова, А.В. Старкова, С.В. Чащина. Синтез и биологическая активность монозамещенных гидразидов итаконовой и диметилмалеиновой кислот // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2016. № 3(13). С. 15–23.
9. В.В. Горбунова, Н.П. Горбунов. Сравнительное изучение активности антиаритмических средств при хлоркальциевой аритмии у мышей // Фармакология и токсикология. 1983. № 3. С. 48–50.
10. В.Б. Прозоровский, М.П. Прозоровская, В.М. Демченко. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // Фармакология и токсикология. 1978. Т. 41. № 4. С. 497–502.
11. А.Н. Миронов. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. – М.: Гриф и К, 2012. 197 с.

СОЗДАНИЕ И ОСНАЩЕНИЕ ВИВАРИЕВ ПО СТАНДАРТАМ GLP



Помещения для содержания SPF- и нестерильных конвенциональных животных



Биохимические и гематологические лаборатории



Гистологические лаборатории



Помещения для хранения фармацевтических субстанций и препаратов

Созданные нами лаборатории доклинических испытаний проводят исследования по изучению токсикологических воздействий на живой организм, оценку эффективности действия разработанных молекул на патофизиологические состояния биологических тест-систем, фармакокинетики и фармакодинамики препаратов.

УДК 615.242.017

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ДЕНТИНА

А.Л. Голованенко^{1*}, И.П. Рудакова¹, И.В. Алексеева¹, Е.С. Березина¹,
В.В. Новикова¹

Резюме. В результате комплекса научно-экспериментальных исследований разработаны гель и пленки лекарственные, обеспечивающие интенсивную минерализацию дентина. С помощью ранее проведенных доклинических исследований изучена специфическая реминерализующая активность и антимикробное действие, а также острая токсичность лекарственных форм. Для определения противовоспалительной активности на модели острого воспалительного отека проведена оценка прироста объема воспаленной стопы крыс вследствие введения флогогенного агента. На основании полученных результатов установлено, что гель и пленки лекарственные обладают достаточно выраженным противовоспалительным эффектом.

Ключевые слова: реминерализация, гель, пленки лекарственные, противовоспалительная активность, флогогенный агент.

THE STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF NEW MEDICINAL FORMS FOR THE TREATMENT OF CARIES OF THE DENTIN

A.L. Golovanenko^{1*}, I.P. Rudakova¹, I.V. Alekseeva¹, E.S. Berezina¹, V.V. Novikova¹

Abstract. As a result of a set of scientific and experimental studies, gel and drug films have been developed that provide intensive mineralization of dentin. Previously conducted preclinical studies have studied the specific remineralizing activity and antimicrobial effect, as well as acute toxicity of dosage forms. To determine the anti-inflammatory activity, a model of acute inflammatory edema was used to evaluate the increase in the volume of the inflamed foot of rats, by introducing a phlogogenic agent. Based on the results obtained, it is established that the gel and the drug films have a sufficiently pronounced anti-inflammatory effect.

Keywords: remineralization, gel, drug films, anti-inflammatory activity, phlogogenic agent.

1 – ФГБУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

1 – Perm state pharmaceutical Academy, Ministry of health of the Russian Federation, 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

В результате комплекса научно-экспериментальных исследований, проведенных на кафедре фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии совместно с кафедрой стоматологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Пермского государственного медицинского университета им. Е.А. Вагнера, предложен медикаментозный способ лечения среднего и глубокого кариеса реминерализующим гелем и пленками лекарственных форм (ПЛ). Реминерализующий гель и ПЛ обеспечивают интенсивную минерализацию дентина и тем самым «организуют смазанный слой» за счет образования новых неорганических структур, которые обеспечивают obturацию дентинных трубочек, и проницаемость дентина уменьшается до минимума. При своевременном насыщении дентина минеральными компонентами можно добиться восстановления его структуры и повысить резистентность зубов к кариесу.

Таким образом, гель и ПЛ способствуют восстановлению уровня минерального обмена и стимуляции репаративных процессов в тканях зуба за счет диффузии кальция в дентинные каналы, а также накоплению ионов кальция и фосфора и включению их в минеральную структуру околопульпарного дентина [1–5].

С помощью ранее проведенных доклинических исследований изучена специфическая реминерализующая активность, антимикробное действие, а также острая токсичность лекарственных форм (ЛФ).

Исследования реминерализующей активности ЛФ проведены на основании разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО ПГМУ им. Е.А. Вагнера. В комплексном стоматологическом исследовании приняли участие 135 пациентов (56 мужчин и 79 женщин) в возрасте от 21 до 37 лет. Изучены показатели распространенности интенсивности кариеса зубов, состояние гигиены полости рта; оценку состояния пульпы проводили по показателю ее возбудимости (ЭВП), а

степень минерализации дентина дна кариозной полости – по данным электропроводности дентина (ЭПД) с помощью прибора «Дентэст» фирмы «Геософт». Рентгенологическое исследование зубов осуществляли на визиографе фирмы Planmeca. У всех пациентов получены хорошие результаты лечения. Эффективность лечения через 2 недели по показателю ЭПД при глубоком кариесе составила 52,5%, а при среднем кариесе – 64,5%. Под действием реминерализующего геля достигается интенсивная минерализация дентина, нормализация состояния пульпы и создаются условия для герметичности пломбы. Применение геля показано для лечения кариеса дентина, особенно при остром течении процесса и показателях ЭПД выше 20–25 мкА. Об эффективности реминерализующего действия геля можно судить по снижению показателей ЭПД, которые уменьшаются вдвое, что позволяет пломбировать глубокие кариозные полости без лечебной подкладки [6].

Поскольку в качестве антимикробного компонента в ЛФ введен хлоргексидина биглюконат (ХГБ), проведено исследование антимикробной активности геля и ПЛ методом диффузии в агар, модифицированным с учетом специфики ЛФ. По результатам проведенного исследования установлено, что у разрабатываемых геля и ПЛ для реминерализации дентина присутствует слабо выраженный противогрибковый эффект, выявлена низкая антибактериальная активность в отношении грамотрицательных микроорганизмов, но отмечено более выраженное противомикробное действие в отношении представителей рода *Staphylococcus*. По показателю «микробиологическая чистота» гель и ПЛ соответствуют требованиям действующей ГФ [7,8].

В соответствии с Федеральным законом от 12 апреля 2010 года № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» при внедрении в клиническую практику лекарственных препаратов (ЛП) в рамках доклинических исследований обязательно определение их острой токсичности. Доклинические исследования острой токсичности направлены на выявление и оценку выраженности токсических эффектов, возникающих при взаимодействии фармакологических веществ с организмом лабораторных животных в условиях кратковременного применения, и позволяют получить данные, достаточные для определения возможности и риска проведения клинических испытаний лекарственных средств [9]. Установлено, что ЛФ относятся к IV классу опасности (практически нетоксично при пероральном применении в дозировке, которая превышает терапевтическую в 10 раз и более), что свидетельствует о высокой безопасности лекарственных средств (ЛС) [10].

Данные о характере патологических изменений при глубоком кариесе в пульпе и в твердых тканях зуба позволяют считать дентин дна кариозной полости раневой поверхностью и свидетельствуют о необходимости использования при его медикаментозном лечении ЛФ, обладающих противовоспалительным действием.

Целью данного исследования являлось изучение противовоспалительной активности геля и ПЛ для лечения кариеса дентина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все ЛП: кальция хлорид (ФС 42-2567-94), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79), натрия фторид (ГОСТ 4463-76), раствор хлоргексидина биглюконата 20% (ФС 42-2761-98) – фармакопейного качества; гелеобразователь – метилцеллюлоза (ТУ 2231-107-05742755-96м); пластификатор – глицерин (ФС 42-2202-99); вода очищенная (ФС 2.2.0020.15).

Объектами исследования являлись три серийных образца геля и ПЛ.

В работе использован фармакологический метод определения противовоспалительной активности, модифицированный с учетом специфики ЛФ.

Оценку биологической активности соединений проводили в опытах на животных, полученных из питомника «Андреевка» Московской области. Животные содержались в типовом виварии с естественным 12-часовым светотеневым циклом при температуре воздуха 20 ± 2 °С. Их питание осуществлялось в соответствии с нормами кормов для экспериментальных животных. У животных был неограниченный доступ к воде с помощью специальных поилок для грызунов. Предварительно производился санитарно-химический и бактериологический анализ воды. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Правила надлежащей лабораторной практики». Исследование было одобрено этическим комитетом (протокол № 52 от 25.01.2018 г.).

Исследование проводилось на крысах массой 180–250 г обоего пола (группа включала 6 животных) на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% водного раствора каррагинина [9].

Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически до введения и через 3 ч после введения каррагинина. Исследуемые вещества вводили перорально в дозе, равной 1/5 суточной дозы, за 1 ч до введения флогенного агента. Контролем служили животные, которым вводили воду очищенную в эквивалентном объеме. Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 Professional. На основе полученных результатов определяли эффект торможения воспаления в процентах к контрольному уровню. О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции. Если этот показатель был больше 30%, результат учитывался как положительный.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение противовоспалительной активности основано на оценке прироста объема воспаленной стопы крыс вследствие введения флогенного агента. Результаты определения противовоспалительной

активности представлены в таблице 1. Введение флогенного агента вызывало увеличение объема стопы животных, которое получило максимальное развитие к пятому часу наблюдения. Прирост объема стопы у крыс при этом достигал 105,48% и был принят за контрольную величину.

ПЛ для лечения кариеса дентина к пятому часу наблюдения уменьшали прирост объема стопы у крыс по сравнению с контрольными результатами до 73,59%, то есть в 1,43 раза; при использовании геля этот показатель снизился до 71,05%, то есть в 1,48 раза. Таким образом, уменьшение прироста объема стопы было статистически достоверным по сравнению с контрольным показателем ($p < 0,05$).

На фоне предварительного введения плацебо-пленок и плацебо-геля для дентина в период максимального развития воспалительной реакции антифлогистическое действие выявить не удалось. Прирост объема стопы у крыс соответствовал контрольному уровню.

Выраженность торможения воспалительной реакции оценивалась на момент максимального ее развития. Результаты оценки воспалительной реакции представлены в таблице 2.

Гель для лечения кариеса обеспечивал торможение развития воспалительного отека на 32,64%, применение ПЛ – на 30,23%, что можно рассматривать как положительный результат, хотя по отношению к препарату сравнения диклофенаку эффект оказался в 2 раза меньше. Гель и ПЛ плацебо не проявили антифлогистического действия. Уровень торможения воспалительной реакции при этом составил 0% и 11,15% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было установлено, что и пленки, и гель для лечения кариеса дентина обладают достаточно выраженным противовоспалительным эффектом, обнаруженным на модели каррагенинового отека. Полученные результаты указывают на целесообразность проведения дальнейших фармакологических исследований и дают возможность рекомендовать гель и ПЛ в качестве эффективного реминерализующего средства на начальном этапе терапии кариеса дентина.

Таблица 2.

Торможение на момент максимального развития воспалительной реакции под влиянием геля и пленок для лечения кариеса

№	Вещество	Торможение воспалительной реакции по отношению к контролю, %
1	Гель	32,64*
2	ПЛ	30,23*
3	Плацебо-гель для дентина	0
4	Плацебо-ПЛ для дентина	11,15
5	Диклофенак	68,1*

Примечание: *Различие достоверно по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Л. Голованенко, Р.В. Кириллова, Т.Ф. Одегова, Г.А. Павлова. Стандартизация геля для лечения глубокого кариеса // Химико-фармацевтический журнал. 2006. № 4. С. 54–56.
2. А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова. Рациональное использование реминерализующих лекарственных средств для лечения кариеса эмали и дентина // Ученые записки Орловского государственного университета. 2014. № 7(63). С. 35–36.
3. А.Л. Голованенко и др. Создание рациональной лекарственной формы для лечения кариеса дентина // Медицинский альманах. 2016. № 1(41). С. 116–119.
4. А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова, Е.С. Березина, И.В. Алексеева. Современный подход к разработке лекарственных форм для проведения реминерализующей терапии // Медицинский альманах. 2017. № 2(47). С. 141–145.
5. Патент РФ № 2560680. Средство для лечения кариеса дентина / Л.Е. Леонова, Г.А. Павлова, Е.С. Березина и др.; патентообладатель Пермская государственная медицинская академия им. Е.А. Вагнера. – Заявл. 17.06.14, опубл. 20.08.15.
6. Л.Е. Леонова и др. Эффективность лечения кариеса дентина с использованием ЛС реминерализующего действия // Пермский медицинский журнал. 2016. № 2. Т. 33. С. 71–75.
7. ОФС.1.2.4.0002.15. Микробиологическая чистота // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. – М. 2015. Т. I. С. 848–924.
8. О.В. Гунар, И.А. Буйлова, Н.Г. Сахно. Изучение возможности уменьшения количества образца для анализа лекарственных средств по показателю «микробиологическая чистота» // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 7. С. 10–15.
9. А.Н. Миронов. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К, 2012. С. 944.
10. Р.Р. Махмудов, Е.В. Третьякова, А.Л. Голованенко. Исследование острой токсичности гелей и пленок лекарственных средств для лечения кариеса эмали и дентина // Биофармацевтический журнал. 2017. Т. 9. № 2. С. 59–61.

Таблица 1.

Противовоспалительная активность геля и ПЛ для лечения кариеса дентина при пероральном введении

Группа	Доза, мг/кг, п/о	Прирост объема стопы, %			Торможение объема отека (к контролю), %		
		1 ч	3 ч	5 ч	1 ч	3 ч	5 ч
Гель	50	27,40±3,77 $p > 0,05$	54,37±3,97 $p < 0,05$	71,05±2,78 $p < 0,05$	25,38	25,08	32,64*
ПЛ		34,05±2,56 $p > 0,05$	60,18±2,34 $p < 0,05$	73,59±2,56 $p < 0,05$	7,27	17,07	30,23*
Контроль		36,72±3,97	72,57±3,14	105,48±3,64			

Примечание: достоверность отличий по сравнению с контролем $p < 0,05$.

* различие достоверно по сравнению с контролем.

УНИВЕРСАЛЬНОЕ РЕШЕНИЕ

по таблетированию, капсулированию,
сушке и грануляции

PHARMATECH
SEJONG



Установка
псевдооживленного
слоя
сушки-грануляции

D5L



Таблеточные
прессы серии P

P130S



Коатер серии C

C30FC



Коатер

C30JC



Sejong Pharmatech - ваш выбор
в пользу эталонного качества
по привлекательной цене!

УДК 615.282

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАФТИФИНА ГИДРОХЛОРИДА И ПРЕИМУЩЕСТВА ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

С.И. Косенкова^{1*}, И.И. Краснюк¹, И.И. Краснюк (мл.)¹

Резюме. Изучение чувствительности штаммов дерматофитов к нафтифину показало, что диапазон подавляющих концентраций (МПК) составил 0,1–0,2 мкг/мл. Спектр действия нафтифина очень широкий и включает почти всех возбудителей микозов. Тестирование штаммов *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* и *Epidermophyton floccosum* на чувствительность к нафтифину, проведенное в сравнении с клотримазолом и 4-имидазольными антимикотиками, показало, что нафтифин является самым активным препаратом в отношении дерматофитов. В концентрациях не выше 1,0 мкг/мл нафтифин подавлял 98,75% штаммов дерматофитов. Нафтифина гидрохлорид может найти достойное применение в лечении заболеваний кожи на фоне инфекционно-воспалительного процесса, ассоциированного с микозами.

Ключевые слова: нафтифина гидрохлорид, онихомикоз, клотримазол, дерматофиты, раствор.

THE USE OF NAFTIFINI HYDROCHLORIDE AND ITS ADVANTAGES IN THE TREATMENT OF VARIOUS TYPERS OF FUNGAL DISEASES

S.I. Kosenkova^{1*}, I.I. Krasnyuk¹, I.I. Krasnyuk (Jr.)¹

Abstract. Studying the susceptibility of dermatophyte strains to naftifine revealed that the range of inhibitory concentrations (MIC) is 0,1-0,2 µg/ml. The naftifine spectrum is very wide and includes almost all mycotic pathogens. Testing the strains of *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* and *Epidermophyton floccosum* in comparison with clotrimazole and 4-imidazole antimycotics has shown that naftifine is the most active drug affecting dermatophytes. In concentrations of no more than 1,0 µg/ml, naftifine inhibited 98,75% of dermatophyte strains. Naftifine hydrochloride can find a worthy use in the treatment of skin diseases against the background of infectious and inflammatory processes associated with mycoses.

Keywords: naftifine hydrochloride, onychomycosis, clotrimazole, dermatophytes, solution.

1 – ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), факультет фармации и трансляционной медицины, 119019, Россия, Никитский бульвар, д. 13, стр. 1,

1 – I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 13/1, Nikitskiy blvd., Moscow, 119019, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: sv-omega@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Грибковые инфекции кожи, а также ногтей занимают важное место в современной дерматологической практике [1]. Обращая внимание на системное и комбинированное лечение онихомикоза, следует помнить о наиболее эффективном способе борьбы с этим заболеванием и дерматофитией, а также о ранней диагностике и терапии на той стадии, когда инфекционный процесс еще ограничивается только кожей, не переходя на ногти. Вместе с тем дерматофития гладкой кожи и крупных складок занимает прочное место в структуре заболеваемости [3].

В связи с актуальностью указанных проблем местная или наружная терапия грибковых заболеваний кожи различной этиологии по востребованности несколько не уступает системной терапии.

На отечественном рынке лекарственных средств наружные антимикотики входят в число лидеров по объему продаж [4].

Наружная терапия является единственно оправданным и рациональным подходом при различных дерматомикозах. В последние годы наружная терапия подразумевает использование официальных, серийно выпускаемых антимикотиков, окончательно сменивших ранее использовавшиеся антисептики и средства сложного состава [6].

Лекарственные препараты этой категории включают несколько химических классов (азолы, алиламины и др.) и поколений противогрибковых средств, всего более десяти применяемых препаратов, выпускаемых в нескольких лекарственных формах. Наиболее массово использовавшиеся последние 10 лет наружные средства, как прави-

ло, теперь выпускаются разными производителями и под разными марками. В настоящее время предпочтение среди противогрибковых препаратов отдают препаратам, содержащим нафтифина гидрохлорид, который проявляет высокую эффективность в терапии различных грибковых инфекций кожи и ногтей.

НАФТИФИН И ЕГО ХАРАКТЕРИСТИКА

Нафтифин – противогрибковый препарат из группы аллиламинов, появившийся в 1974 году. Нафтифина гидрохлорид применяется в качестве препарата для наружного использования.

Формула нафтифина:

(E)-N-метил-N-(3-фенил-2пропенил)-1-нафталинметанамин (рисунок 1), эмпирическая формула – $C_{21}H_{21}N$.

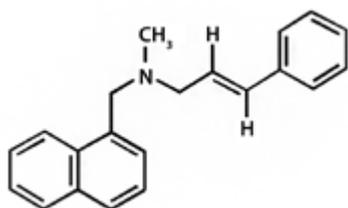


Рисунок 1. Структурная формула нафтифина

Нафтифин – типовой представитель класса аллиламинов, химического класса производных нафталина с противогрибковой и общей противомикробной активностью.

Аллиламины подавляют синтез эргостерина в клетках гриба, механизм подавления представляет собой многоступенчатый процесс, включающий ряд ферментных систем. Эргостерин обеспечивает целостность и текучесть мембраны, обеспечивая ее барьерную функцию и деятельность ассоциированных с мембраной ферментов.

Снижение удельного веса эргостерина приводит к фунгистатическому эффекту, поскольку эргостерин требуется как для построения мембран дочерней клетки, так и для работы связанных с мембраной материнских ферментов (например, хитинсинтазы), которые образуют материал новых клеток [7].

В работе Ryder и соавт. (1984) показано, что при действии нафтифина на *Candida albicans* содержание эргостерина в клетках падало на 60% при превышении концентрации препарата 50 мг/л, что приводило к полной остановке роста гриба. При этом степень подавления активности биосинтеза эргостерина была выше 99%. Использование радиоактивных меток показало, что эргостерина в обработанных нафтифином клетках не обнаруживалось [8].

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ НАФТИФИНА

Спектр действия нафтифина очень широкий и включает почти всех возбудителей микозов.

Первые тестирования штаммов дерматофитов на чувствительность к нафтифину показали, что диапазон подавляющих концентраций (МПК) составил 0,1–0,2 мкг/мл. Для *Aspergillus* spp. этот показатель находился в пределах 0,8–12,5 мкг/мл, *Sporothrix schenckii* – 0,8–1,5 мкг/мл, а для *Candida* spp. – от 1,5 мкг/мл.

Первично фунгицидность действия нафтифина отмечалась и для дерматофитов, и для дрожжевых грибов [14].

Тестирования серии штаммов дерматофитов всех родов на жидкой среде дали диапазон МПК 0,01–0,2 мкг/мл, что ниже, чем МПК имидазольных антимикотиков [15].

Тестирование методом дисков штаммов *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* и *Epidermophyton floccosum* в сравнении с гризеофульвином, натамицином и 4-имидазольными антимикотиками показало, что нафтифин является самым активным препаратом, действующим в отношении дерматофитов.

В концентрациях не выше 1,0 мкг/мл нафтифин подавлял 98,75% штаммов дерматофитов [16].

Нафтифин может и должен найти применение в лечении инфекционно-воспалительных заболеваний кожи и воспаления, ассоциированного с микозами.

ФАРМАКОКИНЕТИКА В КОЖЕ

В одной из экспериментальных моделей показано, что из препаратов 1% серии нафтифина гидрохлорида (в частности, 1% крем «Экзодерил») активное вещество проникает в эпидермис человека в концентрациях, достаточных для подавления *T. rubrum* и *T. mentagrophytes* [10].

Концентрации препарата, существенно превышающие МПК, сохраняются в коже в течение 4 дней после однократного нанесения 1% наружных форм нафтифина.

Степень системной абсорбции нафтифина из его наружных форм незначительная и не превышает 2–3% [20].

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАФТИФИНА И ПРОТИВОГРИБКОВЫХ АНАЛОГОВ

Препараты нафтифина выпускаются под названием «Экзодерил» (МНН – нафтифин) и известны в нашей стране уже достаточно давно.

Серия «Экзодерил» включает крем и раствор, в 1 г (мл) содержащие 10 мг (1%) нафтифина гидрохлорида. Крем «Экзодерил» выпускается в тубах по 15 или 30 г, а раствор – во флаконах объемом 10 мл. Производителем всех форм препарата является фирма Biochemie (Австрия), в настоящее время объединенная в рамках компании «Лек» (Словения).

Рекомендуемая схема лечения заключается в нанесении крема и раствора «Экзодерил» на пораженные участки кожи 1 раз в день. Длительность лечения составляет в среднем 4 недели. При этом, как и для других антимикотиков, рекомендуется продолжать лечение еще не менее двух недель после достижения клинического излечения. При ониомикозах раствор нафтифина применяют дважды в день в течение 6 месяцев.

Эффективность нафтифина в сравнении с другими наружными антимикотиками также неоднократно изучалась разными авторами [21–23].

Таблица 1.

Препараты, содержащие нафтифина гидрохлорид

Отечественные аналоги	Зарубежные аналоги
<p>«Микодерил» Лекарственные формы: – раствор для наружного применения: флаконы 10 или 20 мл – крем для наружного применения 1%: тубы 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 или 100 г. Страна-производитель: Россия</p>	<p>«Экзодерил» Лекарственные формы: – раствор для наружного применения 1% – крем для наружного применения 1% Страна-производитель: Австрия</p>
<p>Мизол® Эвалар Лекарственные формы: – раствор для наружного применения 1%. Страна-производитель: Россия</p>	<p>«Фетимин» Лекарственные формы: – крем 1% Страна-производитель: Словения</p>
<p>«Экзостат» Лекарственные формы: – раствор для наружного применения 1%. – крем для наружного применения 1% Страна-производитель: Россия</p>	<p>«Екзо-Дерм» Лекарственные формы: – крем, 10 мг/г, по 15 г в тубах – раствор н/ш, 10 мг/мл, по 20 мл во флак. – спрей н/ш, р-н, 10 мг/мл, по 15 мл во флак. Страна-производитель: Украина</p>
<p>«Нафтифин» Лекарственные формы: – раствор для наружного применения Страна-производитель: Россия</p>	<p>«Эстефин» – раствор н/ш 1% по 15 мл во флак. – спрей н/ш 1% по 15 мл во флак. Страна-производитель: Украина</p>
	<p>«Нафтидерил» Лекарственные формы: – раствор н/ш 1% по 10 мл во флак. Страна-производитель: Украина</p>

При этом эффективность нафтифина, как правило, оказывалась сопоставимой или более высокой, чем эффективность ряда имидазольных препаратов. Клиническая эффективность нафтифина при лечении ониомикозов, по данным разных исследователей, достигала значений от 75–80% [24–25].

Сравнительные исследования с нафтифином проводились и с использованием других антимикотиков, в частности миконазола [15], клотримазола [18], тербинафина [20].

Эффективность препаратов нафтифина в целом не уступала препаратам сравнения.

Частота побочных эффектов была ниже у нафтифина: 3% против 13% у эконазола [23].

Крупное сравнительное исследование было проведено японскими авторами, обследовавшими 393 пациента с дерматофитией разной локализации (возбудители – *T. rubrum* и *T. mentagrophytes*).

При назначении нафтифина или клотримазола в течение 5 недель было выявлено существенное превосходство нафтифина. Также отмечался быстрый клинический эффект нафтифина, приводивший к купированию симптомов уже на первой неделе лечения [20].

Исследования были проведены на базе Института аллергологии и клинической иммунологии (г. Москва).

Настоящее сообщение представляет ретроспективную оценку полученных в ходе наблюдения и лечения больных результатов.

Критериями включения в исследование служили:

- 1) клинический диагноз грибковой инфекции, подтвержденный данными микроскопии патологического материала (соскоб) и/или посева с выделением культуры возбудителя. При этом установление смешанной этиологии или микоза, обусловленного конкретным возбудителем, всегда проводилось после выделения соответствующих культур;
- 2) возраст 18–70 лет (несмотря на изученные эффективность и безопасность применения препарата в педиатрии, нами обследовались взрослые пациенты);
- 3) зафиксированный в медицинской документации результат лечения.

Критериями исключения служили:

- 1) наличие ониомикоза с клиническими проявлениями, требующими назначения системной терапии (КИОТОС > 6);

2) назначение системных противогрибковых препаратов одновременно с нафтифином незадолго до периода лечения или вскоре после него;

3) назначение каких-либо других наружных препаратов одновременно с нафтифином;

4) случаи неэффективной наружной противогрибковой терапии, предшествовавшие лечению.

Увеличение продолжительности терапии привело к клинико-микологическому выздоровлению.

В целом полученные результаты подтверждают данные, ранее полученные разными исследователями, о достаточно высокой эффективности препаратов нафтифина. Нафтифин реально является наружным анти-

Таблица 2.

Сравнительная характеристика

	Нафтифина гидрохлорид	Тербинафина гидрохлорид
Состав	Действующее вещество лекарственного средства обладает одноименным с ним названием – нафтифина гидрохлорид. Этот синтетический компонент разрушает мембрану клетки грибка, тем самым вызывая необратимые изменения в его жизнедеятельности	Тербинафина гидрохлорид + вспомогательные вещества.
Показания	– ногтевой грибок; – отрубевидный лишай; – эпидермофития стоп; – дерматомикозы, в том числе межпальцевых промежутков на руках и ногах.	– грибковые заболевания кожи и ногтей (онихомикозы); – онихомикозы волосистой части головы (трихофития, микроспория); – тяжелые дерматомикозы гладкой кожи и конечностей; – кандидозы кожи и слизистых оболочек.
Фармакологическое действие	– противогрибковое; – проявляет фунгицидную активность; – противовоспалительное – уменьшает зуд.	– широкий спектр действия в отношении грибов; – фунгицидное действие в низких концентрациях.
Применение вещества	Грибковые поражения кожи и кожных складок, включая эпидермофитии кистей и стоп.	Подавляет ранний этап биосинтеза стероидов в клетке гриба. Ингибирует фермент скваленэпоксидазы в клеточной мембране гриба.
Противопоказания	– гиперчувствительность (в том числе к пропиленгликолю – для раствора, бензиловому спирту – для крема); – нанесение на открытую раневую поверхность (для раствора).	– хронические или активные заболевания печени; – хроническая почечная недостаточность; – детский возраст до 3 лет и масса тела до 20 кг, до 12 лет – для крема; – период лактации; – дефицит лактазы, непереносимость лактозы; – глюкозогалактозная мальабсорбция.
Торговые названия	Экзодерил® «Микодерил» «Нафтифина гидрохлорид» «Экзостат» Мизол® Эвалар «Нафтифин»	«Атифин»; «Бинафин»; «Ламизил»; «Ламизил Дермгель»; «Ламизил Уно»; «Ламикан»; «Ламитель»; «Миконорм»; «Микотербин»; «Онихон»; «Тебикур»; «Тербизед Аджио»; «Тербизил»; «Тербикс»; «Тербинафин» и т.д.

микотиком, пригодным для лечения дерматомикозов разной этиологии.

Эффективность использования препарата при разных клинических формах грибковой инфекции подчиняется тем же закономерностям, что и при использовании других антимикотиков. В этой связи оправданным явилось использование препарата с увеличенной интенсивностью (2 раза в день) и/или курсом большей продолжительности (4 недели).

Нафтифин может оказаться довольно эффективной заменой традиционной наружной терапии или назначению кортикостероидного гормона при паронихии [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нафтифина гидрохлорид по результатам исследований и опыту его применения в медицинской практике является одним из лучших противогрибковых средств, обладая к тому же значительным противовоспалительным и антибактериальным действием. Использование лекарств на основе данного вещества

позволяет в короткие сроки излечить с 95%-й эффективностью многие грибковые заболевания кожи, ногтей, в том числе осложненные бактериальной инфекцией, воспаления грибковой природы, а также путем повторения курса элиминировать грибок в случае рецидива заболевания. Перспективной является разработка новых лекарственных форм, содержащих нафтифина гидрохлорид и другие активные вещества, дополняющие свойства друг друга, для лечения особо тяжелых случаев грибкового поражения организма, а также поиск более экономически выгодных способов производства нафтифина.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Ю. Сергеев, Ю.В. Сергеев. Онихомикозы: на пути к решению проблемы // *Consilium medicum*. 2003. Т. 5. № 3. С. 128–136.
2. Ю.В. Сергеев, А.Ю. Сергеев, В.М. Лещенко. Современная программа борьбы с дерматомикозами в России // *Успехи медицинской микологии*. 2002. Т. 2. С. 160–162.
3. А.Ю. Сергеев, О.Л. Иванов, Ю.В. Сергеев, А.Н. Вахлаков, Т.Н. Седова, В.С. Дудник. Исследование современной эпидемиологии онихомикоза // *Вестник дерматологии и венерологии*. 2002. Т. 3. С. 31–35.

Таблица 3.

Сравнительные характеристики

Критерий сравнения	Нафтифин	Клотримазол
Тип действия	Фунгицидное и фунгистатическое. Не всасывается при повторном нанесении, не оказывает системного действия.	Фунгистатическое, а при повышении дозы – фунгицидное в дозе 20 нг/л, при этом его содержание в крови составляет 5 нг/мл, а препарат начинает оказывать системное действие.
Спектр действия	Обладает широким спектром антифунгального действия в отношении дерматофитов, плесневых, дрожжевых, дрожжеподобных и диморфных грибов	Дерматофиты, дрожжеподобные, плесневые грибы. Неактивен в отношении диморфных грибов.
Дополнительные фармакологические эффекты	Обладает антибактериальной активностью в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, местным противовоспалительным и противозудным свойством.	Не имеет.
Лекарственная форма	Раствор для наружного применения обеспечивает высокую концентрацию действующего вещества в месте нанесения. Крем: нанесение 1 раз в сутки обеспечивает простоту в использовании. Как следствие, сокращается продолжительность курса лечения, предупреждается риск развития резистентности и суперинфекции.	Гидрофобная мазь: препарат плохо проникает в структуры ногтевой пластинки, не обеспечивает терапевтическую концентрацию действующего вещества. Как следствие, продолжительность курса терапии, риск развития резистентности, присоединение суперинфекции.
Взаимодействие с другими лекарственными средствами	Клинически значимых взаимодействий нет. Могут применяться в составе комбинированной терапии микозов различной этиологии.	Возникает риск нежелательных лекарственных взаимодействий.
Показания к применению	Грибковые инфекции кожи и кожных складок, вызванные дерматофитами, дрожжеподобными, плесневыми, диморфными грибами; межпальцевые микозы; грибковые инфекции ногтей (онихомикоз); кожные кандидозы; отрубевидный, разноцветный лишай; воспалительные дерматомикозы.	Онихомикозы; кандидозы ногтей.
Стоимость лечения	Меньшая. Топическое средство даже при продолжительном курсе терапии не оказывает системного влияния, не требует коррекции возможных побочных эффектов.	Более высокая. Как следствие, дополнительные затраты на пластыри, повязки и т.д. Кроме того, длительный курс терапии (до 6 недель) обуславливает дополнительные затраты на приобретение нескольких упаковок препарата.

- Ю.В. Сергеев, Б.И. Шпигель, А.Ю. Сергеев. Фармакотерапия микозов. М.: «Медицина для всех», 200 с.
- А.Ю. Сергеев, Ю.В. Сергеев. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. – М.: БИНОМ-Пресс, 2003. 440 с.
- Ю.В. Сергеев, А.Ю. Сергеев, Е.В. Мокина, О.И. Бучинский. Горячая линия: Первая массовая кампания по выявлению и лечению больных с онихомикозом / Успехи клинической иммунологии и аллергологии / Под ред. А.В. Караулова. – М. 2002. С. 355–363.
- Ю.В. Сергеев, В.Н. Ларионова, Е.В. Кудрявцева, Е.Л. Сергеева. Кандид-Б и терапия дерматозов, ассоциированных с грибковой и смешанной инфекцией // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2003. Т. 1. С. 94–98
- N.S. Ryder, G. Seidl, P.F. Troke. Effect of the antimycotic drug naftifine on growth of and sterol biosynthesis in *Candida albicans* // Antimicrob Agents Chemother. 1984. V. 25(4). P. 483–487.
- B. Favre, N.S. Ryder. Characterization of squalene epoxidase activity from the dermatophyte *Trichophyton rubrum* and its inhibition by terbinafine and other antimycotic agents // Antimicrob Agents Chemother. 1996. V. 40 (2). P. 443–447.
- N.S. Ryder. Effect of allylamine antimycotic agents on fungal sterol biosynthesis measured by sterol side-chain methylation // J Gen Microbiol. 1985. V. 131. Pt. 7. P. 1595–1602.
- J.G. Meingassner, U. Sleytr, G. Petranyi. Morphological changes induced by Naftifine, a new antifungal agent, in *Trichophyton mentagrophytes* // J Invest Dermatol. 1981. V. 77(6). P. 444–451.
- P. Butty, M. Mallie, J.M. Bastide. Antifungal activity of allylamines on *Epidermophyton floccosum*: scanning electron microscopy study // Mycopathologia. 1992. V. 120(3). P. 147–153.
- P. Butty, A. Gorenflot, M. Mallie et al. Low voltage scanning electron microscopy study of naftifine activity on *Microsporum canis* // Mycoses. 1992. V. 35(11-12). P. 335–342.
- A. Georgopoulos, G. Petranyi, H. Mieth et al. *In vitro* activity of naftifine, a new antifungal agent // Antimicrob Agents Chemother. 1981. V. 19(3). P. 386–389.
- P. Regli, H. Ferrari, Y. Buffard et al. [In vitro action of a new antifungal agent, naftifine, on dermatophytes] // Pathol Biol (Paris). 1985. V. 33(5). Pt. 2. P. 614–617.
- A.B. Macura. *In vitro* susceptibility of dermatophytes to antifungal drugs: a comparison of two methods // Int J Dermatol. 1993. V. 32(7). P. 533–536.
- P.V. Venugopal, T.V. Venugopal. Disk diffusion susceptibility testing of dermatophytes with allylamines // Int J Dermatol. 1994. V. 33(10). P. 730–732.
- P.V. Venugopal, T.V. Venugopal. Antidermatophytic activity of allylamine derivatives // Indian J Pathol Microbiol. 1994. V. 37(4). P. 381–388.
- P.V. Venugopal, T.V. Venugopal. Antifungal activity of allylamine derivatives // Indian J Med Res. 1994. V. 99. P. 71–73.
- J.P. Monk, R.N. Brogden. Naftifine. A review of its antimicrobial activity and therapeutic use in superficial dermatomycoses // Drugs. 1991. V. 42. P. 659–672.
- G. Petranyi, A. Georgopoulos, H. Mieth. *In vivo* antimycotic activity of naftifine // Antimicrob Agents Chemother. 1981. V. 19(3). P. 390–392.
- T.S. Choi, B. Solomon, M. Nowakowski, W.L. Lee, S. Geen et al. Effect of naftifine on neutrophil adhesion // Skin Pharmacol. 1996. V. 9. P. 190–196.
- B.A. Solomon, W.L. Lee, S.C. Geen, K. Suntharalingam, S.M. Fikrig et al. Modification of neutrophil functions by naftifine // Br J Dermatol. 1993. V. 128. P. 393–398.
- T. Vago, G. Baldi, D. Colombo et al. Effects of naftifine and terbinafine, two allylamine antifungal drugs, on selected functions of human polymorphonuclear leukocytes // Antimicrob Agents Chemother. 1994. V. 38(11). P. 2605–2611.
- H. Tronnier H. Inflammatory dermatomycoses – comparative study of naftifine and a combination of a corticosteroid and an imidazole derivative // Mykosen. 1987. V. 30. Suppl. 1. P. 98–103.

Анализ терапевтических белков за 10 минут!

iCE3™ позволит Вам выйти за рамки традиционного анализа белков и ускорит сроки разработки. С момента запуска и до завершения процесса анализа пройдет не более 10 минут, что позволяет быстро оптимизировать условия. Более того, универсальный метод позволяет исследовать практически любую сложную молекулу. Такие методы, как изоэлектрофокусировка в геле, ионообменная хроматография и классическая капиллярная изоэлектрофокусировка имеют огромные преимущества, однако так же имеют свои недостатки. iCE3 сочетает в себе наилучшие качества трех методов и дает высокое разрешение, количественную оценку и автоматизацию всех процессов. Прибор существенно снижает время разработки новых методов и анализ полученных результатов, ввиду отсутствия операций, выполняемых вручную.

Система анализа белков iCE3 оборудована капиллярной колонкой, на концах которой расположены электролитические резервуары с кислотой (аналитом) и основанием (катализом). Образец вводится до заполнения всего объема колонки и на резервуары подается напряжение. Возникает градиент pH в изоэлектрических точках, разделяющих и фокусирующий молекулы в зависимости от значения pI.

С помощью ультрафиолетового детектора, встроенного в колонку, процесс контролируется в режиме реального времени. Как только разделение заканчивается, результаты анализируются и по полученным данным выстраивается диаграмма. После окончания процедуры капиллярная колонка системы анализа терапевтических белков iCE3 промывается для следующего образца. Один анализ занимает не более 15 минут. Ввод проб осуществляется микроинжектором или с помощью автосамплера Alcott 720.

Дополнительные опции

- Автосамплер Alcott 720.
- Микроинжектор PrinCE Next.
- Реактивы.



Особенности

- Компактный размер и быстрый прогон одного образца.
- Ввод пробы с помощью автосамплера и микроинжектора.
- Капиллярная колонка промывается после проведения эксперимента.
- Анализ результатов в режиме реального времени.
- Время одного исследования 10-15 минут.

Объем образца	12-17 мкл
Подача образца	Автосамплер Alcott 720 или PrinCE Next микроинжектор
Время процесса	10-15 минут
Детекция	UV абсорбция при 280 нм
Напряжение	600 В/см
Габариты	66 см x 28 см x 31 см (ВxШxД)
Вес	20 кг
Мощность	120-230 VAC, 50/60 Гц

УДК 614.35

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ ИНСПЕКТИРОВАНИЯ ИНОСТРАННЫХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПЛОЩАДОК НА СООТВЕТСТВИЕ ТРЕБОВАНИЯМ НАДЛЕЖАЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКИ ЗА 2017 ГОД

В.А. Орлов^{1*}

Резюме. В статье дан анализ результатов инспектирования иностранных производственных площадок на соответствие требованиям надлежащей производственной практики за 2017 год, приведено их сравнение с результатами 2016 года, а также проведена статистическая обработка полученных результатов. В сравнении с соответствующими результатами за 2016 год отмечается существенное увеличение общего числа проведённых инспекций. Изменения отразились также и на процентном соотношении выявленных несоответствий как по уровню критичности, так и по категориям надлежащей производственной практики. В статье представлены также некоторые примеры выявляемых несоответствий.

Ключевые слова: GMP, надлежащая производственная практика, инспектирование, валидация, контроль качества, ЕАЭС, регистрационное досье, ФБУ «ГИЛС и НП».

OVERVIEW OF GMP INSPECTIONS RESULTS OF FOREIGN MANUFACTURING SITES IN 2017

V.A. Orlov^{1*}

Abstract. The matter presents the analysis of results for GMP inspections of foreign manufacturing sites in 2017 and gives the comparison of them with the results from 2016. Statistical evaluation of the results obtained is also given. In comparison with the corresponding results from 2016, there is a significant increase in the total number of inspections conducted. The changes also reflected in the percentage of discovered GMP non-conformities both in terms of criticality and in the categories of good manufacturing practices. The article also presents some examples of discovered GMP non-conformities.

Keywords: GMP, good manufacturing practice, inspection, validation, quality control, EAEU, Marketing Authorization, FSU «SID&GP».

1 – ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП») Министерства промышленности и торговли РФ, 109044, Россия, г. Москва, Лавров пер., д. 6

1 – State Institute of Drugs and Good Practices, 6, Lavrov lane, Moscow, 109044, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: Orlov@gilsinp.ru

ВВЕДЕНИЕ

С начала 2016 года, когда был дан старт процессу инспектирования иностранных производственных площадок на соответствие требованиям надлежащей производственной практики, прошло около двух лет. За указанный период времени российским GMP-инспектором был проделан значительный объём работ в этой области. Некоторые выводы по ключевым тенденциям, выявленным при оценке результатов инспектирования за 2016 год, были освещены в ранее опубликованной статье [1].

Прошедший 2017 год внёс свою лепту в результаты работы отечественного GMP-инспектора по иностранным производственным площадкам. В данной статье приведены основные количественные и качественные пока-

затели результатов инспектирования за минувший год, а также произведено их сравнение с результатами 2016 года.

ОБЗОР НОРМАТИВНО-ПРАВОВОЙ БАЗЫ

Относительно нововведений в нормативно-правовой базе обеспечения процедур GMP-инспектирования следует отметить факт вступления в силу в мае 2017 года основных нормативных актов ЕАЭС в области функционирования общего рынка лекарственных средств и медицинских изделий [2]. Однако данное обстоятельство напрямую не отразилось на процессах GMP-инспектирования в рамках отечественной регуляторной системы. Можно также упомянуть о принятии в конце 2017 года других нормативно-правовых документов ЕАЭС, имеющих от-

ношение к тематике надлежащей производственной практики, например Руководства по валидации процесса производства лекарственных препаратов для медицинского применения [3], Требований к воде для фармацевтического применения, используемой для производства лекарственных средств [4], но на сегодняшний день (март 2018 года) планируемый срок вступления их в силу ещё не настал.

Таким образом, можно резюмировать, что за 2017 год значимых изменений в отечественной нормативно-правовой базе в области GMP-инспектирования не произошло.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ ПО ПРОВЕДЁННЫМ В 2017 ГОДУ ИНСПЕКЦИЯМ

В сумме за прошедший 2017 год ФБУ «ГИЛС и НП» было проведено инспектирование **545** производственных площадок иностранных производителей. По сравнению с 2016 годом количество проведённых инспекций (всего **188**) увеличилось почти втрое.

По результатам проведённых инспекций по состоянию на начало января 2018 года общее количество положительных решений о выдаче заключения о соответствии требованиям надлежащей производственной практики составляет **347** заключений. Общее число отказов в выдаче заключения по состоянию на тот же период составляет **103**, при этом стоит отметить, что часть решений по проинспектированным площадкам ещё находится в стадии согласования, поэтому данные по ним станут известны позднее.

География проведённых инспекций за 2017 по сравнению с предыдущим годом также расширилась: число стран, на территории которых расположены прошедшие инспектирование производственные площадки, выросло с 40 до 56. Некоторые сведения по числу проведённых инспекций по странам представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Страны – лидеры по числу проведённых инспекций

2016 год		2017 год	
Страна	Количество проведённых инспекций	Страна	Количество проведённых инспекций
Индия	31	Германия	108
Германия	14	Индия	81
Венгрия	11	Франция	45
Словения	10	США	40
Польша	8	Италия	35

Можно констатировать, что Индия уступила первое место по числу проведённых инспекций Германии, кроме того, существенно возросло число проинспектированных площадок в США по сравнению с 2016 годом.

В общей сложности за весь период инспектирования иностранных производственных площадок в 2017 году было выявлено 3503 несоответствия, из которых число критических несоответствий составило 266 (8%), существенных – 1644 (47%), несущественных – 1593 (45%). Диаграмма распределения выявленных за 2017 несоответствий, классифицированных в зависимости от уровня их критичности, а также соответствующие данные за период 2016 года приведены на рисунках 1 и 2.

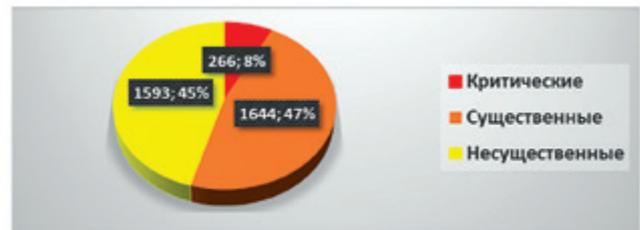


Рисунок 1. Диаграммы распределения выявленных несоответствий по уровню критичности за 2017 г.

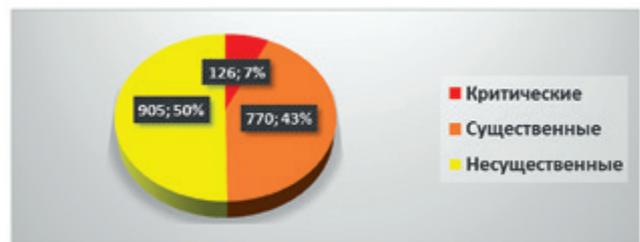


Рисунок 2. Диаграмма распределения выявленных несоответствий по уровню критичности за 2016 г.

В сравнении с результатами инспектирования за 2016 год явно прослеживается увеличение доли существенных несоответствий, в то время как процент выявленных критических несоответствий остался примерно на том же уровне.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫЯВЛЕННЫХ НЕСООТВЕТСТВИЙ ПО КАТЕГОРИЯМ

Для дальнейшего анализа были выбраны несоответствия, классифицированные как критические и существенные. Указанные несоответствия были распределены по соответствующим категориям аналогично тому, как были проанализированы результаты инспектирования за предыдущий, 2016, год [1]. Полученные результаты приведены в таблице 2.

Анализ представленных данных далее будет проведен отдельно для критических и существенных несоответствий.

Для определения ключевых категорий была использована диаграмма Парето, аналогично методике, описанной в статье 2016 года [1].

Таблица 2.

Распределение выявленных за 2017 год критических и существенных несоответствий по основным категориям правил надлежащей производственной практики (GMP)

Категория	Классификация выявленных несоответствий	
	Критические	Существенные
Фармацевтическая система качества	13	66
Персонал	2	20
Процедуры выпуска продукции уполномоченным лицом	3	19
Рекламации и отзывы	1	14
Помещения и оборудование	47	294
Документация	1	107
Технологические процессы	32	203
Контроль качества	29	285
Валидация процессов и квалификация оборудования	51	138
Меры по предотвращению перекрёстной контаминации	17	77
Микробиологическая контаминация и обеспечение стерильности	39	323
Соответствие требованиям регистрационного досье	31	98
Всего	266	1644

- валидация процессов и квалификация оборудования;
- помещения и оборудование;
- микробиологическая контаминация и обеспечение стерильности;
- технологические процессы;
- соответствие требованиям регистрационного досье.

В целом картина распределения выявляемых критических несоответствий по категориям за 2017 год несколько отличается от результатов, полученных годом ранее [1]. Так, в перечне лидеров по критическим несоответствиям появилась категория «Технологические процессы», в то время как категории «Меры по предотвращению перекрёстной контаминации» и «Процедуры выпуска продукции уполномоченным лицом», наоборот, в перечень не вошли.

Теперь обратимся к аналогичному анализу выявленных существенных несоответствий по результатам инспектирования иностранных производителей лекарственных средств за 2017 год. Построение диаграммы Парето в данном случае приводит к получению следующих результатов (рисунок 4).

Из представленной диаграммы следует, что 80% кумулятивного эффекта в формировании перечня существенных несоответствий в данном случае приходится также на пять основных категорий (как и в случае с критическими несоответствиями). Однако состав основных пяти категорий по существенным несоответствиям несколько отличается от приведённых выше категорий по критическим несоответствиям. Как можно видеть из диаграммы, в число основных вы-

Согласно приведённой диаграмме (рисунок 3) пять основных категорий критических несоответствий составляют более 80% кумулятивного эффекта в формировании общего числа выявленных критических несоответствий. В число данных пяти категорий несоответствий входят:

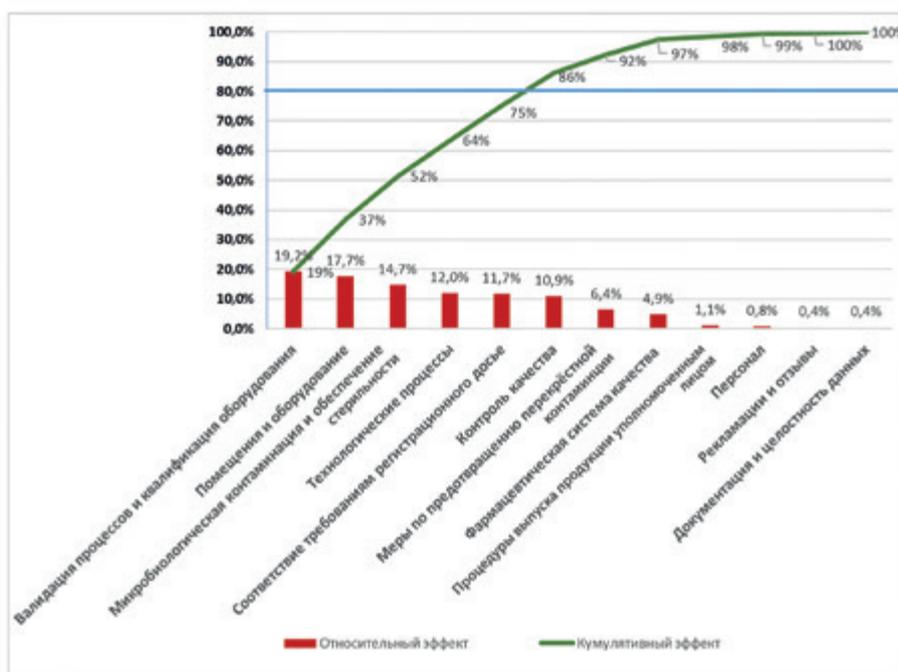


Рисунок 3. Диаграмма Парето для критических несоответствий, выявленных по результатам инспектирования иностранных производителей в 2017 году

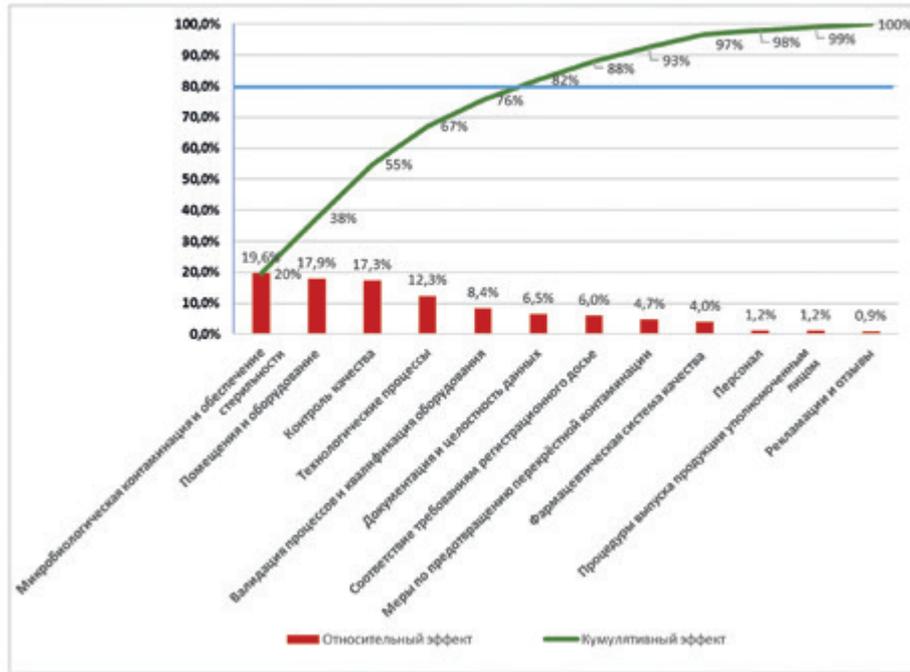


Рисунок 4. Диаграмма Парето для существенных несоответствий, выявленных по результатам инспектирования иностранных производителей в 2017 году

являемых категорий существенных несоответствий входят:

- микробиологическая контаминация и обеспечение стерильности;
- помещения и оборудование;
- контроль качества;
- технологические процессы;
- валидация процессов и квалификация оборудования.

Следует обратить внимание на тот факт, что в данном случае в перечне основных категорий существенных несоответствий появляется категория «Контроль качества», которая ранее не фигурировала в анализе выявляемых несоответствий как в 2016, так и в 2017 году.

По результатам представленного анализа нами был определен спектр основных категорий несоответствий требованиям надлежащей производственной практики, которые были выявлены в ходе инспектирования иностранных производственных площадок в течение 2017 года. Предлагаем остановиться на некоторых из них и рассмотреть примеры конкретных несоответствий.

ВАЛИДАЦИЯ ПРОЦЕССОВ И КВАЛИФИКАЦИЯ ОБОРУДОВАНИЯ

Среди часто выявляемых несоответствий в данной категории следует отметить прежде всего нарушения, связанные с проведением валидации технологических процессов.

В качестве одного из примеров таких несоответствий можно привести выявляемую в ходе инспектирования ситуацию:

- При осуществлении валидации производственного процесса с использованием нескольких последовательно произведённых серий лекарственного средства при производстве одной из них выявляется значительное отклонение, связанное с технологическим процессом. Вследствие указанного отклонения не выполняются утверждённые заранее валидационные критерии приемлемости, и результаты валидации по указанной серии продукции признаются неуспешными. При этом валидация процесса продолжается с использованием следующих (одной или нескольких серий продукции), а полученные неудовлетворительные результаты по указанной выше серии продукции как бы исключаются из итоговой оценки общей валидации процесса.

В данном случае нарушается главный принцип «классической» схемы валидации технологического процесса, а именно получение удовлетворяющих критериям приемлемости результатов для заранее определённых последовательных серий производимой продукции.

В числе других встречающихся несоответствий можно выделить следующие:

- В ходе серийного производства при выпуске серии препарата была проведена замена имеющегося производителя активной фармацевтической субстанции (или вспомогательного компонента)

на другого производителя. Не проведена оценка влияния данного изменения на валидированный статус технологического процесса производства;

- В случаях, когда на предприятии по производству готовых лекарственных средств используются процессы переработки продукции (например, деблистерование и повторное блистерование продукции), данные процессы не включаются в общую программу проведения валидации технологического процесса производства.

ПОМЕЩЕНИЯ И ОБОРУДОВАНИЕ

К указанной категории можно отнести целый ряд выявляемых несоответствий, связанных прежде всего с эксплуатацией технологического оборудования, инженерных систем и помещений.

Среди часто встречающихся несоответствий необходимо отметить нарушения, относящиеся к организации складских зон и зон хранения:

- Проведение квалификации складских зон без учёта полной загрузки, а также без учёта сезонных колебаний показателей температуры и относительной влажности воздуха.
- Отсутствие прослеживаемости между результатами первичной квалификации складских зон и выбором точек регулярного мониторинга показателей микроклимата.
- Недостаточный контроль (в том числе отсутствие ограничения доступа) за хранением отклонённых/забракованных материалов и продукции. В частности, это распространяется на те случаи, когда указанные материалы/продукция по тем или иным причинам находятся вне выделенных для этого помещений и зон.

Отдельно хотелось бы отметить несоответствия, связанные с обеспечением требуемого температурно-влажностного режима для хранения материалов и продукции. Здесь, конечно же, речь в первую очередь идёт о реализации требований ОФС.1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств» ГФ XIII, касающихся регламентируемых режимов хранения лекарственных средств, а именно обеспечения условий «сухого места» при их хранении. Следует сказать, что количество выявляемых несоответствий по данному пункту в 2017 году существенно уменьшилось по сравнению с 2016 годом. Однако даже несмотря на известность и широкое обсуждение данной тематики в фармацевтическом сообществе, проблема соблюдения указанного режима для многих производственных площадок остаётся на сегодняшний день не до конца решенной.

Напомним, что термин «сухое место» в контексте текущих требований ГФ XIII означает относительную влажность воздуха не выше 50% при комнатной температуре (при нормальных условиях хранения) или эквивалентном давлении паров при другой темпера-

туре. К сожалению, описанные требования на иностранных производственных площадках не всегда реализуются в полной мере.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ КОНТАМИНАЦИЯ И ОБЕСПЕЧЕНИЕ СТЕРИЛЬНОСТИ

К данной категории могут быть отнесены несоответствия, которые напрямую или косвенно могут повлиять на такие показатели готовой продукции, как микробиологическая чистота или стерильность.

В процессах, связанных с обеспечением стерильности (это касается прежде всего производства самих стерильных лекарственных средств), особое внимание на себя обращают технологические операции, сопровождающие производство стерильных лекарственных средств асептическим методом, в том числе касающиеся проведения процессов стерилизующей фильтрации. Согласно текущим требованиям приложения № 1 правил GMP [5] «проведение стерилизующей фильтрации не является достаточным условием стерилизации, если возможно проведение стерилизации продукции в окончательной упаковке». Из этого следует, что выбор стерилизующей фильтрации в качестве способа получения стерильной продукции возможен только при наличии достаточного обоснования того, что продукция не может быть простерилизована в окончательной упаковке. На практике же часто встречаются случаи, когда со стороны производителя не предоставляется какое-либо документированное обоснование выбора метода стерилизующей фильтрации для получения стерильной продукции. Не стоит забывать, что при стерилизующей фильтрации по сравнению с другими процессами стерилизации существуют дополнительные риски, которые должны быть минимизированы производителем, в том числе и путём выбора других методов стерилизации, если они, конечно, возможны.

В случае же использования метода стерилизующей фильтрации со стороны производителей нередко игнорируется содержащееся в приложении № 1 правил GMP указание на то, что «непосредственно перед фасовкой рекомендуется повторная фильтрация через дополнительный стерилизующий фильтр, задерживающий микроорганизмы». В данном случае подразумевается использование так называемого полицейского фильтра, расположенного как можно ближе к месту розлива. Соответственно, невыполнение данного указания при наличии таковой технической возможности (в случае, если свойства продукции позволяют использовать дополнительную степень фильтрации) может быть расценено как недостаточность действий производителя в отношении минимизации возможных рисков при использовании метода стерилизующей фильтрации.

Помимо указанного выше, в отношении требований обеспечения стерильности и предотвращения микробиологической контаминации необходимо отметить и такие достаточно часто встречающиеся несоответствия, как:

- отсутствие в распоряжении производственной площадки информации по оценке эффективности используемых дезинфицирующих средств;
- невозможность предоставления объективных данных, свидетельствующих о стерильности применяемых в зонах класса чистоты А и В дезинфектантов перед их использованием.

СООТВЕТВИЕ ТРЕБОВАНИЯМ РЕГИСТРАЦИОННОГО ДОСЬЕ

Если обратиться к оценке результатов инспектирования иностранных производственных площадок за 2016 год [1], то обращает на себя внимание тот факт, что за указанный период именно отклонения от требований регистрационного досье при производстве лекарственных средств сформировали основное число выявленных критических несоответствий.

Согласно же полученным результатам за 2017 год критические несоответствия, связанные с несоблюдением требований регистрационного досье, по-прежнему лидируют в категориях по общему числу выявляемых критических несоответствий. Однако же, как свидетельствуют представленные ранее статистические результаты, количество данных критических несоответствий относительно общего числа выявляемых критических несоответствий по итогам 2017 года существенно снизилось по сравнению с аналогичными результатами за 2016 год. По итогам 2017 года категория «Несоответствие требованиям регистрационного досье» оказалась лишь на пятом месте по общему числу выявляемых критических несоответствий, тогда как годом ранее являлась лидером по их числу.

Данная положительная динамика связана, на наш взгляд, в том числе и с тем, что иностранные производители и их уполномоченные представители в Российской Федерации стали уделять большее внимание вопросам приведения действующих регистрационных досье в соответствие с имеющимися на производственных площадках производственными процессами. Однако же отклонения от требований регистрационного досье по-прежнему встречаются в числе критических и существенных выявляемых несоответствий. И особое место среди них занимают несоответствия, связанные с несогласованностью методик контроля качества, указанных в нормативной документации на лекарственное средство и действующих на производственной площадке. Это касается как методик физико-химического контроля, так и методик микробиологического и биологического контроля, в том числе и в отношении используемых штаммов тест-микроорганизмов, характеристик питательных сред и т. д.

Кроме вышеперечисленных, обращают на себя внимание и другие факты несоответствий, связанные с требованиями регистрационного досье к процедурам контроля качества:

- осуществление при выпуске продукции не всего спектра испытаний, указанных в нормативной документации на лекарственное средство;
- использование методик национальных фармакопей для осуществления контроля качества продукции в случаях, когда нормативной документацией однозначно зафиксировано требование использования методик Фармакопеи Российской Федерации;
- отсутствие или недостаточное обоснование исключения некоторых показателей качества готовой продукции из программы последующего изучения стабильности для постоянного подтверждения соответствия лекарственного средства требованиям регистрационного досье.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной статье были рассмотрены основные результаты и выявлены некоторые тенденции в отношении GMP-инспектирования иностранных производственных площадок в 2017 году. В сравнении с соответствующими результатами инспектирования за 2016 год произошло значительное увеличение общего числа проведенных инспекций. Изменения отразились также и на процентном соотношении выявленных несоответствий по уровню критичности. Кроме того, наметились новые тенденции в распределении выявляемых несоответствий по категориям надлежащей производственной практики, что должно быть в будущем учтено производителями лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. В.А. Орлов. Анализ ключевых тенденций по результатам инспектирования зарубежных производителей лекарственных средств за 2016 год // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 2 (19). С. 266–271.
2. 6 мая 2017 года начал работать единый рынок лекарственных средств ЕАЭС // Разработка и регистрация лекарственных средств. URL: <http://pharmjournal.ru/novosti-regulyatorov/6-maya-2017-goda-nachal-rabotat-edinyj-rynok-lekarstvennyh-sredstv-aeas> (дата обращения 11.03.2018).
3. Руководство по валидации процесса производства лекарственных препаратов: информация и данные для представления в регистрационном досье // Евразийская экономическая комиссия. URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01414949/clcr_28092017_19 (дата обращения 11.03.2018).
4. Требования к воде, используемой для производства лекарственных средств // Евразийский экономический союз. URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01415894/clcr_15122017_31 (дата обращения 11.03.2018).
5. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 (ред. от 18.12.2015) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики» (зарегистрировано в Минюсте России 10.09.2013 № 29938) // Консультант Плюс. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_152004/ (дата обращения 11.03.2018).

УДК 615.371; 339.564(470+571)

ПОТЕНЦИАЛ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ЭКСПОРТЕ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН В СТРАНЫ ЛАТИНОАМЕРИКАНСКОГО РЕГИОНА

В.П. Трухин¹, И.А. Наркевич², Е.П. Начарова^{1,3}, С.В. Уйба³, И.И. Басакина^{2*}

Резюме. Обозначены ключевые векторы деятельности ВОЗ в области иммунизации и вакцин, в том числе вакцин против гриппа. Проведен анализ отечественного рынка противогриппозных вакцин. Установлено, что Российская Федерация принимает активное участие в поддержке укрепления ресурсов развивающихся стран в области иммунобиотехнологии.

Ключевые слова: иммунизация, вакцина, грипп.

POTENTIAL OF THE RUSSIAN FEDERATION IN EXPORTS OF ANTI-INFLUENZA VACCINES IN LATIN AMERICAN COUNTRIES

V.P. Trukhin¹, I.A. Narkevich², E.P. Nacharova^{1,3}, S.V. Uiba³, I.I. Basakina^{2*}

Abstract. The key areas of focus of the WHO on the question of immunization and vaccines including anti-influenza vaccines are generalized. Domestic market of anti-influenza vaccines are analyzed. It is established, that Russian Federation is active participant of mainstreaming developing world in the area of immunobiotechnology.

Keywords: immunization, vaccine, influenza.

1 – ФГУП «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического агентства России, 198320, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Красное Село, ул. Свободы, д. 52

2 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

3 – Латиноамериканский институт биотехнологий Mechnikov, Республика Никарагуа, Манагуа, Эль Сентро, Сэнтро 2, Писо 7, Пасиб де лас Нассионес Унидас

1 – St. Petersburg Research Institute of Vaccines and Serums and the Bacterial Preparation Factory (SPbSRIVS), 52, Svobody str., Krasnoe Selo, Saint-Petersburg, 198320, Russia

2 – Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14 A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

3 – Latin american institute for biotechnology Mechnikov, The Center, Central 2, Floor 7, Walk to the United Nations, Managua, Nicaragua

* адресат для переписки:

E-mail: irina.basakina@pharminnotech.com

ВВЕДЕНИЕ

В течение последних десятилетий ежегодные вспышки гриппа и гриппоподобных респираторных вирусных инфекций поражают от 5 до 20% мирового населения и по числу случаев превосходят все другие инфекционные заболевания, вместе взятые. Заражение гриппом ежегодно приводит к тысячам смертей во всем мире, включая экономически развитые страны. Так, исследования центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) с использованием статистических моделей показали, что в США ежегодное количество связанных с гриппом смертей, вызванных респираторными заболеваниями и заболеваниями кровеносной системы, находилось в диапазоне от 3349 в 1986–1987 гг. до 48614 в 2003–2004 гг. [1]. В Российской Федерации в период эпидемии регистрируется около 30 млн случаев заболевания гриппом и другими гриппоподобными респираторными вирусными инфекциями.

Известно, что снижение иммунологической резистентности, глубокое подавление функциональной активности различных звеньев иммунной системы, обусловленные вирусной инфекцией, приводят к обострению многих хронических заболеваний, а также к возникновению вторичных бактериальных осложнений. Иммуитет после перенесенной гриппозной инфекции типоспецифичен, что способствует повторным случаям заболевания.

При гриппе, бурно развивающемся с момента инфицирования, когда заболевание протекает уже в первые часы после заражения, экстренная профилактика неспецифическими средствами остается малоэффективной. Для лечения инфекции используют в основном симптоматические и патогенетические средства в организме, высоко восприимчивом к данному возбудителю и не располагающем совершенным механизмом специфической и неспецифической защиты. Многократно реплицированные возбудители и

продукты их взаимодействия с эпителиальными и иммунными клетками, а также сами разрушенные клетки попадают в кровь, обуславливая развитие тяжелых форм заболевания, формирование осложнений и возможный неблагоприятный исход.

Общепризнан тот факт, что среди всех медицинских мероприятий, реализуемых в борьбе с инфекционными болезнями, особенно передающимися воздушно-капельным путем, наиболее эффективной является вакцинация, которая остается единственной действенной мерой профилактики гриппа во всем мире. Многолетний опыт вакцинопрофилактики гриппа среди групп риска по заболеваемости и развитию тяжелых постинфекционных осложнений стабильно показывает хорошие результаты. Кроме того, следует отметить, что снижение уровня заболеваемости гриппом в группах риска является не только чрезвычайно важным элементом обеспечения качества и продолжительности жизни, но и средством предотвращения экономического ущерба [2].

НАДГОСУДАРСТВЕННОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ

Анализ действующих программ и проектов Всемирной организации здравоохранения показывает, что в настоящее время одним из ключевых векторов ее деятельности являются вопросы иммунизации, вакцин и биотехнологических препаратов (рисунок 1) [3].



Рисунок 1. Программы и проекты Всемирной организации здравоохранения по вопросам иммунизации, вакцин и биотехнологических препаратов

Так, в период Десятилетия вакцин, заявленного на Шестидесят пятой сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения, утвержден глобальный план действий в отношении вакцин на 2011–2020 гг., в рамках которого определен ряд препятствий на пути к стабильному использованию иммунобиологических препаратов во многих развивающихся странах, которые связаны с высокими ценами и несовершенством систем здравоохранения. Для решения данной проблемы требуется всестороннее привлечение различных заинтересованных сторон с целью участия в поисках, разработке и доставке иммунобиологических препаратов.

Контент-анализ актуальных норм и стандартов ВОЗ показал, что основная цель глобальной программы по гриппу заключается в предоставлении государствам-членам стратегического руководства, обеспечении технической поддержки и координации деятельности, имеющей важное значение для достижения лучшей подготовленности систем здравоохранения к опасностям сезонного, зоонозного и пандемического гриппа для групп населения и отдельных людей (рисунок 2) [3].

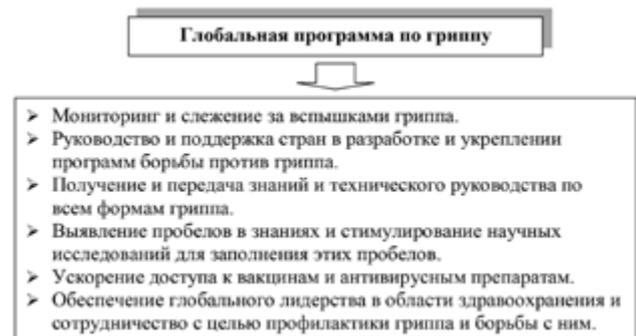


Рисунок 2. Цели глобальной программы по гриппу

Глобальный план действий в отношении вакцин, одобренный 194 государствами – членами Всемирной ассамблеи здравоохранения в мае 2012 года, является рамочным документом, обращенным к научному сообществу и производителям, для предотвращения к 2020 году миллионов случаев смерти благодаря обеспечению более справедливого доступа к существующим вакцинам для населения всех стран и сообществ (таблица 1) [3].

Еще одним из актуальных на сегодняшний день проектов ВОЗ является глобальный план действий в отношении вакцин против гриппа, который является всесторонней стратегией, направленной на уменьшение существующей глобальной нехватки вакцин против гриппа, предназначенных для сезонных эпидемий и пандемического гриппа, во всех странах мира путем применения трех основных подходов, представленных в таблице 2 [3].

РЫНОК ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Обращает на себя внимание тот факт, что в настоящее время Российская Федерация – одна из стран мира, обладающая собственным научным и производственным потенциалом, позволяющим выпускать в необходимом количестве современные безопасные вакцины, соответствующие международным требованиям, что, в свою очередь, определяет активное участие РФ в реализации вышеизложенных программ ВОЗ.

Таблица 1.

Глобальный план действий в отношении вакцин: роль партнеров и заинтересованных сторон

<p>Научное сообщество</p> <ul style="list-style-type: none"> • Содействовать инновациям для ускоренной разработки новых и улучшенных вакцин; способствовать оптимизации состава вакцин и материально-технической базы программ иммунизации; заложить основы для благотворного воздействия иммунизации в последующие десятилетия. • Осуществлять план мультидисциплинарных научных исследований, уделяющий основное внимание преобразовательному воздействию и основанный на потребностях конечных потребителей. • Разрабатывать вакцины и технологии, которые оптимизируют и доведут до максимума вакцинацию. • Использовать новые методы работы, ускоряющие технический прогресс. • Наладить диалог с другими исследователями, регулирующими органами и производителями, чтобы согласовывать мероприятия и повышать эффективность ответных мер, направленных на решение задач иммунизации на местном и глобальном уровне. • Предоставлять аргументацию, основные данные и методики, способствующие сохранению приоритетного значения иммунизации как на глобальном, так и на местном уровне. • Больше заниматься систематическими обзорами для выявления тех областей, где существуют прочные научные данные (которые должны стать основой политики здравоохранения), и областей, где таких данных нет (что явилось бы основанием для проведения первоочередных исследований в будущем). • Предоставлять фактические данные и краткое описание наиболее эффективных методик иммунизации. • Способствовать развитию производственного потенциала. • Содействовать выделению бюджетных средств на исследования в области вакцин и иммунизации.
<p>Производители</p> <ul style="list-style-type: none"> • Продолжать разрабатывать, производить и поставлять инновационные и высококачественные вакцины, отвечающие потребностям стран. • Содействовать проведению исследований и поддерживать образовательные программы в области иммунизации. • Вести открытый диалог с различными странами и представителями государственного сектора, чтобы обеспечить устойчивый доступ к существующим и новым вакцинам. • Продолжать внедрять инновации в процесс производства и структуры ценообразования. • Способствовать улучшению работы со СМИ для того, чтобы в рамках расширенной программы иммунизации повысить уровень информированности населения. • Содействовать стремительному наращиванию масштабов производства и внедрению в производство новых или улучшенных вакцин по мере их появления. • Развивать партнерства, которые способствуют росту производственного потенциала, увеличению поставок вакцин и расширению инноваций. • Вести пропаганду вакцин и иммунизации, координируя свою работу с другими партнерами.

Таблица 2.

Глобальный план действий в отношении вакцин против гриппа: ключевые цели и задачи

<p>Цель 1. Расширение использования сезонных вакцин</p> <p>Обеспечение готовности стран к принятию ответных мер в случае пандемии и побуждение промышленности к расширению потенциала для производства вакцин</p>
--

<ul style="list-style-type: none"> • эпиднадзор за бременем сезонного гриппа • оценка текущего и запланированного использования сезонной вакцины и потенциального спроса на пандемическую вакцину • усиление национальных консультативных комитетов по вопросам иммунизации • оценка и усиление национального потенциала для распределения пандемической вакцины • создание запаса вакцины против гриппа • разработка инструментов для оценки воздействия и эффективности по стоимости разных сценариев в условиях ограниченного наличия вакцины против пандемического гриппа • стимулирование деятельности по обеспечению справедливого доступа к вакцине против пандемического гриппа для всех государств-членов
<p>Цель 2. Расширение потенциала для производства вакцин</p> <p>Среднесрочная и долгосрочная цель: производство вакцины в количестве, достаточном для иммунизации населения мира, через 6 месяцев после передачи производителям вакцины штамма для разработки прототипа вакцины.</p> <ul style="list-style-type: none"> • расширение существующего потенциала вакцин против гриппа, а также создание нового потенциала для производства в странах и регионах, где ранее такой потенциал отсутствовал • использование высокопродуктивных технологий, которые позволят значительно расширить потенциал в случае пандемии <p>Прогресс:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ получение развивающимися странами грантов на создание потенциала для производства вакцины против гриппа на их территории; ✓ создание центров передачи технологии
<p>Цель 3. Научные исследования и разработки</p> <p>Содействие признанию и стимулированию научных исследований и разработок, проводимых научно-исследовательским сообществом и промышленностью, в области изготовления вакцин с целью создания более действенных и эффективных вакцин, которые способны вызывать защитные реакции после одной дозы и/или индуцируют длительный иммунитет широкого спектра к штаммам как сезонного, так и пандемического гриппа</p> <ul style="list-style-type: none"> • разработка более эффективных вакцин против гриппа с использованием новых технологий • идеальным продуктом является вакцина со следующими свойствами: <ul style="list-style-type: none"> ✓ безопасность и обеспечение надежной защиты, предпочтительно во всех целевых группах, включая детей грудного возраста, пожилых людей, беременных женщин и людей с ослабленным иммунитетом ✓ простое и недорогое широкомасштабное производство ✓ эффективность (предпочтительно при незначительной дозе антигена) ✓ в идеале достаточно одной дозы ✓ термостойкость ✓ обеспечение защиты минимум в течение одного года, включая защиту против вирусов с антигенным дрейфом <p>Прогресс:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ разработка устойчивой технологии производства, подходящей для развивающихся стран, и соответствующих прав интеллектуальной собственности ✓ консультации с участием исследователей вакцин и специалистов общественного здравоохранения для обсуждения прототипов вакцины против пандемического гриппа и вакцин, которые потенциально могут индуцировать более длительный иммунитет более широкого спектра к штаммам как сезонного, так и пандемического гриппа ✓ создание базы данных в Интернете для предоставления без каких-либо ограничений информации о клинических испытаниях кандидатных вакцин против пандемического гриппа

Анализ отечественного рынка указывает на тенденцию положительной динамики показателя прироста продаж сегмента вакцин за последние годы, который в 2014 и в 2015 году превысил 100% в стоимостном и натуральном выражении соответственно (таблица 3).

Таблица 3.

Динамика прироста продаж вакцин в РФ*

Год	Прирост продаж	
	%, руб.	%, уп.
2013	30,88	16,37
2014	120,79	50,20
2015	12,32	103,41
2016	15,34	21,53

Примечание: *по данным DSM Group.

С учетом фактора экономической доступности вакцин в первую очередь целесообразным являются исследования по странам-производителям и определение доли препаратов иностранных производителей, которые не всегда реализуют свою продукцию в рамках социально ориентированного маркетинга. Динамика рынка вакцин Российской Федерации показывает, что за последние 2 года доля потребления исследуемого сегмента отечественного производства активно возрастает (рисунок 3).

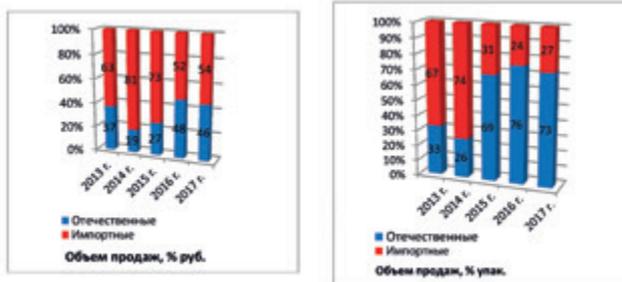


Рисунок 3. Динамика рынка вакцин РФ по производителям

Примечание: *по данным DSM Group

В настоящее время номенклатура противогриппозных вакцин представлена 26 наименованиями 34 препаратов.

Общая структура производителей вакцин против гриппа, представленных в Государственном реестре лекарственных средств, приведена на рисунке 4, который показывает, что отечественные производители в 2 раза превосходят иностранных по количеству зарегистрированных препаратов. При этом среди иностранных производителей лидирующие позиции

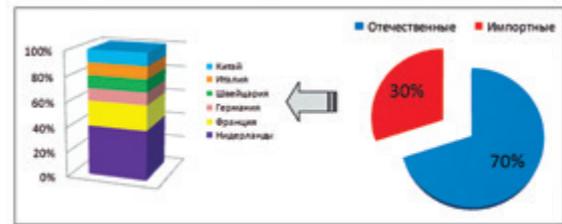


Рисунок 4. Структура предложения противогриппозных вакцин по странам-производителям

занимают Нидерланды и Франция, доля которых в структуре импортных вакцин составляет 40 и 20% [4].

Лидерами по количеству представленных на рынке РФ противогриппозных вакцин являются ведущие отечественные производители иммунобиологических препаратов, представленные в таблице 4.

Таблица 4.

Топ-5 производителей противогриппозных вакцин, представленных на рынке РФ

Фирмы-производители, страны	Количество препаратов, %
ФГУП «НПО «Микроген», Россия	32
ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия	21
ФГУП СПбНИИВС ФМБА России, Россия	15
«Эбботт Биолджикалз Б.В.», Нидерланды	12
«Санофи Пастер С.А.», Франция	6

РАСШИРЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА

Следует отметить, что в последние годы достаточно привлекательно выглядит роль отечественных производителей противогриппозных вакцин не только в рамках фармацевтического рынка РФ, но и в реализации ряда целей и задач, поставленных Всемирной организацией здравоохранения в части развития партнерства, которые способствуют росту производственного потенциала, увеличению поставок вакцин и расширению инноваций, а также созданию нового потенциала для производства в странах и регионах, где ранее такой потенциал отсутствовал.

С учетом высокой доли социальной поддержки населения и вынужденной импортозависимой политики в части приобретения иммунобиологических препаратов и вакцин приоритетным направлением для установления присутствия отечественных производителей являются страны Латинской Америки и Карибского бассейна, которые в последние годы проявляют

особый интерес к долгосрочному сотрудничеству, в том числе с Российской Федерацией.

Так, в начале 2016 года федеральным государственным унитарным предприятием «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП СПбНИИВС ФМБА России), входящим в Ассоциацию международных фармацевтических производителей (International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations, IFPMA) и Объединение производителей вакцин развивающихся стран (Developing Countries Vaccine Manufacturers Network, DCVMN), было получено регистрационное удостоверение на инактивированную гриппозную вакцину, относящуюся к наиболее высокотехнологичным вакцинным препаратам, и получена возможность вывода ее в свободное обращение на рынки стран Латинской Америки и Карибского бассейна. В этом же году была осуществлена первая поставка в полном объеме в рамках национального календаря профилактических прививок Кубы, а также в Никарагуа и Эквадор.

Проблема массовой вакцинопрофилактики гриппа в этих странах в последние годы не только не потеряла своей актуальности, но, напротив, значительно обострилась. Это связано, в частности, с активностью антипрививочного движения, результатом деятельности которого явилось большое количество отказов от вакцинации среди населения; появлением высокопатогенных штаммов вируса гриппа, а также с тем, что заболевание часто развивается не только у ослабленных участников, детей и лиц пожилого возраста, но и у практически здоровых людей среднего (работоспособного, репродуктивного) возраста. Однако наиболее уязвимыми при заболевании гриппом среди взрослого населения являются группы пожилых людей и/или людей, имеющих какие-либо хронические заболевания. Известно, что пациенты с различными заболеваниями сердечно-сосудистой, дыхательной систем и другими отклонениями в состоянии здоровья, в том числе относящиеся к группе иммунокомпromетированных, более восприимчивы к инфекциям и имеют высокий риск развития осложнений. Именно эта категория относится к так называемым группам риска и подлежит вакцинации в рамках национального календаря профилактических прививок в Республике Никарагуа. Вакцина также применялась в рамках национального календаря прививок для рутинной вакцинации на Кубе, в том числе у лиц с отклонениями в состоянии здоровья и в группе беременных женщин.

В течение всего периода проведения вакцинации специалисты по фармаконадзору ФГУП СПбНИИВС ФМБА России и независимые эксперты из ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России находились в регионе

для оперативного сбора информации о безопасности впервые применяемой в этих странах вакцины российского производства. Параллельно надзор осуществлялся министерствами здравоохранения стран, где проводилась вакцинация, Никарагуанским институтом социального страхования (INSS) и национальным кубинским регуляторным органом (CECMED).

Постмаркетинговые исследования показали, что применяемая вакцина соответствует всем международным критериям эффективности и безопасности, что подтверждается отсутствием серьезных неблагоприятных событий, связанных с вакцинацией.

Анализ результатов иммунизационной компании был проведен на основании данных, предоставленных Никарагуанским институтом социального страхования (INSS).

Вакцинация проводилась одновременно в 57 прививочных пунктах, организованных на базах государственных медицинских учреждений различного уровня. Для обеспечения качества работы и оперативного сбора информации со стороны INSS были назначены 56 наблюдателей из числа сотрудников, имеющих соответствующую подготовку, в том числе по вопросам вакцинопрофилактики: 46 врачей, 5 медицинских сестер и 5 человек других специальностей (фельдшеры, организаторы здравоохранения). Вакцина в прививочные пункты доставлялась в соответствии с правилами соблюдения холодовой цепи. Наибольшее число прививочных пунктов было организовано в г. Манагуа, где свою деятельность осуществлял 31 наблюдатель. В различных департаментах Никарагуа, включая Карибское побережье и острова, работали еще 25 наблюдателей.

В рамках проведения рутинной вакцинации Никарагуанским институтом социального страхования проводилась регистрация ряда показателей и индивидуальных данных пациентов. На основе частично представленных институтом данных был проведен ретроспективный анализ групп взрослых людей, вакцинированных вакциной инактивированной расщепленной производства ФГУП СПбНИИВС ФМБА России.

В общей сложности во время проведения недели вакцинации Институтом социального страхования было использовано 140 560 доз вакцины инактивированной расщепленной. Для анализа распределения вакцинированных по возрастным группам были представлены данные более, чем 89 000 привитых. Данные о целевой группе вакцинированных представлены в таблице 5.

Серьезных неблагоприятных событий, связанных с вакцинацией, зарегистрировано не было. На основе оценки результатов использования всех доз вакцины, применяемой в Республике Никарагуа, можно сделать

Таблица 5.

Целевая группа вакцинированных

Группа населения	Число привитых в соответствии с возрастной группой						
	50–59	60–69	70–79	80–89	90+	Всего	
Взрослые старше 50 лет (в т.ч. получающие терапию гемодиализом)	50–59	60–69	70–79	80–89	90+	Всего	
	15004	34777	19782	7270	1205	78038	
Работники и пенсионеры системы здравоохранения	20–29	30–39	40–49	50–59	60+	Всего	
	2192	1776	951	564	80	5563	
Пациенты с хроническими заболеваниями	<20	20–35	36–45	46–55	56–65	66+	Всего
	49	2048	1622	1512	778	222	6231
Всего						89832	

вывод, что вакцина хорошо переносится взрослыми людьми всех возрастных групп, в том числе пожилыми лицами с хроническими заболеваниями. Все привитые в течение 30 мин оставались под наблюдением персонала прививочных пунктов, были проинформированы о необходимости в дальнейшем обращаться к врачу в случае развития местной или общей реакции, заболевания или обострения фоновой патологии в течение 1 месяца. Однако нельзя оставить без внимания тот факт, что при использовании 140 560 доз вакцины инактивированной расщепленной производства ФГУП СПбНИИВС ФМБА России в 4 случаях в течение 30 мин после применения вакцины фиксировались состояния, требовавшие расследования (рисунок 5).

Все три местные реакции были расценены как нормальные, их размер не превышал 1–3 сантиметра, и все симптомы исчезли в срок не позднее 3 дней после вакцинации. У одной женщины 67 лет была диагностирована инфекция мочевыводящих путей, с чем и было связано повышение температуры, которая нормализовалась на фоне проводимой антибактериальной терапии.

Таким образом, приведенные данные показывают и доказывают высокий профиль безопасности вак-

цины инактивированной расщепленной производства ФГУП СПбНИИВС ФМБА России.

Помимо регистрации клинических данных вакцинированных взрослых в рамках рутинной вакцинации в соответствии с национальным календарем профилактических прививок, Никарагуанский институт социального страхования провел выборочную оценку иммунологической эффективности вакцинации. Для этого были использованы остатки образцов сывороток крови пациентов, которым приходится регулярно проходить гематологическое обследование на фоне хронической патологии. Так, были отобраны остаточные количества образцов сывороток крови, полученных до вакцинации, на 21-й и 60-й день вакцинации у 120 привитых.

Оценка иммуногенности вакцины против гриппа проводилась по трем критериям, согласно международным требованиям, в лаборатории госпиталя Сермеса, г. Манагуа. Данные выборочной оценки иммуногенности привитых в республике Никарагуа представлены в таблице 6.

Как видно из таблицы, вакцина является высокоиммуногенной, кроме того высокий уровень защиты сохраняется и на 60-й день после вакцинации. Следу-



Рисунок 5. Развитие реакции после применения вакцины

ет подчеркнуть, что оценка иммуногенности проводилась выборочно с использованием остаточных количеств образцов сывороток крови пациентов, которым требовалось рутинное регулярное плановое гематологическое обследование, сроки которого были приближены к рекомендованным для оценки иммуногенности. При этом были отобраны только образцы, для которых плановые исследования были выполнены в полном объеме. Большую часть этой группы составили пожилые люди с хронической патологией и получающие гемодиализ. Таким образом, можно сделать вывод, что вакцинация пожилых людей с различными отклонениями в состоянии здоровья, которые составили основную массу обследованных, является эффективной и защита сохраняется на протяжении всего эпидемического сезона, что также чрезвычайно важно.

Таблица 6.

Иммунный ответ у привитых в Республике Никарагуа

	21-й день вакцинации			60-й день вакцинации		
	H1N1	H3N2	B	H1N1	H3N2	B
Коэффициент сероконверсии: СГТ после вакцинации / СГТ до вакцинации* У лиц старше 60 лет ≥2 У лиц младше 60 лет ≥2,5**	4,6	3,2	9,4	6,9	7,3	5,2
Показатель сероконверсии: доля вакцинированных с ≥4-кратным повышением ГИА, %, ≥ 0**	55	50	83	73	77	65
Показатель серопротекции: доля лиц с титром ГИА ≥1: 40, %, ≥70**	82	71	100	99	83	80

Примечание: *СГТ – среднее геометрическое титров антител.

**международные требования к показателям эффективности вакцины.

ТРАНСФЕР ЗНАНИЙ

Кроме того, следует отметить, что Российская Федерация не только реализует производство и поставки инновационных и высококачественных вакцин, отвечающих потребностям стран, но и содействует поддержке образовательных программ в области иммунизации, что также коррелирует с поставленными ВОЗ задачами. Так, в рамках работы сотрудничающих центров ВОЗ осуществляется процесс укрепления ресурсов в странах в отношении информации, услуг, ис-

следований, обучения в целях содействия развитию национального здравоохранения.

Началу кампании, проводимой Российской Федерацией в странах Латинской Америки и Карибского бассейна, предшествовал цикл обучения и повышения квалификации всех сотрудников Никарагуанского института социального страхования для их успешной последующей работы. 197 слушателей цикла, среди которых были представители медицинских учреждений Манагуа как самого населенного города страны, представители департаментов Никарагуа, врачи и медицинские сестры, прошли обучение в форме семинаров по вопросам коллективного и индивидуального иммунитета при вакцинации, организации прививочного пункта, техники проведения вакцинации, мониторинга, расследования и регистрации серьезных неблагоприятных событий и другим тематикам, что позволило на должном уровне реализовать запланированные мероприятия [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая вышеизложенное, следует обратить внимание, что Российская Федерация в настоящее время обладает научным потенциалом в части реализации содействия развитию ресурсов развивающихся стран в отношении информации, услуг, исследований, обучения в области иммунобиотехнологии, а отечественные производители активно раскрывают свои возможности в сфере поставок инновационных и высококачественных вакцин, отвечающих потребностям стран, что, в свою очередь, находит отражение в выполнении ряда задач Всемирной организации здравоохранения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Estimates of Deaths Associated with Seasonal Influenza – United States, 1976-2007 // MMWR, 2010. V. 59(33). P. 1057-1062. URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5933a1.htm> (дата обращения 20.01.2018).
2. Д.А. Лиознов, О.В. Горчакова, С.Л. Николаенко, Н.В. Сабадаш, В.П. Трухин, Е.П. Начарова, И.В. Красильников. Сравнительная оценка эффективности и безопасности вакцин для профилактики гриппа у взрослых жителей мегаполиса // Медицинский алфавит. 2016. Т. 1. № 8. С. 27–30.
3. Programmes and projects. URL: <http://www.who.int/entity/en/> (дата обращения 21.11.2017).
4. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения 09.01.2017).
5. И.И. Басакина, И.А. Наркевич, В.П. Трухин, И.В. Красильников. Роль базовой кафедры иммунобиотехнологии СПХФА в стратегии отечественного и международного трансфера знаний в области биофармацевтической промышленности // Биотехнология: состояние и перспективы развития. Материалы IX международного конгресса. 2017. С. 534–536.

МЕТАЛЛОДЕТЕКТОРЫ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СЕРИЯ THS/PH 21®

ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА

- более 45 лет опыта в производстве металлодетекторов
- превосходное качество обнаружения частиц металлов, независимое от скорости прохождения продукта
- самокалибровка металлодетектора в реальном времени
непрерывная автоматическая проверка параметров металлодетектора, обеспечивающая максимальную эффективность
- датчики, контролирующее открытие и закрытие клапана отбраковки
- минимальное время срабатывания клапана отбраковки, гарантирующее 100% отбраковку загрязненного продукта

THS/PH21 N СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ
МЕТАЛЛОДЕТЕКТОР



THS/PH21 N-DT -
металлодетектор в пылезащищенном
исполнении



THS/PH21 N-WI P -
металлодетектор с функцией
мойка-на-месте



THS/FBB • THS/MBV -
инспекционные **КОНВЕЙЕРЫ**



УДК 615.322; 339.13

КОМПЛЕКСНОЕ МАРКЕТИНГОВОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОССИЙКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В.И. Зверева^{1*}, О.А. Семкина^{1,3}, Е.И. Грибкова^{1,2}

Резюме. Лекарственное растительное сырье (ЛРС) является перспективным источником для разработки лекарственных препаратов (ЛП), применяемых для профилактики и лечения дисфункций щитовидной железы. Представляется интересным изучение отечественного фармацевтического рынка с целью определения доли ЛП растительного происхождения вышеуказанной фармакотерапевтической группы. Полученные в результате исследования данные говорят о том, что среди лекарственных препаратов, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы, препараты растительного происхождения отсутствуют; наибольшая доля субстанций представлена отечественными предприятиями-производителями. При этом среди производителей готовых лекарственных форм преимущество – у Германии, что указывает на зависимость пациентов от поставок из-за рубежа. Исследование также показало недостаточное разнообразие лекарственных форм изучаемой группы лекарственных средств, что может повлиять на приверженность пациентов к лечению заболеваний.

Ключевые слова: фармацевтический рынок, Государственный реестр лекарственных средств, заболевания щитовидной железы.

COMPREHENSIVE MARKETING STUDY OF THE RUSSIAN PHARMACEUTICAL MARKET DRUGS FOR PREVENTION AND TREATMENT OF DISEASES OF THE THYROID GLAND

V.I. Zvereva^{1*}, O.A. Semkina^{1,3}, E.I. Gribkova²

Abstract. Medicinal plant raw materials is a promising source for the development of drugs used for the prevention and treatment of thyroid dysfunction. It is interesting the study of the domestic pharmaceutical market in order to determine the proportion of drugs of plant origin, the above-mentioned pharmacological group. The results of this study indicate that among the drugs used for the prevention and treatment of diseases of the thyroid gland, drugs of plant origin do not exist; the largest proportion of the substances represented by the Russian manufacturers. At the same time, among the ready-to-use dosage forms, the form has an advantage, as a country of origin is Germany, which indicates the patient's dependence on supplies from abroad. The study also showed a lack of diversity of dosage forms of the studied group of drugs, which affects the adherence of patients to the treatment.

Keywords: pharmaceutical market, State register of medicines, thyroid gland disease.

1 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

2 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая д. 6

3 – ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119192, Россия, г. Москва, Ломоносовский пр., д. 27/1

1 – All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (FGBNU VILAR), 7/1, Green str., Moscow, 117216, Russia

2 – Peoples' friendship University of Russia (RUDN University), 6, Miklukho-Maklay str., Moscow, 117198, Russia

3 – Lomonosov Moscow State University, Faculty of Medicine, 27/1, Lomonosovskiy av., Moscow, 119192, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: valentinca1988@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день фармацевтический рынок Российской Федерации (РФ) демонстрирует тенденцию перехода от химически синтезированных ЛП к полученным из растительного сырья. Лекарственные средства (ЛС), полученные из ЛРС, в сравнении с химически синтезированными имеют некоторые преимущества, такие как меньшее количество побочных реакций, более мягкое действие на организм.

Более того, согласно дорожной карте по направлению «Превентивная медицина» Национальной технологической инициативы [1], в период с 2017 по 2035 гг. на территории Российской Федерации планируется создание отрасли лекарственного растениеводства и производства традиционных для разных народов мира растительных ЛС с использованием технологии оценки и разработки многокомпонентных естественных ЛС, а также производства и адресной доставки

персонализированных лечебных (функциональных) продуктов и естественных биорегуляторов.

В то же время, согласно прогнозу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в ближайшие годы рост доли ЛС из растительного сырья составит до 60% мирового фармацевтического рынка [2], что делает ЛП из ЛРС перспективными для разработки и изучения.

Сотрудники ФГБНУ ВИЛАР занимаются изучением лекарственных растений с целью создания эффективных ЛП из ЛРС. В последние годы активно изучается лекарственное растение зюзник европейский (*Lycopus europaeus* L.) и его влияние на функции щитовидной железы.

Говоря о дисфункции щитовидной железы, следует отметить, что в настоящее время для лечения заболеваний щитовидной железы используется длительная или пожизненная заместительная гормональная терапия (при гипотиреозе) и такие методы, как медикаментозный, лучевой или хирургическое подавление активности щитовидной железы (при гипертиреозе). Терапия гипертиреоза, как правило, длительная и сопровождается побочными эффектами в 50–60% случаев.

При использовании фитотерапевтических лекарственных средств значительно реже наблюдается проявление неблагоприятных побочных явлений. Мягкое терапевтическое действие лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья при длительном применении и постепенное развитие эффекта наиболее актуально для лечения хронических заболеваний. Более того, проведено несколько рандомизированных клинических исследований, в которых применялись лекарственные растения с тиреостатиками и радиоактивным йодом у пациентов с гипертиреозом [3, 4]. В результате этих исследований сделан вывод о том, что назначение препаратов из лекарственного растительного сырья в комплексной терапии лечения тиреостатиками и лучевой терапией значительно снижает частоту рецидивов заболевания и позволяет устранить основные симптомы тиреотоксикоза у пациентов [5].

Цель работы: оценить современное состояние российского фармацевтического рынка ЛП, используемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы, для изучения актуальности создания ЛП на основе ЛРС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались методы контент-анализа, агрегирования данных, сравнительного анализа. Информационную базу исследования составили данные Государственного реестра лекарственных средств

(ГРЛС), а также регистр лекарственных средств России (РЛС) по состоянию на 15 февраля 2018 г. Статистическая обработка данных проводилась с использованием MS Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ ассортимента ЛП категории Н03 «Препараты для лечения заболеваний щитовидной железы» состоял из нескольких этапов. На первом этапе исследования нами была разработана база данных изучаемой группы препаратов, зарегистрированных на фармацевтическом рынке России. Для этого были изучены: Государственный регистр лекарственных средств, Государственный реестр лекарственных средств. База данных включала следующую информацию:

- торговое и международное непатентованное название;
- фирму-изготовителя;
- страну-изготовителя;
- лекарственную форму выпуска;
- дозировку ЛП;
- дату регистрации препарата на фармацевтическом рынке России и др.

Далее нами был проведен анализ ассортимента ЛП, которые вошли в базу данных.

Анализ ассортимента был проведен по таким характеристикам, как лекарственная форма, страна-производитель, природа происхождения ЛП и др. На заключительном этапе исследования был построен ассортиментный макроконтур фармацевтического рынка ЛС, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы, который позволяет наглядно охарактеризовать российский фармацевтический рынок Н03 «Препараты для лечения заболеваний щитовидной железы».

Исследование ассортимента ЛС категории Н03 «Препараты для лечения заболеваний щитовидной железы», внесенных в ГРЛС [6, 7], по состоянию на февраль 2018 г. позволило установить, что на территории РФ имеют действующие регистрационные удостоверения (РУ) 44 ЛС исследуемой группы 5 международных непатентованных наименований (МНН), среди которых 14 РУ выдано на субстанции. Остановившись на странах – производителях субстанций для получения готовых лекарственных форм (ГЛФ), используемых для профилактики и лечения дисфункции щитовидной железы, следует отметить, что подавляющее большинство РУ выдано на субстанции отечественного происхождения (рисунок 1).

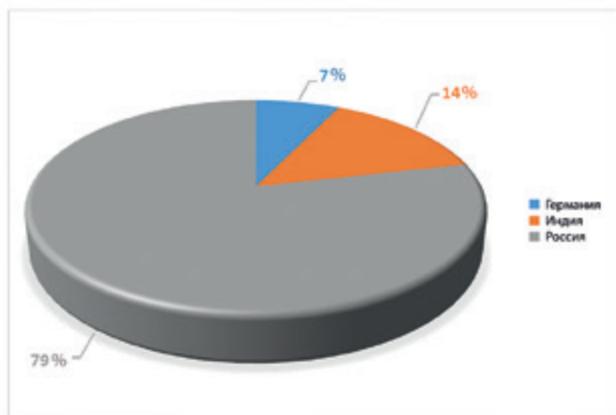


Рисунок 1. Структуризация ассортимента субстанций для производства ГЛФ, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы по странам-поставщикам (производитель)

Анализ данных ГРЛС о готовых к употреблению лекарственных препаратах категории Н03 «Препараты для лечения заболеваний щитовидной железы» позволяет сделать заключение том, что наибольшее количество РУ (47%) выдано на ЛП, страной происхождения которых является Германия, на втором месте (40%) – РФ (рисунок 2).

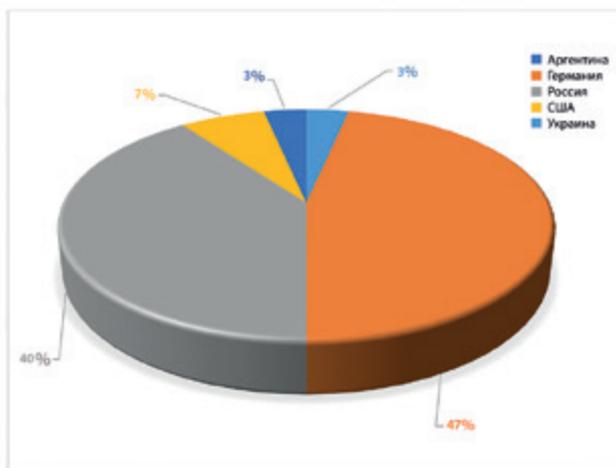


Рисунок 2. Структуризация ассортимента ГЛФ, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы, по странам-поставщикам (производитель)

Сравнительная оценка доли отдельных ЛФ в общей структуре ассортимента ГЛФ указывает на тот факт, что абсолютное большинство ЛФ в исследуемом разрезе составляют таблетки (90%). Другие ЛФ в структуре предложения суммарно составляют всего 10% (рисунок 3). Кроме того, следует обратить внимание на отсутствие в структуре ассортимента зарегистрированных ЛП таких ЛФ, как жидкие формы для приема внутрь (раствор, капли) и капсулы.

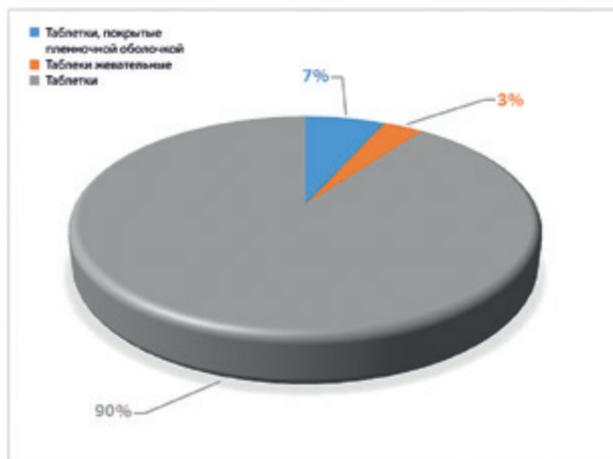


Рисунок 3. Структуризация предложений препаратов для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы по формам выпуска

Исследование распределения ассортимента ГЛФ, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы, по особенностям химического строения и биологической активности позволило выделить группу ЛП с наибольшим удельным весом в общей структуре ассортимента, а именно: Н03СА «Препараты йода» (47% выданных РУ) и Н03АА01 «Левотироксин натрия» (33% выданных РУ) (рисунок 4).



Рисунок 4. Структуризация предложения ГЛФ для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы в зависимости от особенностей химического строения и биологической активности

Детальное изучение группы Н03 «Препараты для лечения заболеваний щитовидной железы» производилось по отдельным подгруппам. Для подгруппы Н03А «Препараты щитовидной железы» установлено, что на момент проведения исследования имеются актуальные регистрационные удостоверения на 14 ЛП, представленных двумя МНН. Оценка фармацевтических субстанций данной подгруппы на фармацевтическом рынке РФ показывает, что на данный момент актуальными являются 2 РУ, согласно которым странами

происхождения сырья являются РФ и Германия. В то же время сравнительное изучение отдельных ЛФ исследуемой подгруппы ЛП говорит о том, что актуальные РУ зарегистрированы на ЛП в форме таблеток. Исследование выявило, что среди ГЛФ подгруппы Н03А «Препараты щитовидной железы» абсолютное большинство РУ выдано на ЛП, произведённые в Германии (рисунок 5).

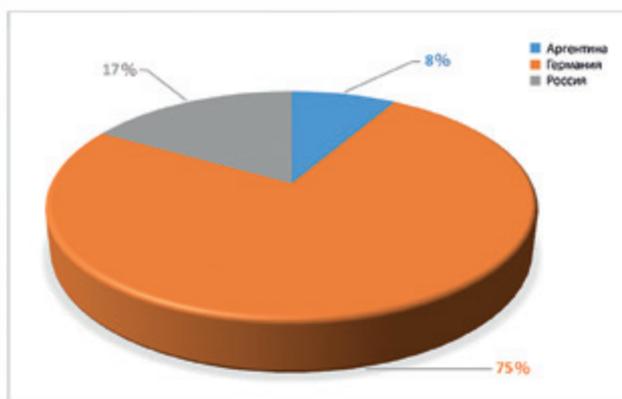


Рисунок 5. Структуризация ассортимента ГЛФ подгруппы Н03А «Препараты щитовидной железы» по странам-поставщикам (производитель)

В результате проведённого детального изучения подгруппы Н03В «Антитиреоидные препараты» было установлено, что на момент проведения исследования действующие РУ выданы на 6 торговых наименований, представленных также двумя МНН. Согласно данным ГРЛС, странами – производителями фармацевтических субстанций для получения ГЛФ данной подгруппы являются Россия и Индия. Производителями ГЛФ исследуемой подгруппы являются 3 страны: Россия, Украина и Германия, причем большее количество РУ выдано на ЛП производства РФ (рисунок 6). Согласно данным ГРЛС и РЛС, ЛП исследуемой подгруппы представлены двумя ЛФ: таблетки и таблетки, покрытые пленочной

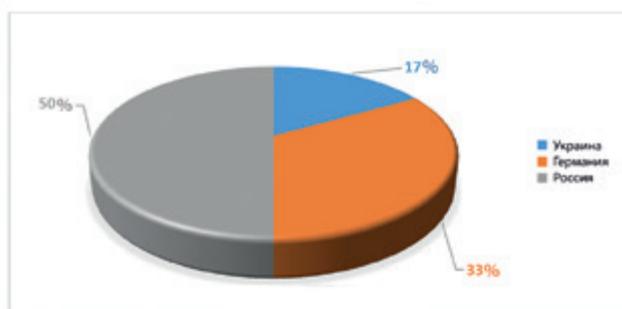


Рисунок 6. Структуризация ассортимента ГЛФ подгруппы Н03В «Антитиреоидные препараты» по странам-поставщикам (производитель)

оболочкой; причем наибольший удельный вес в исследуемом разрезе имеет ЛФ «таблетки».

Изучение последней подгруппы Н03С «Препараты йода» группы ЛП Н03 «Препараты для лечения заболеваний щитовидной железы» показало наибольшее количество актуальных РУ (24 штуки), в то время как данная подгруппа представлена всего одним МНН: калия йодид. Исследование также показало наибольшее количество актуальных РУ на субстанции для получения ГЛФ (10 штук). Данные ГРЛС демонстрируют, что страной-производителем абсолютного большинства ГЛФ данной подгруппы является Российская Федерация (рисунок 7). Кроме того, большинство актуальных РУ на ЛП данной подгруппы выдано на субстанции, произведённые на территории России.

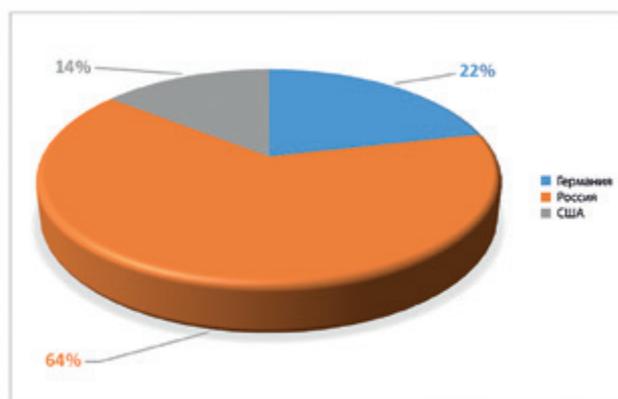


Рисунок 7. Структуризация ассортимента ГЛФ подгруппы Н03С «Препараты йода» по странам-поставщикам (производитель)

Изучение вклада отдельных ЛФ в общую структуру ассортимента подгруппы Н03С «Препараты йода» показало, что наибольший удельный вес имеет ЛФ «таблетки» (рисунок 8).

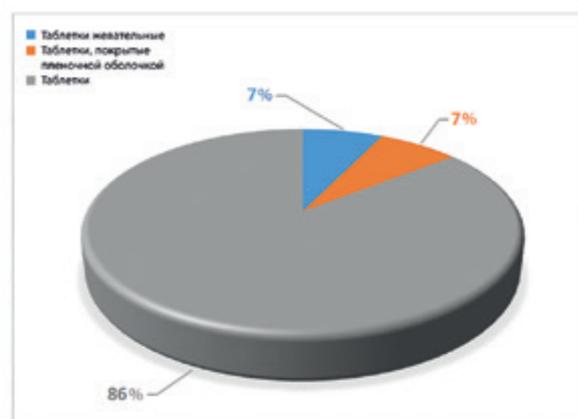


Рисунок 8. Структуризация предложений препаратов подгруппы Н03С «Препараты йода» по формам выпуска

Основные параметры ассортимента и характеристики макроконтура фармацевтического рынка РФ лекарственных средств, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы, демонстрируют необходимость изменения направления вектора традиционных фармацевтических разработок в сторону расширения ассортимента ЛП данной группы, создания инновационных ЛП из ЛРС, расширения ассортимента предлагаемых лекарственных форм за счет ресурсов (природных, технологических, научных) внутри страны; уменьшения зависимости от иностранной сырьевой базы (рисунок 9).

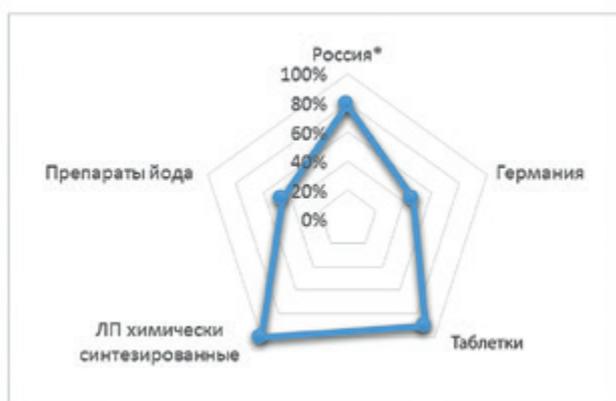


Рисунок 9. Ассортиментный макроконтур фармацевтического рынка ЛС, применяемых для профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы

Примечание: * показатели макроконтура для фармацевтических субстанций

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты дают основания утверждать, что все ЛП подгруппы Н03А «Препараты щитовидной железы», зарегистрированные на фармацевтическом рынке РФ, являются химически синтезированными. При этом абсолютное большинство ЛП исследуемой группы представлены ЛФ «таблетки». Примечательно, что среди производителей субстанций преобладают отечественные производители, а среди производителей ГЛФ – Германия. Привлекательными для отечественного производителя могут быть в первую очередь разработка и внедрение ЛП данной группы, полученных из ЛРС; увеличение доли ГЛФ производства РФ; расширение перечня ЛФ подгруппы Н03А «Препараты щитовидной железы» путем разработки ЛП в таких ЛФ, как капли для приема внутрь, раствор для приема внутрь, капсулы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальная технологическая инициатива HealthNet. URL: <http://www.nti2035.ru/markets/healthnet> (дата обращения 15.02.2018).

2. Т.Г. Афанасьева. Разработка методических основ управления бизнес-процессами в аптечном сегменте фармацевтического рынка (на примере лекарственных растительных препаратов): автореф. дис. ... д.фарм.н. – М.: РУДН, 2014. 48 с.
3. А.Н. Кваченюк, Е.Л. Кваченюк. Использование фитотерапии при лечении заболеваний щитовидной железы // Врачебное дело. 2012. № 3–4. С. 108–115.
4. И.В. Чернявская, О.В. Земляничина, А.А. Черняева, И.П. Дунаева, С.П. Олейникова, Н.А. Кравчун. Роль и место фитотерапии в комплексном лечении аутоиммунных заболеваний щитовидной железы // Проблемы эндокринной патологии. 2018. № 1. С. 62–70.
5. А.С. Айвазова. Изучение тиреотропных свойств зюзника европейского (*Zyuznikus europaeus* L.): дис. ... к.биол.н. – М.: НИИ фармакологии РАМН, 2008. 120 с.
6. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения 15.02.2018).
7. Регистр лекарственных средств России (РЛС). URL: http://www.rlsnet.ru/atc_index_id_545.htm (дата обращения 15.02.2018).

ЧИСТЫЕ ПОМЕЩЕНИЯ

«ПОД КЛЮЧ»

СОЗДАЕМ ПРОЕКТЫ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ:

СООТВЕТСТВУЕТ
СТАНДАРТУ



T3 КОНЦЕПТПРОЕКТ
РАЗРАБОТКА ПРОЕКТНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ
СОЗДАНИЕ ПАКЕТА РАБОЧЕЙ ДОКУМЕНТАЦИИ



- Собственное современное производство конструкций «Чистых помещений»
- Исполнение по типовым и индивидуальным размерам
- Монтаж и шеф-монтаж конструкций нашими инженерами

Накопленные знания и подтвержденные навыки по организации высокотехнологичных фармацевтических производств нашей команды – Ваша гарантия получения лицензии на готовый объект и успешного прохождения аудита:



Михаил Пергаев
Директор по проектированию и строительству



Павел Путилин
Главный инженер проекта



Галина Лемперт
Главный инженер-технолог-проектировщик, специалист по валидации



Петр Рязанцев
Ведущий технолог-проектировщик



Александр Кузьмичев
Главный инженер проекта



Василий Норсеев
Проектировщик электрических систем



Мария Резниченко
Архитектор



Евгений Гузин
Инженер-конструктор



Екатерина Каплун
Инженер-проектировщик



Дарья Отморская
Технолог-проектировщик



Ирина Сахарова
Сметчик



Надежда Григорьевская
Технолог-проектировщик систем



Василий Кутуков
Технолог-проектировщик



Олеся Васильчук
Технолог-проектировщик



Евгений Полуянов
Технолог-проектировщик



Максим Широков
Старший специалист-сметчик

УДК 615.1; 614.35

СИСТЕМА ФАРМАКОНАДЗОРА НА РЕАЛЬНОМ ПРЕДПРИЯТИИ

Е.А. Ситникова^{1*}, С.Г. Марданлы², Е.П. Рогожникова¹

Резюме. В статье представлена информация об организации системы фармаконадзора в фармацевтической компании. Описаны основные задачи и методы достижения фармаконадзора. Описана работа с данными по безопасности фармакотерапии.

Ключевые слова: фармаконадзор, эффективность и безопасность, нежелательные реакции.

THE SYSTEM OF PHARMACOVIGILANCE AT A PHARMACEUTICAL PLANT

E.A. Sitnikova^{1*}, S.G. Mardanly², E.P. Rogozhnikova¹

Abstract. The article presents information about the organization of pharmacovigilance system in a pharmaceutical company. The main tasks and methods of pharmacovigilance achievement are described. The system of notification of adverse reactions of pharmacotherapy is described.

Keywords: pharmacovigilance, efficacy and safety, undesirable reactions.

1 – ЗАО «ЭКОлаб», 142530, Россия, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1

2 – ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», 142611, Россия, Московская обл., г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д. 22

1 – CJSC «Ecolab», 1, Budennogo str., Elektrogorsk, Moscow region, 142530, Russia

2 – State University of Humanities and Technology, 22, Zelenaya str., Orekhovo-Zuevo, Moscow region, 142611, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: lalobai@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Согласно определению ВОЗ фармаконадзор – совокупность мероприятий, связанных с научными исследованиями и деятельностью, направленных на выявление, оценку и понимание возможных негативных последствий медицинского применения лекарственных средств, предупреждение и защиту пациентов [1]. С 1956 года, года «Талидомидовой трагедии», проблема взаимосвязи безопасности и эффективности лекарственных средств для медицинского применения, безусловно, сдвинулась в правильную сторону государственного контроля. Имеется ряд нормативных актов, таких как № 61-ФЗ от 12.04.2010 г. «Об обращении лекарственных средств», приказ Росздравнадзора № 1071 от 15.07.2017 г «Об утверждении фармаконадзора», Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 87 «Об утверждении Правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза» и т.д.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ РАБОТЫ ОТДЕЛА ФАРМАКОНАДЗОРА НА ПРЕДПРИЯТИИ

Рассмотрим систему фармаконадзора на примере фармацевтического предприятия ЗАО «ЭКОлаб», являющегося современным промышленным предприятием с номенклатурой продукции, включающей более 300 наименований. Предприятие производит иммуноферментные тест-системы и другие медицинские диагностические наборы, применяемые *in vitro* при диагностике инфекционной и неинфекционной патологии, наборы для биохимических, гематологических, гистологических, микробиологических исследований, а также готовые лекарственные средства наиболее массового спроса.

Отдел фармаконадзора на предприятии

С 2015 года на предприятии создан и эффективно работает отдел фармаконадзора.

Основными задачами отдела являются:

1. Изучение безопасности зарегистрированных ЛС (лекарственных средств) в условиях применения на большой популяции людей.
2. Выявление использования ЛС по неизученным и неразрешенным показаниям.
3. Выявление злоупотребления ЛС.
4. Выявление фальсифицированных и недоброкачественных ЛС.
5. Выявление предрасположенности пациентов к возникновению нежелательных действий ЛС.
6. Распространение получаемых в ходе мониторинга данных через специализированные и не специализированные средства массовой информации.

Стандарт системы фармаконадзора включает в себя ряд процедур и объединяет воедино части мастер-файла системы фармаконадзора (МФСФ): работа и управление сигналами о нежелательных реакциях, информирование по безопасности, система управления рисками, аудит и инспектирование системы.

Особенности получения и работы с данными по безопасности лекарственных средств

Для реализации основной функции отдела фармаконадзора предприятия ЗАО «ЭКОлаб» сотрудники осуществляют мониторинг всех случаев побочных действий, не указанных в инструкции по применению лекарственного препарата, серьезных нежелательных реакций, непредвиденных нежелательных реакций при применении лекарственных препаратов, об особенностях взаимодействия лекарственных препаратов с другими лекарственными препаратами, привлекая врачей всех учреждений здравоохранения независимо от подчинения и форм собственности и производителей/заявителей (или их представителей). Сбор данных должен быть максимально доступным и малозатратным. Для этого регулярно (ежеквартально) рассылаются работникам здравоохранения, к которым поступила продукция компании, карты-извещения в электронном и бумажном виде с вопросами. Для оперативного сбора информации простыми и недорогими средствами являются телефон, факс, электронная почта и Интернет. Эффективным средством является рассылка карт-извещений с оплаченными почтовыми расходами.

Форма извещения является универсальной и подразумевает получение информации, достаточной для верификации сообщения и установления причинно-следственной связи.

К индикаторам выполнения процессов, которые используются для постоянного мониторинга надлежащего выполнения задач по фармаконадзору, относятся следующие.

1. Внесение информации обо всех выявленных случаях побочного действия лекарственных средств в базу данных АИС-Росдравнадзор-Фармаконадзор и в базу данных ЗАО «ЭКОлаб».

Необходимо предоставлять информацию в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения (Росдравнадзор) о зарегистрированных случаях нежелательных реакций лекарственных средств о:

- серьезных нежелательных реакциях с летальным исходом или угрозой жизни, в срок, не превышающий 3 рабочих дней;
 - остальных серьезных нежелательных реакциях на лекарственные препараты; случаях передачи инфекционного заболевания через лекарственный препарат; случаях отсутствия заявленной эффективности лекарственных препаратов, применяемых при заболеваниях, представляющих угрозу для жизни человека, вакцин для профилактики инфекционных заболеваний, лекарственных препаратов для предотвращения беременности, когда отсутствие клинического эффекта не вызвано индивидуальными особенностями пациента и (или) спецификой его заболевания; нежелательных реакциях, возникших вследствие злоупотребления препаратом, в случаях умышленной передозировки лекарственного препарата, при воздействии, связанном с профессиональной деятельностью, или в случаях использования лекарственного препарата в целях умышленного причинения вреда жизни и здоровью человека, в срок, не превышающий 15 календарных дней;
 - случаях индивидуальной непереносимости лекарственных средств, явившиеся основанием для выписки лекарственных препаратов по торговому наименованию в рамках программ льготного лекарственного обеспечения, в срок, не превышающий 5 рабочих дней.
2. Внесение информации обо всех выявленных случаях серьезных нежелательных явлениях при проведении клинических исследований в базу данных АИС-Росдравнадзор-Фармаконадзор и в базу данных ЗАО «ЭКОлаб».
 3. Оправка письмом информации обо всех выявленных случаях СНЯ (серьезных нежелательных явлениях) при проведении клинических исследований в Минздрав России.

4. Внесение в ПОБЛС* (Периодический отчет безопасности лекарственных средств) в базу данных АИС-Росздравнадзор-Фармаконадзор и в базу данных ЗАО «ЭКОлаб».

* Сроки предоставления:

- каждые 6 месяцев от даты первой регистрации в мире на протяжении первых 2 лет;
 - ежегодно на протяжении последующих 2 лет;
 - далее – каждые 3 года [2];
 - периодические отчеты предоставляются немедленно по запросу регуляторных органов.
5. Внесение РООБ (Периодический отчет по безопасности разрабатываемого (исследуемого) лекарственного препарата) в базу данных «Государственный реестр лекарственных средств» и базу данных ЗАО «ЭКОлаб» при первичной регистрации лекарственного средства для медицинского применения.

РООБ также предоставляется в Росздравнадзор ежегодно в срок, отсчитываемый от международной даты регистрации лекарственного препарата, а так же при получения запроса от контролирующего органа внеочередной РООБ должен быть предоставлен в течение 60 дней от даты получения запроса.

6. Внесение документа, содержащего результаты мониторинга эффективности и безопасности лекарственного препарата для медицинского применения, проводимого держателем или владельцем регистрационного удостоверения лекарственного препарата [3] в базу данных «Государственный реестр лекарственных средств» и базу данных ЗАО «ЭКОлаб» при подтверждении государственной регистрации лекарственного препарата.

Информационно сообщаем, что при появлении нежелательной реакции на лекарственное средство производства ЗАО «ЭКОлаб» необходимо направить извещение об этом в отдел фармаконадзора одним из представленных способов:

1. По электронной почте: ekolab-nto@mail.ru
2. По телефону: 8-(496)-433-17-45, доб. 151
3. Оставить отзыв на сайте <http://ekolab.ru/anketa/>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЗАО «ЭКОлаб» рассматривает деятельность в сфере фармаконадзора как приоритетную. Цель нашей деятельности по фармаконадзору – гарантия качества и безопасности лекарственных препаратов, предоставление полной и объективной информации о них врачам и пациентам, минимизация возможных рисков

при фармакотерапии. Эффективная работа системы фармаконадзора достигается при непрерывном мониторинговании индикаторов системы фармаконадзора, описанных в статье. При этом необходимо знать, что с законодательной точки зрения, несообщение или сокрытие сведений о данных по безопасности на лекарственные средства влечет наступление административной и уголовной ответственности в соответствии с законодательством Российской Федерации [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Policy Perspectives on Medicines – Pharmacovigilance: ensuring the safe use of medicines. URL: http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_EDM_2004.8.pdf (дата обращения 23.04.2018).
2. Приказ Росздравнадзора от 15.02.2017 № 1071 «Об утверждении Порядка осуществления фармаконадзора».
3. Приказ Минздрава РФ от 07.09.2016 № 682н «Об утверждении формы документа, содержащего результаты мониторинга эффективности и безопасности лекарственного препарата для медицинского применения, проводимого держателем или владельцем регистрационного удостоверения лекарственного препарата либо уполномоченным им юридическим лицом».
4. Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

ПОВЫСЬТЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ СВОЕГО ОБОРУДОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ ОСНАСТКИ И ФОРМАТНЫХ ЧАСТЕЙ ОТ MPA

Дозирующие насосы



Иглы для наполнения



Манифолды, гребенки



Укупорочные
направляющие трубки



Форсунки для наполнения



Форматные части



Шнеки





ПРИМЕНЕНИЕ ВОЗВРАТНО- ПОСТУПАТЕЛЬНЫХ ШЕЙКЕРОВ OHAUS ПРИ ОБРАБОТКЕ КРОВИ

Материал предоставлен
компанией OHAUS

ВВЕДЕНИЕ

Кровь – это важнейшая составляющая живого организма, которая отвечает за доставку кислорода и питательных веществ. Донорство крови становится все более распространенным видом благотворительности. Правительства многих стран мира уделяют его развитию большое внимание. Всемирная организация здравоохранения, Международный комитет Красного Креста, Международное общество Красного Полумесяца и Международное общество переливания крови высоко ценят донорство крови как проявление доброй воли.

Хранение образцов – критически важная задача для банка крови. Из-за особенностей крови ее качество напрямую зависит от подготовительного этапа обработки. Чтобы узнать больше о надлежащей обработке крови, мы побывали на станции переливания крови в Юго-Западном Китае, которая недавно начала использовать возвратно-поступательные шейкеры OHAUS.

ОБРАБОТКА КРОВИ

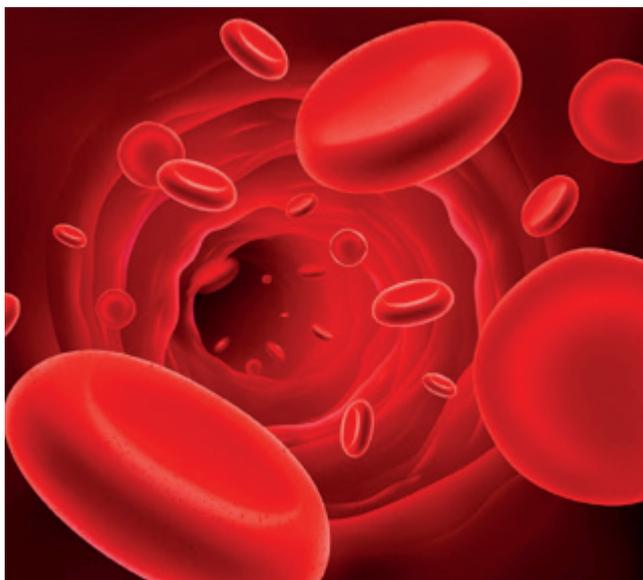
Обычно кровь хранится в банках крови медицинских учреждений или станций переливания и при необходимости используется для гемотрансфузий. Для обеспечения стабильного качества крови крайне важно применять надлежащие методы хранения.

Через некоторое время после забора кровь естественным образом сворачивается при комнатной температуре, поэтому для долгосрочного хранения ее необходимо обрабатывать.

Станция переливания, которую мы посетили, готовит кровь для больниц и отделений скорой помощи всего региона. Ее специалисты также проводят мониторинг качества запасов крови, научные исследования в области переливания и обучение персонала процедурам забора.

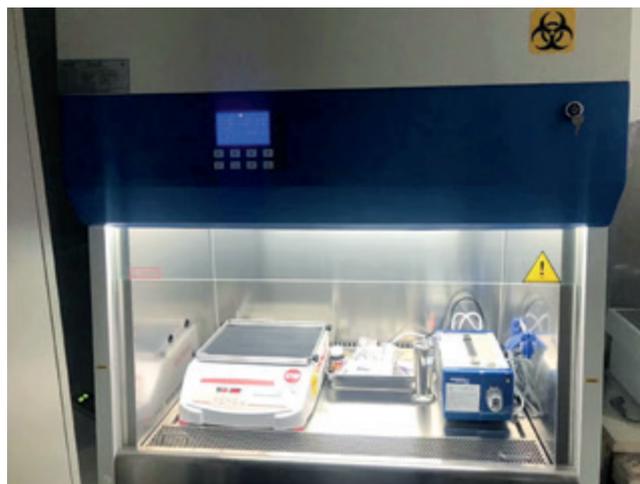


Система обработки крови охватывает несколько отделов. В отделе заготовки компонентов проводится подготовка различных компонентов крови. Главная задача этого этапа – сохранение кровяных пластинок (тромбоцитов). Чтобы предотвратить свертывание тромбоцитов в плазме, необходимо добавить к образцам диметилсульфоксид, предотвращающий замерзание, и равномерно смешать их в возвратно-поступательном шейкере в течение заданного времени с фиксированной скоростью (обычно 5 мин при скорости 100 об/мин). После смешивания кровь помещают в холодильник. Максимальный срок хранения составляет один год. Образцы необходимо использовать до истечения этого срока.



Для подготовки **обработанных глицерином эритроцитов** в лаборатории станции применяют вибрационные смесители. В некоторых случаях для этого требуется и возвратно-поступательный шейкер. После глицеролиза эритроциты обычно подвергают замораживанию. Поэтому данный метод обработки **красных кровяных телец** также является ключевой частью процесса их дальнейшей криоконсервации.

В настоящее время глицерин – наиболее распространенный криопротектор для человеческих эритроцитов. Он играет важную роль в защите красных кровяных телец от повреждений в процессе заморозки. Глицерин помогает выровнять внутреннее и наружное осмотическое давление эритроцитов и предотвратить гемолиз. Большинство станций переливания крови Китая проводит криоконсервацию эритроцитов **методом медленного замораживания при низких температурах**. При использовании этого метода конечная концентрация защитного раствора на основе глицерина после его смешивания с эритроцитами составляет 40%. Полученная смесь мо-



жет храниться при температуре ниже $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение десяти лет [1].

При добавлении криозащитного вещества кровь необходимо равномерно и непрерывно перемешивать с постоянной скоростью. Прежний метод перемешивания, который использовался на станции переливания, оказался неэффективным: процесс был недостаточно стабильным и плохо управляемым, а образцы часто свертывались.

Именно поэтому учреждение перешло на цифровые возвратно-поступательные шейкеры ОНАУС. Специалисты станции смогли добиться точности и воспроизводимости результатов обработки за счет постоянного и единообразного встряхивания образцов крови. Качество этого процесса обеспечивает «мозговой центр» прибора – микропроцессорный контроллер и датчик веса.

Особенности конструкции микропроцессора позволяют наращивать скорость до целевого значения медленно и постепенно, чтобы предотвратить проливы открытых образцов. Прибор также сохраняет и отображает последнее задание – с этой контрольной точки можно продолжить работу после его выключения. Чувствительный датчик веса фиксирует дисбаланс и автоматически снижает скорость работы шейкера для защиты образцов. Использование таких приборов помогло еще больше автоматизировать работу лабораторного оборудования, а также уменьшить потребность в ручных операциях и снизить издержки.

ПРЕИМУЩЕСТВА ВОЗВРАТНО-ПОСТУПАТЕЛЬНЫХ ШЕЙКЕРОВ ОНАУС

Кроме микропроцессора и датчика веса, возвратно-поступательные шейкеры ОНАУС обладают набором интеллектуальных и удобных функций. Благодаря им прибор идеально подходит для использования на станциях переливания крови.

- **Тройная эксцентриковая передача**

Несмазываемые шарикоподшипники и не требующий технического обслуживания бесколлекторный двигатель постоянного тока обеспечивают надежную работу в непрерывном режиме.

- **ЖК-дисплей**

Сенсорное управление с отдельными ЖК-дисплеями для отображения скорости и времени позволяют оператору видеть все установки одновременно. Пользователь может задать временной предел работы с помощью программируемого таймера. Когда обратный отсчет времени достигнет нуля, прибор автоматически выключится.

- **Эксплуатация в экстремальных условиях**

Шейкер прекрасно работает внутри морозильных камер, в инкубаторах или средах с неконденсируемым диоксидом углерода при температуре от -10 до $+60$ °C и влажности до 80%.

- **Удобная передача данных**

Возвратно-поступательный шейкер OHAUS оборудован интерфейсом RS-232 для записи данных и управления прибором.



Все сотрудники станции переливания крови очень довольны работой с шейкерами OHAUS: «По сравнению с оборудованием других производителей, которым мы пользовались раньше, возвратно-поступательные шейкеры OHAUS из США – более мощные и простые в использовании приборы. Они гарантируют необходимую нам стабильность и управляемость. Кроме того, благодаря шейкеру OHAUS мы сумели добиться единообразного качества при смешивании образцов крови – ни одного случая метаморфизма! Этот прибор помог нашей станции существенно повысить эффективность обработки крови. Шейкеры OHAUS действительно превосходный продукт с отличной



рентабельностью. Мы планируем установить лабораторные приборы OHAUS в других отделах подготовки крови».

ЛИТЕРАТУРА

1. L. Yancheng. Crucial operation steps affecting the quality in preparation of «Glycerinated red blood cells» // Clinical Medicine of China. 2015.



Федеральная сеть сервисных центров «Фармконтракт»

В рамках клиентского сервиса Вы получаете следующий комплекс услуг по техническому обслуживанию оборудования ведущих мировых производителей:



Инсталляция, IQ/OQ/PQ квалификационные работы и калибровка оборудования в соответствии с требованиями нормативов USP, FIP и GMP



Составление досье на оборудование



Сервисное обслуживание: настройка, поверка и калибровка, валидация, аттестация и идентификация оборудования



Обучение персонала работе на новых моделях оборудования, правилам текущего ремонта и обслуживания



Разработка методик анализа и их установка на конкретную модель прибора заказчика



Метрологическое обслуживание средств измерений



Гарантийное и пост гарантийное обслуживание оборудования от сертифицированных сервисных инженеров



Валидация чистых помещений



«Фармконтракт Сервис» - авторизованный сервисный центр



РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ



Всегда в наличии всегда расходные материалы и запчасти для оборудования, задействованного в процессах:

- анализа и испытаний при создании, производстве и контроле качества фармацевтических и ветеринарных препаратов;
- диагностических и экспертных исследований в области клинической и судебной медицины, токсикологического и экологического анализа



СВЕРХЧИСТАЯ ВОДА КАК КОМПОНЕНТ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИЗМЕРЕНИЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

АВТОРЫ

С.П. Вихерт,

Институт экспериментальной
медицины Общества Макса
Планка, Гёттинген (Германия),
в настоящее время работает
в Systasy Bioscience GmbH,
Мюнхен (Германия)

Э.Хербиг,

Sartorius Lab Instruments
GmbH & co. KG, Гёттинген,
Германия

М.К. Вер,

Институт экспериментальной
медицины Общества Макса
Планка, Гёттинген (Германия),
в настоящее время работает
в Systasy Bioscience GmbH,
Мюнхен (Германия)

АННОТАЦИЯ

Сверхчистая вода используется в биотехнологии для решения таких задач молекулярной и клеточной биологии, как, например, постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР). Кроме того, сверхчистая вода применяется в качестве компонента мультипараметрических цитологических анализов. Эти анализы, которые называются EXtassays и используются в исследованиях биологически активных веществ, основываются на генетических сенсорах, отбираемых молекулярными репортерами со штрихкодом и позволяющих выполнять всеобъемлющий анализ внутриклеточных сигналов. Эти специфические анализы комбинируются с технологией высокопроизводительного секвенирования «Секвенирование нового поколения» (СНП), благодаря чему в процессе одного измерения можно получить обширные наборы данных. В ходе одного эксперимента был исследован дифференциальный ответный сигнал, вызванный специфическим стимулом (доменом, подобным эпидермальному фактору роста), по отношению к стимулу широкого действия [форбол-12-миристат-13-ацетат (ФМА) и сыворотка]. Клетки, стимулированные доменом, подобным эпидермальному фактору роста, проявили так называемую реакцию генов раннего реагирования, в то время как ФМА и сыворотка повысили активность сигнальных путей для иммунного ответа. Добавление препарата «Лапатиниб» привело к полному подавлению сигналов, подаваемых доменом, подобным эпидермальному фактору роста, в то время как ответы, индуцированные ФМА/сывороткой, были заторможены лишь частично. Сверхчистая вода была с успехом использована в многочисленных высокочувствительных экспериментах, например при амплификации генов-репортеров со штрихкодом посредством ПЦР и СНП. Благодаря этому она может без проблем использоваться в молекулярно-биологических работах, требующих высокого качества воды.

ВВЕДЕНИЕ

В биомедицинских фундаментальных исследованиях биологически активных веществ, в том числе важных с точки зрения фармацевтики, все чаще эксперименты на клетках комбинируют с мультипараметрическими методами измерений для того, чтобы получить возможность еще глубже изучить чрезвычайно сложные процессы протекания заболеваний и воздействия веществ. Эти методы включают в себя методы молекулярной и клеточной биологии, которым в качестве основы требуется опять-таки сверхчистая вода, как, например, при полимеразной цепной реакции или культивировании клеток.

При исследованиях на клетках определяют внутриклеточные процессы до или после добавления вещества, при этом устанавливают главным образом относительные изменения определенных классов молекул [в том числе информационной РНК (иРНК), микроРНК, протеинов]. Непосредственный анализ действия и функции молекул, важных с биологической точки зрения, например у веществ с химико-медицинским механизмом действия и антител, на предмет определенных внутриклеточных процессов может быть проведен только при очень высоких материальных затратах и чрезвычайно высокой чистоте используемых растворов (в том числе воды). Поэтому мультипараметрические методы измерений все чаще выступают на передний план.

МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ

Мультипараметрические методы измерений позволяют выполнять одновременный анализ реакции большого количества внутриклеточных целевых молекул (так называемых молекул-мишеней) на введение биологически активных веществ и благодаря этому составить профиль их действия на клеточном уровне. Такие всеобъемлющие и трудоемкие анализы необходимы, в частности, чтобы подтвердить желаемое медицинское действие и определить нежелательные побочные эффекты. Они имеют значение также и для освоения новых областей применения уже разрешенных медикаментов. Кроме того, получение в результате мультипараметрического метода измерений большого количества данных сочетается с огромными преимуществами в отношении затрат, которые могут быть реализованы на практике, например с помощью технологии EXTassay [1].

Эта технология основывается на молекулярных репортерах со штрихкодом и позволяет применить принципиально новые и проводимые в высокой степени параллельно измерения (EXT означает *Expressed Sequence Tag = маркер экспрессируемой последовательности*; EXT – это короткие синтетические молекулы РНК со специфически кодированной последовательностью длиной 49 пар нуклеотидов). Так, эта технология позволяет получить несколько миллионов точек

данных за одно измерение, поскольку отдельные внутриклеточные события, связанные с молекулярными штрихкодами, могут быть проанализированы с помощью секвенирования [1] (рисунок 1А). Классический анализ по репортеру позволяет измерять только одну или две точки данных за один сеанс, в связи с чем для получения многих точек данных используют автоматику. В противоположность этому специфическая система анализа основана на репортерных молекулах, так называемых EXT-репортерах или EXT-штрихкодах, несущих в себе адреса молекул и тем самым позволяющих сделать заключение о месте и времени их экспрессии. С помощью этих штрихкодов можно одновременно идентифицировать и функционально отобразить многие различные внутриклеточные процессы, например активирование рецепторов и другие следующие за этим клеточные сигналы (рисунок 1В).

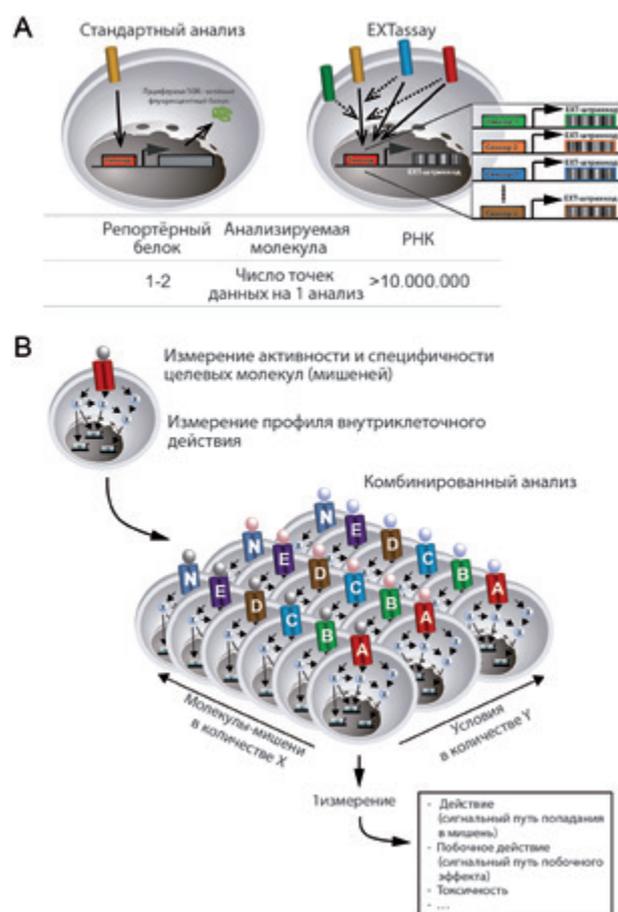


Рисунок 1. А) Специфические анализы позволяют одновременно исследовать различные виды деятельности клеток в процессе одного измерения. В отличие от классических анализов с использованием генов-репортеров в результате специфических анализов получают более 10 миллионов точек данных за один эксперимент.

В) Анализы отображают специфичность и профиль воздействия веществ на клетки. Профили действия различных молекул-мишеней в количестве X в ходе одного измерения одновременно регистрируются при различных условиях в количестве Y [Источник: все иллюстрации предоставлены авторами, если не указано иное]

При таком мультипараметрическом анализе в качестве системы отбора для функционального и количественного анализа различных внутриклеточных процессов используется технология высокопроизводительного секвенирования (СНП). Первоначально технология СНП применялась для секвенирования геномов [2].

Бурное развитие этой технологии привело к тому, что ее стали применять и в целях медицины, в частности для терапевтической диагностики и идентификации рисков генетических заболеваний. Далее представлены возможности применения сверхчистой воды на различных стадиях этого многоуровневого метода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Применение сверхчистой воды для мультипараметрического метода измерения

В различных процедурах одного эксперимента со специфическими репортерами сверхчистая вода играет решающую роль: так, например, стерилизованную в автоклаве сверхчистую воду использовали для увлажнения термостата для клеточных культур, чтобы обеспечить стерильное инкубирование клеток без микроорганизмов и спор. Для определения молекулярно-биологических параметров (например, концентрации ДНК и РНК) также использовалась сверхчистая вода.

Помимо этого, сверхчистая вода использовалась при подготовке проб к СНП, то есть при очистке EXT-репортеров с помощью комплекта для изоляции РНК, при записи к ДНК, а также при дальнейших шагах ПЦР, необходимых для амплификации репортерного материала для высокопроизводительного секвенирования. Сверхчистая вода использовалась также в заключительных процедурах СНП, проводимых с помощью устройства *Ion Torrent Personal Genome Machine*® (секвенатор PGM™) фирмы Life Technologies.

Сверхчистая вода, подготовленная для соответствующих процедур метода с помощью системы *arium*® pro VF (рисунок 2), была приготовлена способом, описанным в работе Нитцки и Хербига [3].

Клеточная культура

Культивирование клеток линии PC12-tet-OFF (PC12-OFF) (фирма Clontech) происходило в среде DMEM (концентрация глюкозы 1 г/л, Lonza) на пластинах, покрытых поли-L-лизином, в увлажненном сверхчистой водой воздушном инкубаторе при 37 °C и 5% CO₂. В среду были добавлены 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС), 5% лошадиной сыворотки (ЛС), 1% пенициллин-стрептомицина и 1% глутамакса (Invitrogen).



Рисунок 2. Современная система приготовления сверхчистой воды *arium*® pro VF [Источник: Sartorius Lab Instruments]

Трансфекция анализируемых репортерных векторов

Суспензия клеток линии PC12-OFF была трансфицирована репортерными векторами. Для этого клетки были трипсинизированы, гранулированы и ресуспендированы в среде DMEM (с добавлением лишь 1% ФБС) плотностью 106 клеток на 1 мл. Каждый из комплексов «ДНК – липофектамин» из 1 мкг ДНК и 4 мкл липофектамина 2000 (Invitrogen) добавляли в 100 мкл среды OptiMEM на 1,5x106 клеток. Спустя 20 мин инкубирования при комнатной температуре смесь соединяли с клеточной суспензией и инкубировали при 37 °C в течение 4 ч. Для удаления трансфекционных реактивов клетки один раз промыли средой DMEM (1% ФБС). Перед анализом клетки культивировали при идентичных условиях. Для анализа использовали 5 нг на 1 плазмиду ДНК и 1 EXT-репортерную конструкцию. Для каждого цис-регуляторного элемента было клонировано 3–5 репортерных конструкций с различными EXT.

Подготовка проб к секвенированию

Экстракция РНК

РНК была подготовлена с помощью набора RNeasy фирмы Qiagen, включая расщепление ДНКазой-1 в колонке согласно протоколу производителя. После очистки РНК пробы были преципитированы половиной объема 7,5 моля ацетата аммония (растворенного в сверхчистой воде) и 3 объемами 100-процентного этанола. Для синтеза кДНК использовали 1 мкг экстрагированной РНК, обратной транскриптазы Superscript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) и 120 пмоль случайных праймеров в нанометровом диапазоне. Чистоту РНК и возможные загрязнения ДНК проверяли средствами, не содержащими обратной транскриптазы (-RT).

Амплификация продуктов EXT-кДНК с помощью декодирующей ПЦР

Декодирующие ПЦР проводились с помощью полимеразы HotStarTag Plus, dNTP (оба препарата фирмы Qiagen) и сверхчистой воды в течение 30 циклов (цикл: 30 с при 95 °C, 30 с при 59 °C, 30 с при 72 °C; рисунок 3). Исходным материалом служила обратно транскрибированная кДНК. При негативном контроле (последней сборки) кДНК не использовалась.

Кодирующие ПЦР также проводились с помощью полимеразы HotStarTag Plus и с использованием сверхчистой воды, но в течение только 10 циклов (цикл: 30 с при 95 °С, 20 с при 58 °С, 20 с при 72 °С; рисунок 3). В качестве исходного материала брали по 1 мкл разбавленной в соотношении 1:10 пробы декодирующей ПЦР, при негативном контроле исходный материал не использовали. Все продукты ПЦР были визуализированы и проверены с помощью агарозного геля.



Рисунок 3. Контроль качества процедур ПЦР, амплифицирующих EXT. Агарозный гель для декодирующей ПЦР (А) и кодирующей ПЦР (В). В каждом случае последняя сборка указывает на негативный контроль со сверхчистой водой; в каждом примере видны праймер-димеры

Полупроводниковое секвенирование

Секвенирование репортерных молекул EXT проводили по технологии СНП с применением секвенатора (рисунок 4). Эта технология секвенирования основывается на последовательной детекции протонов, высвободившихся в процессе полимеризации ДНК. Когда к комплементарной ДНК цепи присоединяется одно из оснований (аденин, гуанин, цитозин или тимин), высвобождается протон, который детектируется ионными датчиками [4].



Рисунок 4. Ion Torrent Personal Genome Machine® – секвенатор PGM™ [Источник: лаборатория фирмы Sustasy Bioscience GmbH, Мюнхен]

Анализ результатов секвенирования

Для анализа данных секвенирования использовали отдельные инструменты на базе операционной системы UNIX из пакета FastX-Toolkit [5] (программа-конвертер FASTQ-to-FASTA и разделитель штрихкода FASTX). Присутствие и идентичность каждого маркера EXT определяли посредством комплекса программ

BLAST [6] на базе созданной самостоятельно библиотеки эталонов EXT, а идентификацию и количественную оценку EXT с дифференциальной экспрессией выполняли с помощью R-скриптов [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мультипараметрическая аналитическая платформа использовалась в сочетании с технологией СНП с применением сверхчистой воды для того, чтобы выполнить измерение множества последующих реакций, которые проявляются под воздействием: а) специфического стимула, б) стимула широкого действия либо с) после добавления специфического ингибитора. В этом случае клетки PC12 были трансфицированы 33 различными EXT-репортерами, которые в совокупности могут отобразить активность одиннадцати различных сигнальных путей. Для введения специфического стимула (а) был трансфицирован рецептор эпидермального фактора роста ERBB4. Рецептор ERBB4 играет роль в различных биологических процессах, в том числе в развитии сердца и функциональной дифференциации нейронов, а также в возникновении рака и таких психических заболеваний, как шизофрения [8, 9]. Рецептор ERBB4 был активирован лигандом «нейрегулин-1» или его биологически активной и растворимой частью – доменом, подобным эпидермальному фактору роста (EGFId). Эту активацию удалось отобразить с помощью мультипараметрического анализа [1, 10]. Активность рецептора ERBB, вызванная доменом EGFId, была специфическим образом блокирована ингибитором киназы ERBB, то есть препаратом «Лапатиниб» (с), который используется также для лечения рака. В качестве стимула широкого действия (б) избрали комбинацию из форбол-12-миристат-13-ацетата (ФМА) и сывороточной стимуляции.

Сверхчистая вода как компонент системы подготовки проб к секвенированию

Сверхчистая вода с успехом использовалась в ходе нескольких процедур пробоподготовки (рисунок 5). Она нашла применение, в частности, в молекулярно-биологических работах, например для ПЦР при подготовке проб (декодирующие и кодирующие ПЦР, рисунок 3), а также для секвенирования, выполняемого в секвенаторе PGM™ (рисунок 6). При этом, согласно руководству по эксплуатации секвенатора, для секвенирования требовалась вода высокого качества с удельным сопротивлением 18 МОм x см (см. руководство по эксплуатации секвенатора Ion Torrent [11]). При отсутствии такого качества воды надежность секвенирования не гарантируется.

Сверхчистая вода, успешно использованная для экспериментов, не имела детектируемого количества РНКазы и ДНКазы (концентрация РНКазы и ДНКазы была ниже предела обнаружения, равного 20 нг/мл и соответственно 80 нг/мл) и благодаря низкой концентрации общего органического углерода (<2 ppb) и

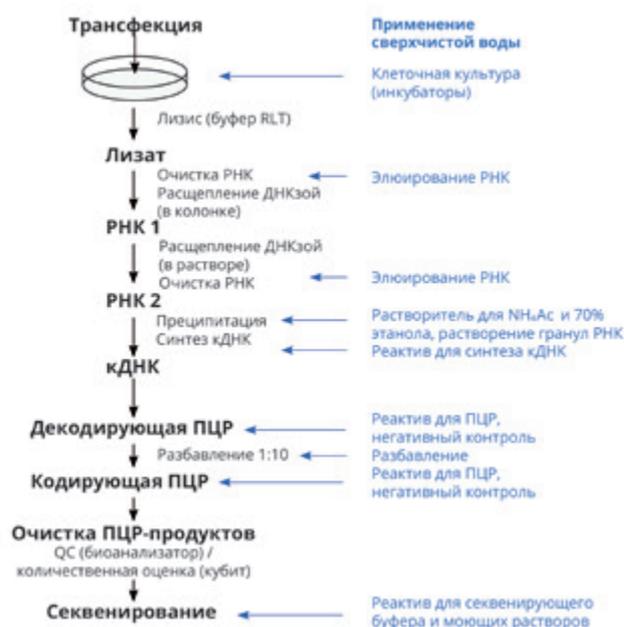


Рисунок 5. Процесс работы по подготовке проб к секвенированию; Использование сверхчистой воды в отдельных процедурах

удельному сопротивлению 18,2 МОм x см, приведенному к температуре 25 °С, обеспечила постоянное стабильное качество, необходимое для экспериментов.

Количественный и кинетический анализ внутриклеточной сигнальной активности

Количественный и кинетический анализ последующей сигнальной активности выявил дифференциальный образец активации, являющийся специфичным для соответствующего стимула (рисунок 7). Так,

например, в клетках, обработанных доменом, подобным эпидермальному фактору роста (EGFId), были в большей степени активированы гены раннего реагирования (это гены, которые активируются сразу после стимулирования и через каскады MAP-киназы, например EGR 1, EGR 2, FOS, FOSB и JUN [12]), в то время как сигнальные пути для стрессовых реакций (IL6, IL8 и NFkB) активированы не были (рисунок 7, столбцы 1–4). Клетки, обработанные EGFId и ингибитором «Лаплатиниб», демонстрируют почти полную инактивацию исследованных сигнальных путей (рисунок 7, столбцы 5–8). В клетках, обработанных ФМА/сывороткой, были в большей степени индуцированы стрессовые реакции (рисунок 7, столбцы 9–12), которые после обработки препаратом «Лаплатиниб» были ингибированы лишь частично (рисунок 7, столбцы 13–16, ср. точки данных, полученные через 2 часа после добавления препаратов).

Сверхчистая вода с успехом использовалась в рамках мультипараметрических анализов и последующих анализов по технологии СНП. Они показали, что действие биологически активных веществ на клеточном уровне может быть направлено на базе мультипараметрической платформы профилирования EXTassay. Это позволит больше узнать как о желательных, так и о нежелательных механизмах воздействия биологически активных веществ на клетки еще на ранних стадиях разработки лекарств и тем самым снизить риски убытков и уменьшить затраты на медицинские исследования биологически активных веществ.

Указанная здесь сверхчистая вода может успешно применяться в описанных выше биохимических, молекулярно-биологических и цитологических исследованиях и способствовать получению точных ре-



Рисунок 6. Контроль качества секвенирования с помощью секвенатора Ion PGM™.

А Плотность ISP (заряженных частиц в ионной сфере) – плотность зарядов заряженных пробой частиц ISP по цветной шкале. **В** Сводная таблица частиц ISP с информацией о плотности зарядов (заряд 87%, 9,84 млн «лунок»), о произошедшем до секвенирования обогащении заряженными последовательностями частиц ISP (обогащение 95%), количестве клональных ISP (97%), общей сумме полученных последовательностей (7,26 млн считанных последовательностей) и числе пригодных для анализа последовательностей (6 млн). **С** Информация о средней длине отдельных полученных последовательностей

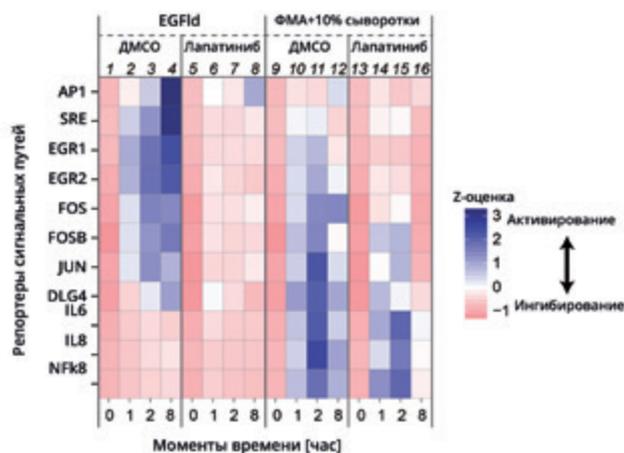


Рисунок 7. Количественный и кинетический анализ внутриклеточных сигнальных путей (AP 1, SRE, DLG4 обозначают точки соединения факторов транскрипции; пояснения к другим репортерам сигнальных путей см. в тексте) с помощью специфической технологии анализа. Активность сигнальных путей, вызванная специфическим стимулом – доменом, подобным эпидермальному фактору роста (EGFlid), – или стимулом широкого действия – форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА)/10% сыворотки – ингибируется ингибитором «Лапатиниб» в различной степени. Номера столбцов указаны курсивом

зультатов. Сверхчистая вода использовалась, помимо прочих случаев применения, для выполнения критических процедур подготовки проб для СНП с помощью ПЦР и последующего высокопроизводительного секвенирования (рисунки 3, 6). Проведение мультипараметрических анализов позволило идентифицировать интенсивную дифференциальную сигнальную реакцию между специфическим стимулом и стимулом широкого действия (рисунок 7).

Реакции секвенирования в особой степени требуют соблюдения высоких стандартов качества сверхчистой воды, которым она соответствует благодаря очень низкой концентрации общего органического углерода и поддержанию стабильности качества.

Помимо этого, сверхчистая вода лишена детектируемой нуклеазной активности (даже незначительная активность нуклеаз может нарушить протекание чувствительных молекулярно-биологических процессов, например ПЦР) и обладает постоянным удельным сопротивлением, равным 18,2 МОм х см.

Поэтому секвенирование с помощью PGM™, требующее постоянного качества воды с удельным сопротивлением 18,2 МОм х см (неопубликованные данные свидетельствуют о том, что вода с удельным сопротивлением менее 18,2 МОм х см не пригодна для биохимических и молекулярно-биологических работ, например для анализов по методу «вестерн-блот» и ПЦР), может успешно проводиться лишь с использованием сверхчистой воды. Для получения воспроизводимых результатов необходимо соблюдение всех указанных параметров качества сверхчистой воды.

В противоположность этому подготовленная вода с худшими качественными показателями, например с присутствием легких загрязнений, не может привести к получению удовлетворительных результатов. Поэтому водопроводная вода должна быть изначально полностью исключена, поскольку она содержит многие компоненты (соли, органические соединения, нуклеазы, микроорганизмы и свободную ДНК), которые к тому же могут сильно отличаться от региона к региону.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мультипараметрические анализы позволяют выполнить масштабное профилирование клеточных реакций и все шире используются на ранних этапах исследования биологически активных веществ, чтобы иметь возможность быстро и без больших затрат отличить желательное действие этих веществ от их побочных эффектов. Описанные в данной работе анализы, основанные на генетических сенсорах с молекулярными репортерами штрихкода, требуют наивысших стандартов качества используемых материалов. Это было с успехом продемонстрировано на примере сверхчистой воды, использованной для различных экспериментальных процедур при выполнении мультипараметрических анализов.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Botvinnik, SP. Wichert, TM. Fischer, MJ. Rossner. Integrated analysis of receptor activation and downstream signaling with EX-Tassays // *Nat Methods*. 2010. № 7(1). P. 74–80.
2. DC. Koboldt, KM. Steinberg, DE. Larson, RK. Wilson, ER. Mardis. The Next-Generation Sequencing Revolution and Its Impact on Genomics // *Cell*. 2013. № 155(1). P. 27–38.
3. F. Nitzki, E. Herbig. In situ Hybridisierung – Die Bedeutung von Reinstwasser für RNA Technologien // *GIT Labor-Fachzeitschrift*. 2013. № 57. P. 157–9.
4. N. Rusk. Torrents of sequence // *Nat Meth*. 2011. № 8(1). P. 44–44.
5. R.K. Patel, M. Jain. NGS QC Toolkit: a toolkit for quality control of next generation sequencing data // *PLoS ONE*. 2012. № 7(2). e30619.
6. S.F. Altschul, W. Gish, W. Miller, E.W. Myers, D.J. Lipman. Basic local alignment search tool // *J Mol Biol*. 1990. № 215(3). P. 403–410.
7. R. Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. – Vienna. 2012.
8. L. Mei, K-A. Nave. Neuregulin-ERBB Signaling in the Nervous System and Neuropsychiatric Diseases // *Neuron*. 2014. № 83(1). P. 27–49.
9. A. Citri, Y. Yarden. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006. № 7(7). P. 505–516.
10. M.C. Wehr, R. Laage, U. Bolz, T.M. Fischer, S. Grünwald, S. Scheek et al. Monitoring regulated protein-protein interactions using split TEV // *Nat Methods*. 2006. № 3(12). P. 985–993.
11. Life Technologies. Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2. URL: <https://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/4482006> (дата обращения 15.04.2015).
12. R. Avraham, Y. Yarden. Feedback regulation of EGFR signalling: decision making by early and delayed loops // *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011. № 12(2). P. 104–117.



ОДНОРАЗОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

АВТОРЫ

П.Л. Гнеденков,
специалист
по системам ферментации
и одноразовым технологиям
Sartorius, Россия

И.И. Рослов,
специалист
по технологиям фильтрации,
выделения и очистки,
Sartorius, Россия, к.х.н.

ВВЕДЕНИЕ

Одноразовые технологии появились на рынке промышленного оборудования в начале 1980-х, когда началось использование одноразовых фильтр-капсул небольшого размера. Несмотря на то, что технология гамма-стерилизации уже широко применялась для стерилизации шприцевых фильтров, первые фильтр-капсулы были автоклавируемыми, а первые капсулы с 10-дюймовыми фильтрами появились только в 1990. Параллельно с эволюцией фильтров проходила эволюция контейнеров: появившееся в 1980-х первые двухмерные мешки к середине 1990-х эволюционировали в 3-мерные контейнеры промышленных объемов, требующие специального внешнего каркаса для безопасной работы. Постепенное вхождение одноразовых систем в производственную практику породило новые требования, и следующим этапом стали одноразовые сборки для осуществления конкретных задач: оснащенные фильтрами, пробоотборниками и необходимым числом контейнеров магистрали, полностью покрывающие потребности определенных технологических операций. Большой толчок к развитию одноразовых технологий дало ужесточение требований к биофармацевтическому производству со стороны регулирующих органов и разработка систем асеп-



ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

тического соединения – асептических коннекторов и систем асептической сварки/запайки в начале 2000-х. Вскоре после этого на рынке появились первые одноразовые биореакторы и миксеры, что позволило строить на основе одноразовых технологий целые производственные цепочки. В это же время произошло слияние нескольких компаний – лидеров в своих областях. Компании Wave Biotech (Швейцария) (один из создателей одноразовых биореакторов), Stedim Systems (Франция) (один из первых изготовителей одноразовых мешков), часть компании B. Braun (занимающаяся промышленной автоматикой и ферментацией) и компания Sartorius (первый производитель мембранных фильтров) образовали в конечном счете компанию Sartorius Stedim Biotech, являющуюся частью концерна Sartorius AG. Появление в конце 2000-х одноразовых систем асептического соединения и систем тангенциальной фильтрации дополнило функциональные возможности одноразовых систем.

ОДНОРАЗОВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ

В настоящее время одноразовые системы применяются на всех этапах разработки и производства, причем на разных этапах решающими оказываются разные их преимущества. Так, на этапе начальной разработки процесса, в частности получения клеточных линий, используются микробиореакторы серии ambr с рабочим объемом 250 или 15 мл. Эти системы позволяют моделировать процессы, происходящие в больших реакторах, не требуя при этом боль-

ших объемов сред и используя одноразовые сосуды для культивирования. В результате не только снижаются затраты на каждый эксперимент, но и многократно увеличивается пропускная способность лаборатории, ведь на подготовку одноразового реактора к работе требуется всего несколько минут. Применение одноразовых реакторов на этапе разработки позволило не только ускорить разработки, поскольку биореакторы способны одновременно работать с 12, 24 или даже с 48 сосудами, но и многократно увеличить количество и качество получаемых данных. С использованием современных аналитических систем, например системы для планирования эксперимента MODDE или многофакторного анализа SIMCA, этот объем данных можно использовать для создания репрезентативной модели протекания процесса уже в самом начале исследований. Подобные модели не только помогают в процессе исследований и оптимизации процесса, но и служат основой обеспечения качества в производстве согласно концепции QbD (Quality by Design).

ПРОБЛЕМА ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ

По мере увеличения масштабов процесса к требованиям, касающимся скорости и себестоимости, добавляются требования к воспроизводимости экспериментов и контролю процесса. Проблема воспроизводимости при использовании одноразового оборудования обусловлена иными причинами, нежели



при использовании многоразового. В многоразовых биореакторах вариабельность в первую очередь обусловлена особенностями сборки, мойки и стерилизации. Одноразовая же система поставляется уже собранной, чистой и престерилизованной. С другой стороны, поскольку каждый раз сосуд для культивирования меняется на новый, первостепенное значение приобретает качество материала, из которого он изготовлен. В литературе уже были описаны подтвержденные случаи негативного влияния пленок, из которых изготовлены сосуды одноразовых реакторов, на рост и продуктивность клеток. Задача обеспечения качества материала была решена, например, в новой пленке FlexSafe от компании Sartorius. Этот материал является результатом работы специалистов-материаловедов и специалистов по культивированию клеточных линий. Поскольку при разработке использовалась концепция QbD, с помощью расширенной схемы контроля процесса производства удалось добиться полной воспроизводимости механических и химических свойств от партии к партии, что позволяет гарантировать постоянство результатов от партии к партии. Многочисленные работы по масштабированию процессов показали, что очень важной является возможность простого перехода от одного объема к другому и, если требуется, к многоразовым системам. Возможность такого перехода позволяет существенно сэкономить на этапе построения производства и экстраполировать на большие объемы весь набор экспериментальных данных, полученных в маломасштабном производстве. Для обеспечения подобной функциональности требуется системный подход при проектировании всех линеек биореакторов (экспериментальных и промышленных) и технология, позволяющая использовать одинаковые принципы построения для всех объемов. Такая технология хорошо известна и применяется повсеместно для построения многоразовых биореакторов. Однако в одноразовом исполнении она применяется лишь в линейке BIOSTAT STR. Эти ферментеры построены как полные аналоги традиционных, но в одноразовом исполнении, и позволяют не только легко переходить от одного объема к другому, но и проводить некоторые этапы исследований в традиционных системах, позволяющих устанавливать более широкий спектр датчиков и анализаторов.

По мере увеличения объемов производства и приближения к моменту коммерческого запуска на первый план начинают выходить экономические характеристики производственной линии – время ее постройки и капитальная стоимость. В этом отношении одноразовые технологии оказались вне конкуренции. Согласно литературным данным, экономия средств при закупке одноразовых линий по сравнению с традиционными составляет 40–45%, а экономия времени – до 70%. Все эти преимущества привели к тому, что на сегодняшний день порядка 70% новых биореакторов для культур клеток являются одноразовыми. Однако применение одноразовых технологий не ограничивается биореакторами. Одноразо-



вые системы могут использоваться на всех этапах, от приготовления сред до розлива конечного продукта.

ОДНОРАЗОВЫЕ ФИЛЬТРУЮЩИЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Что касается технологий фильтрации, выделения и очистки, то, как уже упоминалось выше, первыми представителями одноразовых технологий были одноразовые фильтрующие элементы. При этом на сегодняшний день разнообразие фильтрующих элементов в одноразовом исполнении настолько велико, что не составляет никакого труда подобрать оптимальный фильтр под задачу любой степени сложности с учетом всех особенностей конкретного процесса. При этом единство используемых при производстве фильтрующих элементов материалов и технологий позволяет избежать сложностей при масштабировании процесса фильтрации и осуществлять переход от производственного процесса на многоразовом оборудовании к работе на одноразовом оборудовании. Кроме того, возможность стерилизации одноразовых фильтрующих элементов как путем автоклавирования, так и гамма-облучения открывает безграничные возможности для включения фильтров в состав разнообразных одноразовых сборок. При этом на сегодняшний день в одноразовом исполнении представлена как классическая глубинная, стерилизующая и противовирусная фильтрация, так и тангенциальная фильтрация.

Среди всего многообразия одноразовых фильтрующих элементов особняком стоит такая новая технология динамической глубинной фильтрации, как Sartoclear Dynamics®. Суть данного метода заключается в непосредственном добавлении порошкообразного диатомита к культуральной жидкости и последующей фильтрации полученной смеси. Благодаря тому, что частицы диатомита выступают своего рода разделителями, препятствующими образованию плотной фильтрационной корки, данный метод характеризуется более высокой скоростью потока и емкостью по сравнению с классической глубинной фильтрацией с применением фильтр-картонов. Более

того, специалистам компании Sartorius Stedim Biotech удалось успешно решить задачу беспылевого внесения порошкообразного диатомита в культуральную жидкость и рационального сбора и удаления образующейся в процессе фильтрации фильтрационной корки. В результате этого технология Sartoclear Dynamics® была органично вписана в концепцию одноразовых технологий. Во многих случаях она позволяет уйти от использования многоразовых центрифуг или выступает в качестве альтернативы классической тупиковой фильтрации.

МЕМБРАННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Логическим продолжением фильтрующих элементов в одноразовом исполнении является такой метод выделения и очистки, как мембранная хроматография. Данная технология является альтернативой классической колоночной хроматографии. В процессе развития одноразовых технологий и все более широкого их внедрения в биофармацевтическую промышленность достаточно остро встал вопрос о подборе альтернативы многоразовым хроматографическим колонкам. Компания Sartorius Stedim Biotech посчитала более перспективными не попытки создания одноразовых хроматографических колонок, а разработки с использованием мембранных технологий. В результате этого были созданы мембранные адсорберы Sartobind®. Преимуществом данной технологии является высокая скорость процесса разделения и низкий расход буферных растворов. При этом благодаря одноразовому исполнению мембранных адсорберов процесс разделения стал больше похож на фильтрацию, чем на хроматографию. Использование мембранных адсорберов позволяет полностью уйти от таких операций, как наполнение, промывка и очистка колонки. Кроме того, отпала необходимость в валидации процесса очистки колонки. При этом количество доступных функциональных групп и диапазон имеющихся размеров мембранных адсорберов делает их полноценной заменой метода колоночной хроматографии. Одноразовые системы удаления вирусов – системы FlexAct VI, вирусные фильтры семейства Virosart и установки инактивации ультрафиолетом Uvivatec позволяют привести продукт в полное соответствие с требованиями современной



фармакопеи, а одноразовые сборки для машин розлива на основе системы Octoplus, разработанной совместно с компанией BOSH – лидером в области производства систем стерильного розлива, позволяют завершить производственную линию в одноразовом исполнении.

ГИБРИДНЫЕ СИСТЕМЫ

По мере того как одноразовые системы проникали в промышленность, возникали новые требования и задачи, которые должны были решать производители одноразового оборудования. Первой такой задачей стало создание гибридных систем. Гибридные системы – это участки производства, на которых часть оборудования является одноразовой, а часть изготовлена из нержавеющей стали. Основной проблемой создания таких систем являлось то, что обычно системы из нержавеющей стали стерилизуются паром на месте, в то время как одноразовые системы этот метод стерилизации обычно не выдерживают. Благодаря созданию технологий асептического соединения и отсоединения эта проблема была решена. Так, например, для подключения одноразового контейнера со средой к традиционному реактору используется стерилизуемый клапан SACOVA, который может быть автоклавирован вместе с асептическим коннектором Opta, что позволит после установки клапана и стерилизации на месте подключить одноразовую систему. Дальнейшее проникновение одноразовых технологий привело к тому, что эта проблема постепенно перестала быть первостепенной, поскольку появились полностью одноразовые решения для осуществления целых процессов. Создание таких систем стало основной задачей для поставщиков оборудования по мере того, как преимущества одноразовых систем становились все более очевидными. Однако разработка интегрированных систем оказалась не самой простой задачей и не все поставщики одноразового оборудования успешно с ней справились. Причина этого в том, что, помимо самих одноразовых контейнеров и соединительных шлангов, в интегрированные системы входит множество иных компонентов, зачастую требующих специальной разработки. Помимо этого, несмотря на то, что для конечного пользователя валидация одноразовых систем значительно проще, чем валидация традиционных, значительная часть задачи перекладывается на поставщика одноразового оборудования. В результате получается, что успешную разработку и производство сложных одноразовых систем могут вести только компании, имеющие большой опыт в области разработки и валидации оборудования и расходных материалов, такие как компания Sartorius Stedim Biotech. При этом становится возможной не только поставка самых современных вариантов одноразового оборудования и расходных материалов, но и комплексная поддержка специалистов в области получения и очистки биофармацевтических препаратов.



ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННОЙ МИКРОНИЗАЦИИ И ИЗОЛЯЦИИ

Материал предоставлен
компанией FPS

ВВЕДЕНИЕ

FPS является одним из мировых лидеров химической, фармацевтической и пищевой промышленности в области проектирования, изготовления и установки оборудования, предназначенного для микронизации и обеспечения высокой степени защиты и герметизации при производстве стерильных и/или высокоактивных АФИ. Компания предлагает полный ассортимент оборудования для микронизации порошков, полученных из материалов любого типа.

На всех этапах FPS гарантирует высокое качество продукции и поддержку: консультирование, проектирование, производство, тестирование, процедуры валидации, техническое и сервисное обслуживание выполняются в соответствии с требованиями cGMP в рамках системы качества, сертифицированной по стандарту ISO9001. Компания FPS производит мель-



ницы, в которых применяются различные технологии измельчения и микронизации: вихревые, петлевые, роторно-штифтовые мельницы и дробилки молоткового типа. Компания предлагает полный спектр оборудования для микронизации порошков, полученных из материалов любого вида. С первых этапов исследований, проводящихся на экспериментальных участках, и последующих операций по обработке материалов, выполняющихся на производственных предприятиях, машины и устройства FPS обеспечивают строгое соблюдение заданных спецификаций на каждом этапе технологического процесса независимо от объема серии.

Изоляторы FPS отвечают стандартам, разработанным для защиты конечных пользователей, а также учитывают конкретные требования, предъявляемые руководящими органами. При разработке изоляторов основной целью является сохранение полного производственно-технологического процесса. Специалисты FPS разрабатывают изолирующие системы и модули, предназначенные для различного применения в химической и фармацевтической отрасли. В частности, они используются для загрузки и выгрузки порошков, высушивания веществ до порошкообразного состояния, пробоотбора, перемалывания твердых веществ в порошок механическим и вихревым способом, наполнения емкостей жидкостью и порошком, таблетирования, дозирования, заключительной выгрузки и упаковки продукта, управления процессом и записи параметров, защиты окружающей среды / защиты оператора, а также обеспечения стерильных условий во время выполнения технологического процесса.

В современном испытательном и научно-исследовательском центре, находящемся в городе Фьоренцуола-д'Арда (провинция Пьяченца, Италия), имеется возможность краткосрочного или более продолжительного тестирования микронизационных установок, что позволяет клиентам компании проверить, подходит ли интересующее их оборудование под конкретные нужды. Центр, недавно расширенный и модернизированный, оснащен современными приборами и новейшим оборудованием, которое гарантирует надлежащую защиту продукции и оператора во время оптимизации и валидации.

ИНТЕГРИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОРОВ

В связи с растущим вниманием надзорных органов к вопросам защиты продукции, операторов и окружающей среды компания FPS предлагает собственные технические решения в области изоляции для химической и фармацевтической отрасли.

Появление новых высокоактивных и токсичных АФИ диктует необходимость создания систем, гарантирующих высокий уровень герметичности, полную безопасность и при этом ориентированных на потребности клиентов. FPS стремится решить данные задачи, предлагая полный модельный ряд изоляторов, предназначенных для различных областей применения, а также вытяжные шкафы с ламинарным потоком, системы герметизации, системы загрузки, всасывающие рукава и чистые помещения.





Изоляторы проектируются и создаются с учетом конкретных требований к технологическому процессу. Доступны разнообразные опции, которые проходят постоянную доработку. В настоящий момент компания FPS готова предложить различные типы изоляторов: для реакторов, применяющихся для синтеза, нутч-фильтр-сушилок, центробежных сушилок, систем измельчения и микронизации, криогенной технологии; для лабораторного применения взвешивания, линий по производству твердых дозированных препаратов для орального применения, а также для операций по упаковке; для выполнения двойной герметизации и т.д.

- Вытяжные шкафы с ламинарным потоком и модули с ламинарным потоком воздуха производства FPS обеспечивают в пределах замкнутого пространства высокое качество воздуха, которое удовлетворяет требованиям конечного потребителя.
- Что касается систем упаковки и выгрузки, оснащенных головками для продувки воздухом, они также доступны в конфигурации ATEX (для работы в потенциально взрывоопасной среде) и предназначены для интегрированных решений, которые соответствуют конкретным требованиям к технологическому процессу.
- Конструкцией всасывающих рукавов предусмотрено наличие воздухозаборников, расположенных рядом с источниками пыли; они универсальны, так как могут быть адаптированы к различным условиям применения и конфигурациям.

- Наконец, чистые зоны позволяют контролировать уровень загрязнения помещений, где происходит обработка фармацевтических продуктов, и обеспечивают защиту оператора и окружающей среды. Чистые зоны предлагаются в виде готовых комплексных решений, в которых уже есть перегородки, напольные покрытия, системы вентиляции, фильтрации и кондиционирования воздуха. Тем самым изначально гарантируется удовлетворение любых конкретных требований клиента.

НОВЫЙ ЦЕНТР ТЕСТИРОВАНИЯ И НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАЗРАБОТОК

Компания FPS обеспечивает для своих клиентов поддержку на этапе разработки проекта и после установки систем, помогая операторам во время монтажа и ввода оборудования в эксплуатацию. Также предлагается специальная подготовка, которая способствует дальнейшему развитию производства АФИ.

После реорганизации и расширения производственных площадей в городе Фьоренцуола-д'Арда руководство FPS решило выделить специальную зону для нового центра тестирования и научно-исследовательских разработок (около 200 м²). Три чистых помещения, соответствующих стандарту ISO8, используются для проведения краткосрочных и среднесрочных технических испытаний по микронизации. Можно тестировать как большие, так и небольшие серии продукции.

Центр оснащен современными приборами и новейшим оборудованием, которое гарантирует надлежащую защиту продукции и оператора во время оптимизации и валидации производства. Доступен широкий модельный ряд мельниц со специальными конфигурациями, которые могут применяться для особых испытаний. Это спиральные вихревые мельницы, петлевые мельницы (Q-Mills), роторно-штифтовые мельницы и молотковые дробилки.

FPS также предоставляет дополнительные услуги, такие как разделение компонентов, одновременная микронизация нескольких компонентов, просеивание, смешивание, криогенные операции, анализ распределения частиц.

Кроме того, для проведения технических испытаний высокоактивных веществ имеется специальный изолятор. Внутри этого изолятора можно использовать лабораторные вихревые мельницы вплоть до таких моделей, как Pilot Mill-6 и Pin Mill-100. В изоляторе установлен гравиметрический дозатор и система управления на базе ПЛК.

Предлагаемое в аренду оборудование может быть установлено для тестирования в производственных помещениях клиентов. Необходимую техническую поддержку оказывают специалисты FPS.

Мы задали несколько вопросов **Стефано Бутти (Stefano Butti)**, менеджеру по продажам компании FPS и специалисту по микронизации.

Какими техническими и конструктивными характеристиками обладают изолирующие системы FPS?

Изолирующие системы FPS разработаны в основном для использования в химической и фармацевтической промышленности. Поэтому они соответствуют самым строгим стандартам надлежащей производственной практики и производятся в соответствии с действующими нормами, регулирующими вопросы техники безопасности, а также аспекты экологической безопасности и безопасности продукта.

Очевидным является тот факт, что мы не ограничиваемся рамками действующих в настоящий момент нормативов и стандартов. В некоторых случаях их можно считать почти устаревшими, а мы всегда стремимся к инновациям и придерживаемся опережающей стратегии в разработке новых технических решений, которые могут стать ориентирами для рынка. Кроме того, нельзя сбрасывать со счета те наработки, которые мы приобретаем, выполняя специфичные требования конечных потребителей.

В целом изолирующие системы подразделяются на две большие подкатегории: установки для асептического использования и установки для работы с высокотоксичными АФИ. Другая категория включает сис-

темы с высокой степенью защиты для асептической обработки, требующие повышенного внимания и внедрения инновационных технологий для обеспечения соблюдения стандартов безопасности, действующих в отношении продукта и оператора.

Для лучшего понимания ваших методов технологических разработок не могли бы вы подробнее рассказать о том, какой подход к проектам вы используете?

Можно смело утверждать, что, начиная с офиса продаж, наши региональные менеджеры подготовлены и с технической, и с экономической точки зрения. Они обладают высоким уровнем знаний о применяемых процессах. И этот факт в сочетании с конкретным опытом в отношении изолирующих систем позволяет нам без задержек оказывать поддержку клиентам даже на такой деликатной стадии, как составление спецификации их требований. Здесь необходимо уточнение и определение деталей конструкции, которые часто имеют решающее значение для успешного функционирования изолирующей системы. Мы считаем, что это большое подспорье для постоянного повышения качества и достижения взаимного доверия как для новых, так и для постоянных клиентов.

После получения заказа ведение нового проекта поручается одному контактному лицу (руководителю проекта). Он отвечает за организацию постоянной связи с конечным потребителем и за решение всех технических вопросов. Все изолирующие системы, спроектированные специалистами FPS, полностью изготавливаются на нашей производственной площадке, включая общие и специализированные механические сборочные узлы, а также всю работу по электрической и автоматизированной части. Решение не распространять конструкционное и технологическое ноу-хау за пределы нашей компании было принято для того, чтобы гарантировать высокую степень гибкости и профессионализма в реагировании на все потребности клиентов в вопросе адаптации созданных систем к поставленным специфическим условиям.

Такие этапы, как механический монтаж и сборка, тоже проводятся на вашем предприятии. Почему?

Что касается собственно механического монтажа, мы пришли к выводу, что необходимо как можно большее количество всех важных операций производить на наших площадях. Это позволяет нам полностью контролировать такие фундаментальные аспекты, как качество материалов, качество и чистота сварных швов, финишная обработка внутренних и внешних поверхностей и все те конструкционные комплектующие, которые, по нашему мнению, позволяют компании удерживаться в авангарде данной отрасли.

Монтаж как механических, так и электроинструментальных узлов также полностью выполняется на наших сборочных площадках. В этом случае цель также заключается в том, чтобы каждая стадия технологического процесса была под контролем наших сотрудников, которые обладают глубоким знанием отрасли и пониманием реальных требований к обработке поверхностей и специфических стандартов.

Управляющая часть, полностью разработанная и протестированная специалистами нашей компании, представляет собой фазу завершающего испытания, в которой присутствует клиент. Участие клиента значительно упрощает данный процесс и позволяет более качественно проверить оборудование на соответствие окончательным требованиям.

На этом важном этапе мы обычно привлекаем, насколько это возможно, конечного потребителя. В некоторых случаях его отличное чутье и опыт позволяют нам окончательно доработать систему управления.

Должным завершением всей технологической цепочки, над которой трудились специалисты нашего предприятия, являются заключительные испытания, выполняемые в присутствии различных представителей клиентов (инженерия, производство, качество...). В ходе этого тестирования в полном объеме испытывается функциональность готового оборудования и проверяется документация на предмет соответствия спецификациям.

Однако FPS не ограничивается только лишь поставкой технологического оборудования...

Фактическим осуществлением всего комплекса обслуживания клиента, который мы любим называть полномасштабной поддержкой, у нас занимается целая команда специалистов. Она выполняет все необходимые действия по установке оборудования, его вводу в эксплуатацию, валидации и обучению персонала заказчика непосредственно на рабочем месте. Отношения с клиентом не заканчиваются после поставки системы, поскольку FPS также предлагает график технического обслуживания, за которым следит группа постпродажного обслуживания. Его целью является обеспечение техподдержки на протяжении всего срока службы оборудования.

Каждый день перед нами встают новые задачи, представляющие собой хороший стимул для достижения более высокого профессионального уровня, разработки инновационных технологий, применимых к нашей отрасли, и продолжения роста, который всегда являлся нашей отличительной чертой.

Можете ли вы поделиться информацией о тех видах продукции, которыми вы особенно гордитесь? Для каких сфер применения они предназначены?

Если взять, к примеру, последний период времени, я бы, конечно, хотел упомянуть некоторые проек-

ты, где мы занимались изготовлением изолирующих систем с высокой степенью защиты, в которые были интегрированы машины, предназначенные для обработки различных субстанций. В частности, на рынок высокозащищенного фармацевтического оборудования (с обеспечением содержания частиц в воздухе порядка нанограммов на кубический метр, а это предел обнаружения для используемых в настоящее время измерительных приборов, поэтому является эталонным в нашей отрасли) мы поставили системы, предназначенные для интеграции с небольшими технологическими машинами. Это, как правило, машины, используемые для исследований и разработок (для партий, объем которых составляет всего несколько грамм).

Вместе с этим мы также поставили экспериментальные системы Kilolabos, предназначенные для работы с материалами в объемах до нескольких килограммов. В этих системах, кроме повышенной степени герметичности, использованы некоторые технологии и решения для контроля, которые, по нашему мнению, на данный момент являются одними из самых передовых на рынке.

Другим примером только что завершенного проекта, которым мы особенно гордимся, является очень сложная система. В ней высокая степень герметичности и чистоты воздуха сочетается с асептикой. Это установка, где продукт обрабатывается в условиях асептики и высокой степени защиты от проникновения загрязняющих частиц, начиная с этапов фильтрации и сушки. Данные условия поддерживаются также и на этапах измельчения продукта, его микронизации и завершающей фасовки. Весь проект выполнялся нами как главным подрядчиком. Мы изготавливали и изоляторы, и остальные машины, предназначенные для обработки продукта. То, что эта непростая задача была выполнена успешно, безусловно, объясняется опытом, накопленным при выполнении подобных проектов, а также возможностью применения данного опыта, даже крайне рискованным образом, для дальнейшего улучшения того, что уже было сделано.

Ожидается ли что-нибудь новое в 2018 году?

В только что начавшемся году нас ожидают большие события. Компания FPS с гордостью объявляет об открытии своего торгового филиала в США. Он находится в городе Филадельфия, и это позволит нам улучшить качество сервисного обслуживания на очень важном рынке фармацевтической промышленности.

Модернизация производственных площадей в Фьоренцуола-д'Арда близка к завершению, и благодаря новым площадям FPS предоставит своим клиентам возможность принять участие в некоторых семинарах, посвященных проблемам микронизации и изолирующих систем.

Новое поколение лабораторных биореакторов

Minifors 2

UNBEATABLE IN ITS CLASS.

Лабораторный биореактор Minifors 2 пришел на смену Minifors, но как и его предшественник позволяет проводить культивирование бактерий (*E.coli*, *Pseudomonas* и др.), грибов (*Aspergillus*, *Streptomyces* и др.), дрожжей (*P. pastoris*, *Saccharomyces* и др.) и иных клеточных культур.



Отличительные особенности:

- Рабочий объем: 1,5, 3 и 6 л
- Скорость смесителя: 150 - 1600 об/мин
- Температура: от +5 до 60°C
- Полностью автоматизированная система одновременной подачи 2-х газов (воздух, смесь воздуха и кислорода, смесь воздуха и азота)
- 4 насоса, настроенные различными способами в зависимости от задачи

**Биореакторы Infors -
мощное решение для
ферментации!**

INFORS HT

АВТОМАТИЗИРОВАННОЕ ДОБАВЛЕНИЕ ЖИДКОСТЕЙ В КАЧАЛОЧНЫЕ КОЛБЫ

АВТОРЫ

**Доктор Т. Олман
(Dr. T. Allman),
доктор Н. Штихлинг
(Dr. N. Stichling),**

INFORS HT, Rittergasse 27, CH-4103
Bottmingen

**Д. Франк (D. Frank),
Й. Байер (J. Bayer),**
aquila biolabs GmbH,
Arnold-Sommerfeld-Ring 2, D-52499
Baesweiler

АННОТАЦИЯ

До сих пор контролируемое добавление жидкостей для подпитки биомассы и контроля pH, а также болюсное введение в качалочные колбы фагов или инокулянта можно было реализовать только при использовании специальных систем, обслуживание которых требовало больших затрат труда и времени. В таких системах одна из серьезных проблем состояла в необходимости подачи реагентов через длинные трубки, выходящие за пределы инкубационного блока. В случае установки нескольких таких блоков, соединенных между собой параллельно, использовать метод добавления необходимых жидкостей через внешнюю систему трубок становилось крайне затруднительно. С появлением системы введения жидкостей Liquid Injection System (LIS) от производителя Aquila Biolabs у компании INFORS HT появилась возможность предложить новое решение. Для него не требуются трубки, системе подачи подпитки и жидких реагентов можно устанавливать прямо на колбу и программным способом настраивать режим дозирования, изменять скорость и интервал подачи дозы. Опция беспроводной передачи данных позволяет связываться с программным обеспечением LIS для управления и сбора данных.

В этой статье рассматриваются особенности системы LIS как способа обеспечения сложного, высокоавтоматизированного и параллельного управления биопроцессом с использованием методологии «незамкнутого контура». В этих условиях нет измерительной обратной связи с целью снижения материальных затрат при работе с простыми культурами, помещаемыми в качалочные колбы. Это дает возможность не вкладывать много средств и времени в деятельность, связанную с планированием экспериментов (DoE), скринингом, анализом метаболизма и роста. В условиях закрытых периодических систем культивирования, созданных на основе качалочных колб, данные виды деятельности бывают очень ограниченными.

ВВЕДЕНИЕ

Культивирование в качалочных колбах – это рутинная работа во многих лабораториях. Процедура культивирования биомассы в качалочных колбах подтвердила свою надежность и применяется уже не одно десятилетие. Но при этом данный процесс не поддается доскональному контролю и управлению. Тем не менее при управлении по принципу незамкнутого контура (т.е. без наличия обратной связи и приема измеренных значений) процесс можно оптимизировать посредством автоматического введения жидкостей в зависимости от потребностей процесса.

Что добавлять и когда – два важных фактора наряду с задачей автоматизированного и асептического введения добавок в каждую отдельную качалочную колбу. Для параллельных экспериментов был бы полезен метод быстрой подготовки нескольких колб по заранее выбранным рецептам.

Необходимы различные стратегии подпитки, которые будут зависеть от того, какая добавка нужна и какой цели необходимо добиться. Предназначенный для использования рецепт должен предполагать максимальную гибкость. Необходимо учитывать время начала и окончания процесса, а также скорость введения жидкостей, шаги, однократное и повторяющееся болюсное введение добавок.

Общие типы жидких добавок:

- подпитки (например, сахара, аминокислоты, нуклеотиды);
- стимуляторы роста / индуцирующие агенты (например, изопропилтиогалактозид, спирты, ингибиторы);
- возбудители инфекции (например, вирусы);
- корректирующие реагенты (например, кислота, основание, антивспенивающий агент);
- биологические вещества (например, клетки, клеточные компоненты, малые молекулы);
- добавки (например, соли).

Общие знания процесса могут помочь оптимизировать результаты и способствовать лучшему пониманию проблем, возникающих в процессе контроля и сбора данных в режиме реального времени при культивировании большинства культур в качалочной колбе.

Наряду с другими преимуществами применения шейкеров существует ряд областей, где их применение незаменимо, например улучшение роста биомассы.

До настоящего времени не было в наличии доступного экономичного и эффективного комплексного решения, включающего в себя сосуды, аппаратуру для внесения добавок и управляющего программного обеспечения. Существовали сложные установки с системой гибких трубок и проводов, а сплошные блоки насосов представляли собой единственно возможный вариант для использования. Сохранять такую систему в незагрязненном состоянии в течение определенного периода времени было далеко не просто.

Для эффективного управления системой точного дозированного добавления жидкости зачастую не требуется применение замкнутого контура. Если биопроцесс понятен до мелочей, можно предугадать дальнейший ход его развития и производить добавление реагентов или субстратов согласно предварительно составленному расписанию.

Наиболее предпочтительной будет система, в которой нет трубок и проводов и которую можно сконфигурировать по индивидуальным требованиям. Также предпочтительным вариантом будет возможность использования реагентов в асептических контейнерах с подсоединяемой системой доставки, которая не сможет загрязнить содержимое колбы или быть загрязненной этим содержимым. В настоящее время имеется система LIS производства Aquila Biolabs. Она представляет собой экономичный и гибкий способ превращения качалочной колбы в идеальный вариант между микролункой небольшого объема и биореактором, который имеет широкое применение.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ТРЕБОВАНИЯХ

Основные критерии, которые необходимо учитывать при рассмотрении вопроса о том, как осуществить автоматическое добавление жидкости в одну или несколько качалочных колб, приведены в таблице 1.

Решением для простого автоматизированного добавления жидкости в качалочную колбу, предлагаемым компанией INFORS HT, является система LIS от производителя Aquila Biolabs. Это комплекс, который состоит из трех отдельных компонентов. Они могут использоваться практически повсеместно для культивирования животных и микробных клеток, повышения выхода биомассы, улучшения производительности и стабильности продукта. По существу, система LIS – это:

- стерильный одноразовый картридж, в котором содержится жидкость. Он выполнен в виде крышки, помещающейся сверху на каждую колбу. Выходное отверстие на дне картриджа позволяет жидкости попадать в качалочную колбу, то есть трубка не требуется;

- отдельный насос, который одновременно является модулем управления и системой подачи подпитки в колбу. Он помещается на картридж и отделяется от него воздушным фильтром для поддержания асептических условий;
- беспроводная передача данных между насосом и ПО, которая позволяет легко настраивать алгоритмы подачи подпитки и получать данные об объемах жидкостей, которые могут со временем меняться.

Таблица 1.

Общие требования к интегрированной системе автоматического добавления жидкости к культурам, выращиваемым в качалочных колбах

Требование	Спецификация
Упрощенный и неразрушающий способ установки	Процесс культивирования легко настраивается и поддерживается в непрерывном режиме, чтобы не допускать внезапного изменения температуры и влажности, а также минимизировать риск загрязнения.
Гибкость в применении	По сути, каждый организм, который можно культивировать в шейкере-инкубаторе, и любая жидкость, способствующая эффективному протеканию процесса, должны нормально работать и здесь.
Совместимость с большинством качалочных колб и настроек	Размер, тип, емкость и рабочий диапазон шейкера-инкубатора в рамках интегрированной системы, а также размер, тип и способ конфигурирования качалочных колб не должны становиться препятствием для автоматизированного добавления жидкости.
Возможность индивидуальной настройки конфигурации для каждой качалочной колбы	Возможность дозирования жидкостей с использованием различных методик и количеств в зависимости от применения.
Экономия времени за счет автоматизации, модульности и расширяемости	Возможность автоматизации позволяет наладить равномерно протекающий и эффективный процесс. Расширение системы создает условия для работы в режиме многозадачности при проведении параллельных экспериментов среднего масштаба.
Отсутствие отрицательного воздействия на биопроцесс	Схема и способ установки системы введения жидкости-добавки не препятствуют и не вносят ограничений в протекание биопроцесса, например скорость поглощения кислорода.
Параллельные процессы и комбинирование	Управление процессами в качалочной колбе по принципу незамкнутого контура допускает параллельное культивирование и в зависимости от результатов роста культуры можно вносить корректировки в режиме реального времени, одновременно выполняя сбор данных.
Экспорт данных, документирование и анализ информации с помощью программного обеспечения	Данные, касающиеся процесса, должны быть доступны и иметь поддержку в виде возможности построения графиков, архивирования и экспорта. С помощью этих опций можно превращать необработанные данные в значительную информацию.

Простой и неразрушающий способ установки

Стерильные одноразовые картриджи емкостью 25 мл поставляются в коробках по 50 штук. Они могут быть заполнены необходимой жидкой добавкой до объема, указанного пользователем. Картридж образует выпуклый колпачок, предназначенный для колбы с диаметром горловины 38 мм. Работа насоса предварительно программируется, затем он соединяется с картриджем. Для подачи жидкости применяется воздух. Стерильный фильтр является гарантией отсутствия прямого контакта между насосом и добавкой, таким образом обеспечивается защита от загрязнения. Дополнительные преимущества заключаются в том, что не требуется очистка и передача данных, полученных в LIS, из одного приложения в другое осуществляется очень просто. Кроме того, питание на насос подается от перезаряжаемого внутреннего аккумулятора, имеющего длительный срок службы. Он входит в комплект поставки. Благодаря этому установка и снятие насоса с колбы осуществляется так же просто, как и перемещение на другое место самих колб.

Для проводящихся параллельно экспериментов, требующих большого количества колб, наличие такого инструмента, как ПО, позволяет сначала программировать процесс на компьютере и конфигурировать каждую колбу отдельно, а затем готовую программу отправлять по беспроводному протоколу и запускать в работу. После настройки и запуска системы LIS у оператора не возникает необходимости вмешиваться в ее работу. Благодаря этому удается избежать колебания температуры, смешивания и оксигенации, связанных с запуском и остановкой шейкера-инкубатора.

Гибкость в применении и выборе режима работы

Система LIS может применяться в экспериментах, связанных с культивированием клеток микроорганизмов, млекопитающих и насекомых, благодаря оптимизации биомассы путем подпитки, стимулированию выработки белка и добавлению вирусов и фагов. В качестве реагента можно использовать большинство жидкостей, включая кислоты, основания, сахаросодержащие растворы и спирты. Примерный диапазон вводимых доз составляет от 50 микролитров в минуту (1 капля) до 1 мл в минуту в течение периода времени от нескольких минут до многих дней. Можно указать задержку, а также способ добавления, например повторное дозирование при болюсном введении, изменение скорости вливания или однократное введение дозы.

Совместимость с большинством качалочных колб и инкубационных блоков

Стандартные колбы (с длинной горловиной диаметром 38 мм, без обода) различного размера, встряхиваемые при различных скоростях (от 200 до

300 мин⁻¹) в зависимости от объема, наполненности (10–20% от общего объема) и с амплитудой перемешивания от 25 до 50 мм, имеют широкий диапазон применения. Вместе с системой LIS можно использовать обычные зажимы для колб из нержавеющей стали и адгезионный коврик «Sticky Stuff» от INFORS HT. При больших размерах колб, если нужно вводить дозу на небольшом расстоянии от поверхности жидкости, могут использоваться иглы разных размеров.

Возможность индивидуальной настройки конфигурации для каждой качалочной колбы

У насоса есть дисплей и система меню. Дисплеи встроены в каждый блок. И если требуется, можно выполнять настройки для каждой колбы отдельно (рисунок 2). Объемы, время дозирования, повторы и задержки выбираются пользователем. Навигация по меню осуществляется с помощью простой поворотной ручки. Для каждого насоса можно задать уникальное имя, что очень облегчает идентификацию насосов при беспроводном соединении с ПО для мониторинга и управления устройствами.

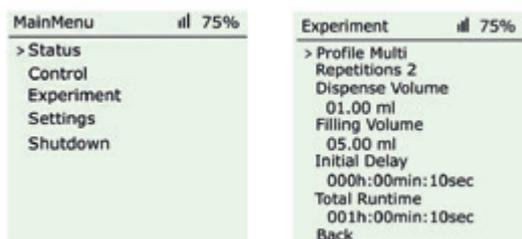


Рисунок 2. Опции основного меню и интерфейс многоступенчатой настройки процесса дозирования, выполняемого с помощью насоса

Экономия времени за счет автоматизации, модульности и расширяемости

Концепция LIS заключается в том, чтобы обеспечить автоматический ввод жидкости и при этом сохранить возможность создания уникальной конфи-

гурации, простоту в обращении и возможность параллельного выращивания нескольких культур. По сравнению с подготовкой небольшого биореактора (одноразового или многоразового использования) для проведения нескольких параллельных экспериментов подготовка нескольких колб для выполнения тех же задач экономит много времени.

Отсутствие отрицательного воздействия на биопроцесс

Картридж, используемый в системе LIS, имеет отверстие для выпуска газа из качалочной колбы. При правильном использовании картриджа материалы, из которых он изготовлен, не будут выщелачиваться или вызывать другие проблемы, такие как потеря частиц материала. Поскольку насос никогда не контактирует с вводимой в колбу жидкостью, риск контаминации полностью отсутствует и для обработки колб применения обычного метода асептики бывает вполне достаточно.

Параллелизация и комбинирование

До сих пор основным недостатком качалочных колб при проведении нескольких параллельных экспериментов являлось отсутствие контроля над состоянием процесса и нехватка информации. LIS представляет собой отличное решение, которое подходит для большинства потенциальных экспериментальных опций. Для многих процессов скрининга и оптимизации просто требуются данные о том, какие субстраты, реагенты или условия приобретают критический характер. Для них необходимо устанавливать соответствующие пределы, чтобы можно было достичь желаемой цели. Для экспериментов, в которых такие факторы, как субстраты, создание или поддержание определенного уровня pH, имеют чрезвычайное значение, LIS может дополнить линейку параметров, которые доступны оператору при использовании шейкера-инкубатора. В эту линейку параметров входит температура, скорость перемешивания/насыщения кислородом, осмолярность (влажность), уровень потребления CO₂

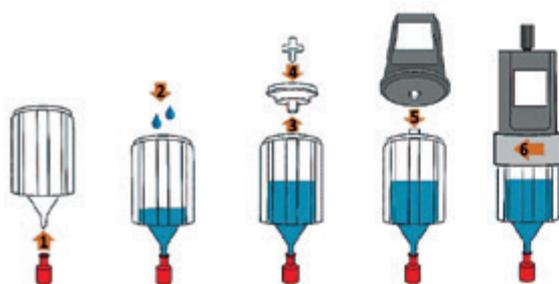


Рисунок 1. Шаги по установке системы ввода жидкости (LIS) и полной ее настройке

и интенсивность освещенности. Во многих случаях LIS также может использоваться вместе с системой онлайн-мониторинга биомассы CGQ с целью повышения уровня автоматизации и сбора данных.

Экспорт данных, документирование и анализ информации с помощью ПО

Программное обеспечение LIS (рисунок 3) обеспечивает следующие возможности:

- простое управление, настройку и мониторинг нескольких устройств и экспериментов;
- программирование сложных стратегий дозирования;
- современное ПО, построенное на базе браузера, с простым и понятным интерфейсом.

Данные, полученные во время процесса, могут иметь важное значение для подготовки документации при прохождении валидации и контроле качества.



Рисунок 3. Пример программного обеспечения LIS

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение качалочных колб для скрининга, планирования эксперимента (DOE) и оптимизации экспериментов ограничено ввиду сложностей, связанных с работой при больших скоростях, и наличия только одной точки доступа – через отверстие, находящееся сверху. Преимущества использования качалочных

колб, которые привносит LIS, коренным образом улучшают применимость данной системы для решения широкого круга задач. При этом необходимость использования небольших по объему биореакторов или отходит на второй план, или отпадает вовсе. В отличие от систем с микротитрационными планшетами из относительно небольшой колбы объемом, например, 500 мл можно получить до 100 мл культуры, которая будет использоваться в качестве посевного материала или для последующего анализа с помощью ВЭЖХ или других аналитических приборов.

Другой аспект заключается в том, что трудозатраты при работе с качалочными колбами с системой LIS и без нее отличаются незначительно. Отсутствие трубок и проводов в LIS – это еще не все, за счет чего можно снизить объем вкладываемого ручного труда. Вместе с системой LIS можно использовать любые организмы, добавки и методики культивирования. А это означает, что практически любой пользователь, который применяет в своей работе шейкер-инкубатор, может получить выгоду и от этой системы. Поскольку подготовка к работе проводится с каждой колбой отдельно, небольшую систему можно увеличивать по мере роста требований и расширения применяемых методик на уровне одной и той же культуры. Система LIS также представляет собой очень экономичный вариант. Подтверждением тому служат причины, изложенные выше. Можно смело утверждать, что LIS – это путь к улучшению результатов, на котором практически отсутствуют факторы риска.

Тема автоматизации в настоящее время является очень актуальной для многих научно-исследовательских и производственных областей, поскольку преимущества управления процессами, осуществляемого посредством программного обеспечения, становятся все более очевидными и доступными к применению. В области биотехнологии достигнут устойчивый прогресс. Однако и в настоящее время некоторые стандартные процессы по-прежнему выполняются вручную, так как считается, что автоматизировать их будет слишком сложно или данная задача не стоит инвестиций. Это особенно справедливо для культур в качалочных колбах, которые устанавливаются в шейкеры-инкубаторы. Шейкеры-инкубаторы являются лабораторными «рабочими лошадками» и зачастую до сих пор используются точно так же, как и 50 лет назад. Новые решения, призванные решать проблему автоматизации в такой среде, давно назрели и очень приветствуются. LIS – прекрасный пример того, что можно сделать и как можно самым идеальным образом автоматизировать процесс культивирования биомассы в качалочных колбах.

ИНТЕГРИРОВАННОЕ ИЗМЕРЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ БИОМАССЫ В КАЧАЛОЧНЫХ КОЛБАХ

АВТОРЫ

**Dr. T. Allman,
Dr. N. Stichling,**

INFORS HT, Rittergasse 27, CH-4103
Bottmingen

**K. Herzog,
D. Grünes,
J. Bayer,**

aquila biolabs GmbH,
Arnold-Sommerfeld-Ring 2, D-52499
Baesweiler

АННОТАЦИЯ

Популярность биореакторов небольшого объема по-прежнему велика, однако качалочная колба не перестает быть «черным ящиком» в том, что касается информации о процессах, происходящих во время культивирования в шейкере-инкубаторе. Непрерывное измерение параметров биомассы в качалочных колбах в режиме реального времени – это новый уровень развития биотехнологии. Это переход от системы культивирования, представляющей собой «черный ящик», к интегрированному технологическому решению, которое позволяет проводить работу с биомассой и с самого начала по-



лучать и обрабатывать разнообразные данные, касающиеся происходящих процессов, а также тщательно контролировать состояние среды в колбе.

Компания INFORS HT предлагает практичную интегрированную систему культивирования и мониторинга биомассы. Это комплекс, состоящий из инкубаторов INFORS HT и системы онлайн-измерения биомассы CGQ (Cell Growth Quantifier – измеритель роста клетки), представленной компанией aquila biolabs. Комплексная интегрированная система характеризуется отличной производительностью, имеет возможность расширения и предлагается пользователям по наилучшей цене. Основным упор в данной статье делается на микробные биопроцессы. Причиной тому служит не прекращающееся совершенствование технологии CGQ, которая в дальнейшем также будет применяться в процессах культивирования клеток млекопитающих.

ВВЕДЕНИЕ

Хотя биореакторы, имеющие малый объем, по-прежнему сохраняют свою популярность, качалочная колба так и остается своего рода «черным ящиком» в части получения информации о процессах, происходящих в шейкере-инкубаторе во время культивирования. В современных шейкерах тщательно контролируются такие параметры, как скорость перемешивания, температура и влажность. Однако большинство операторов до сих пор пользуются ручными методами отбора проб для выполнения необходимого контроля над процессами культивирования. Определение простых, но исключительно важных параметров, таких как состояние биомассы или скорость ее роста, требует вмешательства в процесс ферментации, снятия качалочных колб со своих мест для отбора проб и анализа каждого отдельного образца с помощью, например, настольного спектрофотометра. От выполнения этой утомительной рутинной процедуры можно отказаться, если воспользоваться современной технологией, которая дает возможность автоматически контролировать интересующие пользователя параметры. В течение последнего десятилетия наряду с автоматическим измерением уровня pH в качалочных колбах был также реализован мониторинг содержания pO_2/DO и CO_2 . Но при этом не было условий для получения информации о других очень важных сторонах процесса культивирования клеток – биомассе или других количественных показателях, которые определяют концентрацию клеток в культуральном бульоне. Казалось, что создать действительно интегрированное решение для осуществления непрерывного не инвазивного онлайн-измерения параметров биомассы пока не представляется возможным.

Основное предназначение интегрированной системы, представляемой INFORS HT, состоит в получении данных о состоянии биомассы. Таким образом, она представляет собой средство для открытия «черного ящика», которое в любой момент способно дать информацию о том, что происходит в шейкере во время культивирования. Поскольку измерение биомассы представляет собой ключевой момент для многих биопроцессов, использование этих измерений является весьма полезным.

Если ставится задача достижения конкретной плотности клеток, данные, получаемые в режиме реального времени, укажут, когда конкретное значение будет достигнуто. Таким образом, сбор биомассы осуществляется в оптимальный период времени.

Благодаря непрерывному потоку данных, передаваемых с высоким разрешением, пользователь получает доступ к кинетическим параметрам роста. Это дает гораздо более глубокое понимание процесса культивирования, чем пороговые значения. Можно легко идентифицировать экспоненциальную, стационарную и другие фазы роста, диауксический рост, ограничения содержания кислорода, ингибирующий эффект и даже морфологические изменения. Быстрый сбор данных и статистический анализ для сравнительных исследований полезен для оптимизации процессов, скрининга среды, токсикологических исследований, кинетических исследований роста, селекции мутантов и т.д.

Интеграция и автоматизация имеют неоспоримые преимущества для лабораторных рабочих процессов, анализа и валидации конкретных методик. И промышленные, и исследовательские лаборатории извлекают выгоду от увеличившейся скорости и эффективности работы, а также устранения рисков, связанных с процессом ручного отбора проб. Стабильность полученных результатов приводит к сокращению времени простоя, уменьшению количества повторных экспериментов.

Крайне важно, чтобы в системе, предназначенной для выращивания культур в качалочных колбах, применялась надежная и проверенная технология, которую можно адаптировать для широкого диапазона сред и других условий роста. В детекторах, работающих с отраженным светом, хорошо комбинируются такие характеристики, как точность, диапазон определяемых концентраций и нечувствительность к таким переменным факторам, как окраска среды. Использование интегрированной системы – единого целого, а не набора составляющих, гарантирует совместимость и квалифицированную техническую поддержку со стороны специалистов. Развитие биотехнологий имеет

тенденцию к увеличению доли интеграции и автоматизированному взаимодействию между разными типами оборудования. Применение такой системы с самого первого этапа биологического процесса является важным шагом вперед.

СИСТЕМНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ

Для того чтобы лучше понять преимущества применения интегрированной системы для измерения параметров биомассы, культивируемой в качалочных колбах, рассмотрим ряд ключевых преимуществ, которые важны практически для любого пользователя (таблица 1).

РЕШЕНИЕ ОТ INFORS HT

Реализация перечисленных функций в рамках единой комплексной и удобной для пользователя интегрированной системы для культивирования и мониторинга клеток возможна благодаря комбинации инкубаторов INFORS HT с измерительной онлайн-системой CGQ (Cell Growth Quantifier – измерение роста клеток) от aquila biolabs. Данный комплекс гарантирует высокую производительность и возможность расширения системы. Ниже приведено детальное описание системы.

Метод неинвазивного измерения

Мониторинг биомассы осуществляется группой датчиков, установленных на панели, которая помещена под качалочную колбу. Как показано на рисунке 1, светодиоды излучают свет, который проходит через дно шейкера в культуру. Отраженный клетками свет быстро и непрерывно измеряется матрицей детекторов. Отраженный сигнал тем выше, чем выше концентрация биомассы. Данный неинвазивный метод позволяет получать кривые роста с высоким разрешением (рисунок 3), при этом элиминируя побочные эффекты, связанные с остановкой и перезапуском шейкера-инкубатора, например изменение температуры или влажности, некачественное смешивание и ограничение кислорода.

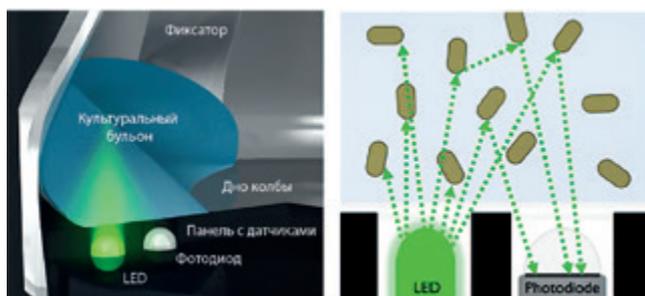


Рисунок 1. Мониторинг биомассы путем детектирования отраженного света – конфигурация системы CGQ

Таблица 1.

Перечень общих требований к интегрированной системе мониторинга биомассы в качалочных колбах

Требование	Описание
Метод неинвазивного измерения	Нет необходимости прерывания процесса культивирования и изъятия колб из инкубатора. <ul style="list-style-type: none"> • Отсутствие перепадов температуры и влажности. • Отсутствие плохого смешивания и недостаточности кислорода.
Непрерывное получение данных от нескольких систем одновременно в режиме реального времени	Непрерывное и своевременное получение данных сразу от нескольких систем позволяет в режиме реального времени контролировать и оценивать рост клеток в одновременно протекающих нескольких процессах культивирования.
Высокая точность и сглаживание помех	Обеспечение оптимальной точности для широкого диапазона применений. Используется система шумоподавления во время сбора данных, а также технология сглаживания при визуализации и анализе данных.
Подходит для работы с любой культурой	Возможность мониторинга любого штамма, который можно культивировать в шейкере-инкубаторе.
Подходит для любой качалочной колбы и инкубационной установки любого типа	Размер, тип, вместимость и рабочий диапазон шейкера-инкубатора в интегрированной системе, а также размер, тип и способ установки качалочных колб не являются препятствием для использования системы измерения параметров биомассы.
Данные о биопроцессе используются программой визуализации, архивирования и анализа	Любая система мониторинга хороша настолько, насколько хорошо она способна генерировать данные, непосредственно касающиеся процесса. Основные функции: составление схем и графиков, архивирование и экспорт, – должны быть расширены благодаря возможности превращать необработанные данные в полноценную информацию посредством статистического анализа и аннотирования.
Простая настройка и калибровка	Время имеет первостепенное значение, мониторинг биомассы необходимо быстро настроить, чтобы затем этот процесс можно было легко использовать на ежедневной основе. Данное требование подразумевает физическую обработку, калибровку и управление данными.
Корреляция с данными, полученными с помощью существующих методик	Дает возможность пользователям сопоставлять онлайн-данные о биомассе с существующими измерениями, например оптическую плотность в автоматном режиме при 600 нм или сухой вес клеток.

Непрерывное получение данных от нескольких параллельных систем в режиме реального времени

Данные о биомассе поступают на каждую пластину датчика непрерывно и с такой плотностью, которая позволяет проводить мониторинг каждой отдельной колбы в режиме реального времени. Это обеспечивает разрешение и качество данных, которые бесценны для любого рода применений, связанных с исследованиями кинетического роста. Потоки данных, поступающих с нескольких матриц с датчиками, объединены в центральную базовую станцию и перенаправляются на локальный компьютер по USB. До 16 панелей с датчиками могут работать от одной базовой станции, что позволяет параллельно осуществлять онлайн-мониторинг процесса культивирования в нескольких колбах. Благодаря интегрированной системе для измерения и культивирования биомассы INFORS HT впервые дает возможность пользователям отслеживать и получать данные для каждой отдельной колбы, установленной в шейкере-инкубаторе.

Высокая точность и сглаживание помех

Датчик отраженного света настроен таким образом, чтобы получать показания оптимальной точности в условиях постоянного перемешивания. В датчике используется уникальная технология сбора данных, а алгоритмы обработки данных основываются на подвыборках, которые отбираются на микросекундном уровне. Данные могут извлекаться из флуктуаций интенсивности, которые вызываются процессом встряхивания колб. Это негативно влияет на работу других суперсовременных датчиков, проявляясь в виде шума, который образовался в результате встряхивания. Для достижения максимальной чувствительности на качалочные колбы устанавливается затемняющая крышка. Она не дает окружающему свету оказывать влияние на измерение параметров отраженного света. Для чрезвычайно шумных условий, таких как качалочные колбы с разделителями сред, программное обеспечение CGQuant предоставляет инструменты для сглаживания данных и подавления шумов.

Подходит для работы с любой культурой

Интегрированная система мониторинга биомассы от INFORS HT способна обеспечить точные результаты для широкого ряда бактерий, дрожжей и грибов во многих различных питательных средах. В таблице 2 перечислены культуры, которые успешно контролируются. Конкретная информация, касающаяся сред и микроорганизмов, а также примеры кривых роста доступны по запросу.

Подходит для любой качалочной колбы и инкубационной установки любого типа

Используя один тип пластин с датчиками и набор универсальных адаптеров (рисунок 2), система мониторинга биомассы может применяться для колб общим объемом от 100 до 5000 мл. Колбы могут быть одноразовыми или изготовленными из стекла. Для фиксации колб в надлежащем положении могут использоваться стандартные зажимы из нержавеющей стали или адгезионный коврик Sticky Stuff от INFORS HT. Датчик биомассы был оптимизирован для условий с высоким содержанием кислорода при объемах заполнения от 5 до 15%. Тем не менее, даже более низкие уровни наполнения, а также объемы наполнения свыше 20% могут контролироваться в условиях некоторого ухудшения чувствительности. Мониторинг состояния биомассы можно проводить при любой скорости перемешивания. Также имеются зажимы из нержавеющей стали для фиксации колб. В тех случаях, когда отбор проб является обязательным требованием, очень полезной оказывается функция синхронизации перемешивания, при которой автоматически приостанавливается измерение параметров биомассы, как только открывается шейкер-инкубатор.

Данные о биопроцессе используются программой визуализации, архивирования и анализа

Данные биомассы, полученные от одной или нескольких колб, передаются с базовой станции, находящейся в шейкере-инкубаторе, на компьютер под



Рисунок 2. С помощью одной пластины с датчиками CGQ можно производить мониторинг качалочных колб любого типа при использовании подходящего универсального адаптера

управлением Windows, на котором работает программа CGQuant. Центральное программное обеспечение берет на себя функции, связанные с контролем изменений, построением графиков и диаграмм в режиме реального времени. Оно сопоставляет данные, выполняет статистический анализ репликатов, составляет аннотации, архивирует и экспортирует данные. Пользователи интегрированной системы мониторинга состояния биомассы от INFORS HT получают доступ к набору инструментов, который позволяет эффективно управлять процессом, идентифицировать значимые события, имеющие отношение к биопроцессу, выполнять подробный анализ данных и генерировать логически обоснованные данные, как это требуется в рамках современных требований к моделированию эксперимента.

Таблица 2.

Организмы, культивируемые с использованием интегрированной системы мониторинга биомассы INFORS HT

Тип клетки	Микроорганизмы
Бактерии	<i>Escherichia coli</i> , <i>Corynebacterium glutamicum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Streptomyces venezuelae</i> , <i>Vibrio natriegens</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , <i>Chromobacterium violaceum</i> , <i>Acetobacterium woodii</i> , <i>Clostridium acetobutylicum</i> , <i>Clostridium ljungdahlii</i> , <i>Prevotella copri</i> и т.д.
Архебактерии	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i> , <i>Haloferax volcanii</i>
Грибки / Дрожжи	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Pichia pastoris</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Hansenula polymorpha</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Ustilago maydis</i>
Водоросли / растительные клетки	<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nicotina tabacum</i> BY-2

Простая настройка и калибровка

Физическая установка компонентов системы в шейкере-инкубаторе выполняется быстро и легко. После установки пластины с датчиками можно использовать колбы разного размера, просто заменяя адап-

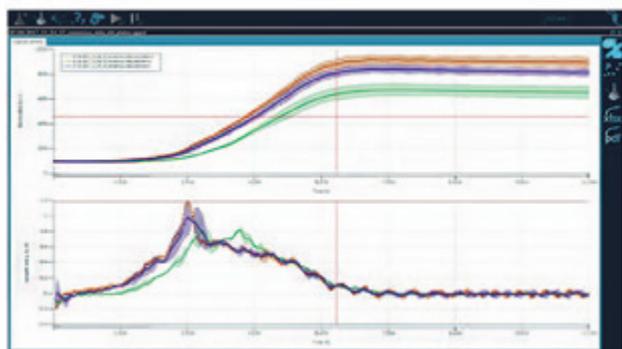


Рисунок 3. CGQuant и CGQ как компоненты датчика биомассы в интегрированной системе от компании INFORS HT, предназначенной для мониторинга биомассы в качалочных колбах

теры. Система подготовлена для подключения до 8 пластин с датчиками. Имеется альтернативный вариант хаба, с помощью которого можно увеличить количество пластин до 16. Кабель подключается от каждой пластины с датчиками к концентратору, а другой кабель идет от концентратора к компьютеру с программой CGQuant. Затем программное обеспечение обрабатывает экспериментальную конфигурацию, визуализирует данные и дает аннотацию. Данные могут быть экспортированы в виде файлов изображений или полноценных отчетов, выполненных в формате XLSX или PDF для дальнейшего использования и архивирования. При калибровке применяется уже знакомый метод создания стандартной кривой, и весь процесс выполняется с помощью программного обеспечения. Данные калибровки могут быть сохранены для повторного использования, а собранные ранее наборы данных могут быть повторно откалиброваны с помощью созданных заново файлов калибровки.

Корреляция с данными, полученными с помощью существующих методик

Возможно прямое сравнение с офлайн-данными измерения оптической плотности с помощью внешнего спектрофотометра, и программное обеспечение предназначено специально для сбора калибровочных данных, которые позволяют производить расчет параметров биомассы в автономном режиме, основываясь на данных, полученных при измерении отраженного света. Конечно же, необходимо учитывать те проблемы, с которыми приходится сталкиваться на практике при выполнении измерений ручным способом. Использование различных микроорганизмов, сред и динамических условий для жидкостей требуют отдельных калибровочных файлов, так как упомянутые выше факторы влияют на эффективность отражения света в качалочной колбе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Непрерывное измерение параметров биомассы в качалочных колбах в режиме реального времени является следующим, более совершенным этапом в раз-



вители биотехнологии. Это переход от системы культивирования, представляющей собой «черный ящик», к интегрированному технологическому решению, которое позволяет проводить работу над биопроцессом и с самого начала получать полноценную информацию, а также контролировать состояние окружающей среды. Неудобный инвазивный метод, которым на сегодняшний день осуществляется отбор проб, производимый ручным способом, в лучшем случае может дать лишь немного информации о том, что на самом деле происходит в сосуде во время культивирования. Для любого параметра процесса, например, температуры или скорости перемешивания, это было бы неприемлемо. Так зачем пользоваться этим методом для контроля состояния биомассы? Естественно, используемая измерительная система должна быть неотъемлемой частью целой системы, обеспечивая при этом простоту, экономичность и валидность.

Все основные требования, предъявляемые к такой системе, могут быть удовлетворены с помощью интегрированного мониторинга состояния биомассы, который предлагает компания INFORS HT. Максимально возможный спектр микроорганизмов, питательных сред, объемов и типов колб обеспечивается за счет применения неинвазивной, надежной и легкой в использовании измерительной технологии, базирующейся на измерении отраженного света. Тщательно контролируемые параметры окружающей среды в шейкере-инкубаторе работают рука об руку с методикой измерения параметров биомассы, которая предоставляет данные о росте клеток практически при любых условиях культивирования, даже при наличии большого количества шумов, наблюдаемых в сильно возбужденной среде, находящейся внутри качалочной колбы. Метод полной автоматизации эксперимента, компьютерное выполнение калибровки, обработки данных и сравнение множества входных параметров – все это предоставляет средства для превращения необработанных данных в полезную информацию об эксперименте и позволяет получить более глубокое понимание происходящего биопроцесса. Подобный метод мониторинга биомассы может применяться в следующих случаях:

- Оптимизация роста, сокращение времени или количества экспериментов.
- Прекращение зависимости от качества применявшихся ранее ручных методик.
- Возможность достижения заданного для биомассы показателя и получение информации о том, когда этот показатель будет достигнут.
- Сравнение кинетики роста для выявления событий, происходящих в ходе биопроцесса, которые на период применения случайного ручного пробоотбора и определения состояния биомассы оставались незамеченными.

- Сравнение состава сред для повышения роста.
- Токсикологический скрининг.
- Скрининг мутантов и кинетические исследования роста.
- Проверка состояния биомассы в посевной культуре без нарушения стерильности и возможность проводить сравнение с предыдущими партиями, чтобы выявить отклонения в процессе культивирования.

Во всех областях исследований и производства прослеживается тенденция, направленная на четкое управление биопроцессами и более быстрое реагирование на изменения, происходящие в процессе, при наличии явных доказательств того, что происходит во время культивирования. Мониторинг биомассы привносит все эти ценные современные достижения в стандартную лабораторную качалочную колбу.

INFORS HT



Ведущий мировой производитель
пресс инструмента **Теперь в России**

ШИРОКИЙ АССОРТИМЕНТ ПРЕСС ИНСТРУМЕНТА

CELEBRATING
40 YEARS
OF TABLETING EXCELLENCE IN...

стандартной формы, фигурный, многопозиционный, сборный со сменным штоком, для микротаблеток в т.ч. для прессов IMA Comprima, Kilian, Fette, Korch, Bosch–Manesty, GEA и других

- Срок поставки по РФ от 6 недель
- Профессиональная консультация от ведущих специалистов
- Индивидуальный инжиниринг пресс инструмента
- Точность изготовления и износостойкость
- Низкие эксплуатационные затраты
- Комплектующие и узлы для обслуживания инструмента



! За дополнительной информацией обращайтесь к специалистам ГК Фармконтракт

Эксклюзивный представитель Natoli



ВЕДУЩИЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ХОЛДИНГ РОССИИ

+7 (495) 252-00-98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)
www.phct.ru

8 800 333-69-11
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК ПО РОССИИ 24 ЧАСА)
info@phct.ru



Материал предоставлен
компанией Natoli

КРИТИЧЕСКИ ВАЖНЫЕ ЭТАПЫ ПРОИЗВОДСТВА ТАБЛЕТОЧНЫХ ФОРМ

АННОТАЦИЯ

Производство таблетированных лекарственных форм сопряжено с рядом трудностей. Разработка дизайна таблетки является одним из решающих этапов в процессе, для которого требуются специальные инструменты и соответствующее оборудование. В данной статье Роберт Седлок, директор по технической подготовке и начальник управления технических разработок в компании Natoli Engineering Company (США), рассматривает три этапа в процессе разработки таблетированных лекарственных форм: предварительную подготовку, приготовление лекарственной формы и промышленный выпуск препарата. Материал также посвящен вопросам использования производственных установок и инструментов для принятия научно обоснованных решений.

ВВЕДЕНИЕ

Процесс производства таблеток сопряжен со многими трудностями, однако они по-прежнему остаются приоритетной лекарственной формой. Прессование порошковой массы в единый плотный продукт – это наука, которую необходимо изучать и понимать для обеспечения успешного производственного процесса. Для потребителей таблетки являются самой простой и удобной лекарственной формой. При условии правильного развития производство таблетированных фармацевтических препаратов демонстрирует куда более высокие показатели в сравнении с другими лекарственными формами.

Процесс фармацевтической разработки таблетированных лекарственных средств считается одним из решающих этапов, для которых необходимо соответствующее оборудование и инструментарий. Именно они позволяют минимизировать проблемы, связанные с промышленным выпуском препаратов и производственными условиями. Подход «качество через разработку» требует четкой характеристики и точного понимания свойств и ограничений конкретного продукта и процесса его производства.

«Учитывая те трудности, которые возникают во время производства таблетированных лекарственных форм, четкое понимание материалов и процессов приобретает критически важное значение».



Роберт Седлок

С точки зрения производства таблеток крайне важно заблаговременно изучить свойства материалов. Это относится к активным фармацевтическим ингредиентам, вспомогательным веществам, связывающим веществам и смесям для формования. В список наиболее серьезных проблем, возникающих на начальных этапах производства таблеток, входит высокая стоимость и ограниченное количество материалов, которые можно использовать для лабораторных экспериментов и для дальнейшего масштабирования процесса. Крайне важным моментом для экономически эффективного производства таблеток является применение систем, позволяющих максимально снизить потери материалов благодаря характеристикам порошков, например однопозиционные прессы для таблеток, симуляторы и эмуляторы сжатия.

СТАДИЯ, ПРЕДШЕСТВУЮЩАЯ РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

На данном этапе выявляются физико-механические свойства АФИ. Зачастую АФИ не обладают хорошей прессуемостью, которая необходима для производства плотного спрессованного продукта. По этой причине в процессе получения лекарственного препарата необходимо использование соответствующих вспомогательных веществ. К наиболее значимым характеристикам таких веществ относятся деформируемость, уплотняемость, усилие выталкивания и склеиваемость.

Прессы для таблеток, симуляторы и эмуляторы сжатия – это эффективные инструменты, которые могут помочь при выявлении физико-механических свойств вашего АФИ. Данные системы могут предоставить полную информацию о процессе таблетирования по одной единственной таблетке. При этом им потребуется буквально несколько миллиграммов материала. Добавим, что вы можете установить датчик линейного смещения, который обеспечивает измерение толщины продукта в режиме реального времени, позволяя фиксировать смещение пуансона для изготовления таблеток наряду с уровнем силы сжатия, направленной на объект прессования. Это способствует пониманию следующих фактов:

- уплотнения частиц в процессе прессования;
- момента появления пластичности;
- взаимодействия между частицами;
- энергии упругой деформации или работы, которая необходима для производства таблетки, и оставшейся работы после явления декомпрессии.

К другим полезным измерениям относится определение верхнего и нижнего значений усилия сжатия, силы выталкивания, остаточное и максимальное усилие пресс-инструмента, а также степень адгезии пуансона/усилие подъема.

Прессы для таблеток (рисунок 1) представляют собой экономически эффективное решение для проведения вышеописанных измерений, однако они не способны смоделировать явление компрессии, которое наблюдается при использовании высокопроизводительного таблеточного пресса. Материалы, подвергающиеся сжатию на низкой скорости, имеют больше времени на затвердевание частиц и увеличенное время покоя, период между приложением максимального усилия и периодом покоя при декомпрессии. Это может привести к получению более плотного спрессованного продукта в сравнении с технологией производства, при которой прессы для таблетирования работают на высоких скоростях и имеют короткий период покоя, что приводит к недостаточной прочности таблетки, образованию пустот или расслоению.



Рисунок 1. Таблеточный пресс NP-RD10A

Кроме того, большинство одиночных таблеточных прессов предназначается для однонаправленного прессования: порошок прессуется между верхним и нижним пуансонами, причем усилие сжатия создается верхним пуансоном. Стандартный промышленный пресс для производства таблетированных форм оснащается верхним и нижним прижимными роликами, и оба пуансона ударяют по штампу для прессования таблеток. Несмотря на данное ограничение, цикл однонаправленного прессования может предоставить вам полезные данные при условии, что вы фиксируете силу как верхнего, так и нижнего пуансонов.

Симулятор прессования – это высокотехнологичный однопозиционный пресс для изготовления таблетированных форм, разработанный для имитации разнонаправленного прессования, которое производится в высокоскоростных роторных прессах. Как правило, такие установки имеют гидравлический или электрический привод. Они полностью оснащаются контрольно-измерительной аппаратурой, в том числе для контроля над движением пуансона.

Эмулятор прессования также представляет собой высокотехнологичный пресс, разработанный для имитации двойного прессования, которое осуществляется в высокоскоростных роторных установках. Эмулятор прессования оснащен механическим приводом. Он имеет дизайн стандартного роторного пресса, в ко-

тором верхний и нижний пуансоны проталкиваются между системой прижимных роликов (рисунок 2).



Рисунок 2. Эмулятор прессования Presster

Тип пуансона, а также профили головки и прижимных роликов можно с легкостью изменить для воссоздания промышленной таблетировочной машины, которая используется в производственном процессе. Кроме того, эмулятор прессования спроектирован таким образом, чтобы линейная платформа позволяла пуансонам и штампу перемещаться через узел наполнения, дозирующую ячейку и прижимные ролики, а пользователь мог регулировать угол извлечения.

Рабочая кривая или кривая «сила – смещение» позволяет измерить толщину таблетки в реальном времени при одиночном прессовании (рисунок 3). Когда сжимающее усилие увеличивается, толщина таблетки уменьшается; участок ниже кривой отражает количество работы/энергии, оставшееся в таблетке. Данная информация отображает также упругое восстановление материала. В нашем примере упругое восстановление составляет 20,5%.

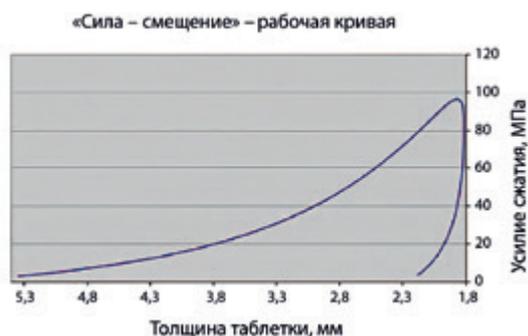


Рисунок 3. Данные, полученные с помощью однопозиционного пресс-инструмента, – рабочая кривая

Участок Геккеля демонстрирует линейную связь между относительной пористостью порошка и приложенным усилием сжатия (рисунок 4).

Наклон линейной регрессии представляет собой константу Геккеля – минимальное усилие сжатия, которое требуется для деформации материала, находя-

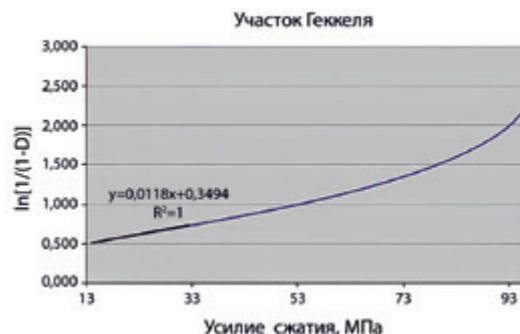


Рисунок 4. Данные, полученные с помощью однопозиционного пресс-инструмента, – участок Геккеля

щегося под воздействием сжимающих сил. В нашем примере предельное давление или константа Геккеля составляет 28 МПа.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

На основе особенностей активного фармацевтического ингредиента выбираются вспомогательные вещества, которые смогут придать необходимые деформационные свойства для получения плотной и прочной таблетки. На данном этапе изучение прессуемости может быть выполнено с различными составами путем моделирования разных скоростей прессования и продолжительности периода покоя. Вспомогательное вещество необходимо выбирать таким образом, чтобы оно увеличивало текучесть порошка, обеспечивало необходимую прочность таблеток, делало отделение готовой продукции более плавным, а весь процесс производства – менее энергоемким. На данном этапе часто используются настольные роторные прессы для изготовления таблетированных лекарственных форм, оснащенные измерительной аппаратурой. Однако когда количество материала ограничено, однопозиционные таблеточные прессы по-прежнему остаются важным инструментом для подбора и анализа состава лекарственной формы. Рисунки 5, 6 и 7 демонстрируют примеры изучения принципов прессования в процессе приготовления лекарственной формы.

Параметр «способность к формированию таблетки» отображает предел прочности таблетки в зависимости от усилия сжатия. Данный параметр приводится к стандартному показателю с поправкой на площадь наконечника насадки и геометрию таблетки, чтобы можно было проводить сравнение прочности вне зависимости от формы таблетки. В приведенном выше примере сравнивается процентное содержание лактозы и микрокристаллической целлюлозы с добавлением ацетаминофена. Добавление ацетаминофена снижает уровень прочности таблетки и увеличивает необходимое усилие сжатия для достижения желаемого предела прочности таблетки.

Данное исследование можно провести на однопозиционном прессе, однако более ценными считаются

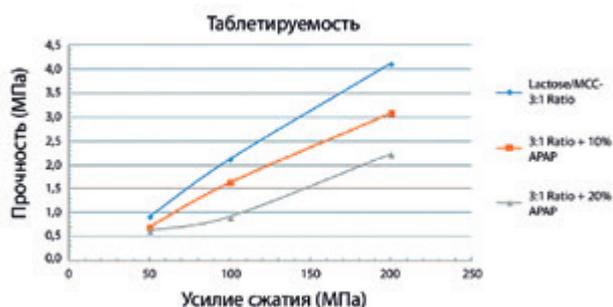


Рисунок 5. Прочность на растяжение по сравнению с давлением уплотнения

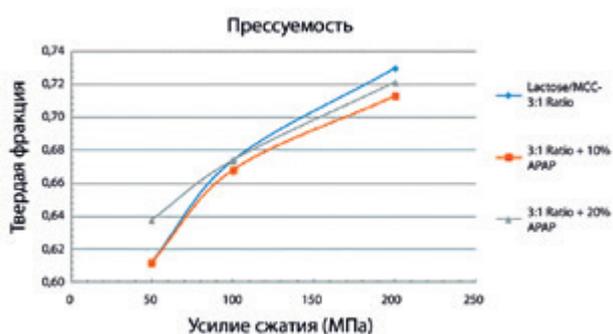


Рисунок 6. Твердая фракция по сравнению с давлением уплотнения

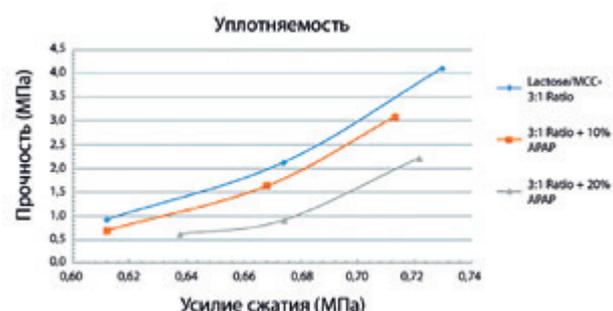


Рисунок 7. Прочность на разрыв по отношению к твердой фракции

работы, выполненные с использованием симуляторов/эмуляторов прессования на тех скоростях и с теми периодами покоя, которые соответствуют скорости и периодам покоя в промышленных таблеточных прессах.

Параметр «прессуемость» отображает содержание твердой фракции в зависимости от усилия сжатия. Твердая фракция – это отношение удельного веса таблетки к абсолютной плотности порошка; при этом абсолютная плотность может быть измерена при помощи гелиевого пикнометра. Содержание твердой фракции и пористость таблетки являются важными параметрами, которые влияют на разрушение таблетки.

Параметр «уплотняемость» отображает предел прочности таблетки в зависимости от содержания твердой фракции. Он позволяет оценить дозировку таблетки в зависимости от содержания твердой фрак-

ции и спрогнозировать ее распадаемость. Таблетуемость и прессуемость – это параметры, зависящие от скорости прессования. При этом уплотняемость не зависит от скорости прессования. Профиль уплотняемости может быть получен при использовании однопозиционного таблеточного пресса, при этом полученная информация может быть масштабирована на производственные мощности.

МАСШТАБИРОВАНИЕ

На данном этапе производственные параметры оцениваются в малых масштабах. Более длительный технологический цикл можно экспериментально исследовать путем решения различных вопросов, возникающих на этом уровне. Специалисты получают возможность оценить влияние переменных параметров процесса, поставщиков вспомогательных веществ, изменения размера частиц и режимов производства. В ходе данного процесса используется роторный таблеточный пресс для пилотного производства, который имеет более продолжительный производственный цикл, при котором особое значение имеют трение и нагрев системы, позволяя вывить любые проблемы с качеством таблетки. Симулятор или эмулятор прессования сконструирован таким образом, чтобы имитировать высокоскоростной роторный таблеточный пресс.

Конструкция тензопреобразователя, способ сбора данных и метод калибровки являются крайне важными аспектами, на основании которых формируется комплекс программ для контрольно-измерительной аппаратуры. Тензодатчики используются для оценки усилия сжатия, упругости и сдвигающего усилия со стандартной погрешностью не более 0,1%. Система сбора данных должна быть разработана таким образом, чтобы обрабатывать поступающие данные на частоте 100 кГц с целью получения информации при высокоскоростном производстве таблеток, которое осуществляется, как правило, с частотой 1 таблетка в 100 миллисекунд. Методы калибровки также играют немаловажную роль для обеспечения точности данных. При измерении толщины заготовки в ходе уплотнения датчики линейного смещения необходимо корректировать для компенсации деформации. Поскольку таблеточные прессы не отличаются абсолютной жесткостью, данную погрешность исправляют посредством калибровки.

С учетом всех тех сложностей, которые сопровождают процесс производства таблеток, четкое понимание свойств используемых материалов и процессов приобретает крайнюю важность. Материаловедение имеет принципиальное значение для приготовления прочных таблеток, пригодных для производственной среды. В условиях высокой стоимости АФИ и вспомогательных веществ применение систем, позволяющих минимизировать потери материалов, как, например, однопозиционный таблеточный пресс, а также симуляторы и эмуляторы прессования, приобретают особую ценность.



АНАЛИЗ ОСТАТОЧНОЙ ВЛАГИ В ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ В БЛИЖНЕМ ИК-ДИАПАЗОНЕ

Материал предоставлен
компанией Metrohm

АННОТАЦИЯ

В данной статье описывается применение метода спектроскопии в ближнем ИК-диапазоне (БИК) для определения остаточной влаги в лиофилизированных фармацевтических препаратах. Образцы помещены в 30 мл флаконы (внешний диаметр 3 см), а средняя навеска составляет 1,6 г с целевым значением влажности 1% и допустимым пределом не более 2% по массе. Для построения калибровки использованы образцы с добавлением различных количеств воды. Измерения проводились в режиме диффузного отражения на спектрометре ближнего ИК-диапазона с применением алгоритма множественной линейной регрессии (MLR) для определения корреляций между спектральными данными и содержанием влаги, которые были получены методом титрования по К. Фишеру.

ВВЕДЕНИЕ

Количество остаточной влаги в лиофилизированных продуктах является важным параметром для фармацевтической промышленности. Для обеспечения контроля процесса сушки и выпуска идентичной продукции данный параметр анализируется на регулярной основе. Полученные значения важны для изучения стабильности и оптимизации технологических процессов сушки.

Стандартными методами определения содержания влаги являются: титрование по К. Фишеру, газовая хроматография, термогравиметрический анализ. Хотя эти методы обладают определенными преимуществами в части чувствительности, стоимости системы, но все они имеют схожие недостатки: длительное время анализа, разрушение пробы в процессе измерения.

Таблица 1.

Набор образцов для калибровки

Группа	Кол-во виал	Желаемое увеличение H ₂ O [% по массе]	Объем добавленной H ₂ O [мкл]
A	5	0,0	0
B	5	0,5	8
C	5	1,0	16
D	5	1,5	24
E	5	2,0	32
F	5	2,4	40
G	4	2,9	48
H	4	4,8	80
I	4	9,1	160
J	4	13,0	240

Показано, что БИК-спектроскопия является идеальным методом для быстрого измерения влажности в лиофилизованных материалах. Среднее время анализа составляет ~30 с. Наличие сильных обертоновых полос поглощения воды при 1940 нм и 1450 нм позволяют получить количественные калибровки по содержанию влаги. Режим диффузного отражения позволяет проводить измерения через дно флакона, так как боросиликатное стекло не является активным в ближнем ИК-диапазоне. Следовательно, не требуется пробоподготовка, а значит нет необходимости в дорогостоящих или токсичных реагентах. Метод является неразрушающим, что дает неоспоримое преимущество при анализе дорогостоящих активных субстанций, а также при возможных дальнейших тестах образца в том же флаконе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ближнего ИК-диапазона получены на спектрометре FOSS NIRSystems Model 6500, снабженном модулем Rapid Content™ Analyzer (RCA) (рисунок 1), с детектором из сульфида свинца, способным анализировать отраженное БИК-излучение в диапазоне от 1100 до 2500 нм. Обеспечение воспроизводимости положения флакона относительно монохроматического излучения достигается путем использования механической диафрагмы. Спектральные данные получены усреднением сигнала после 32 сканирований. В настоящее время данная модель не выпускается и заменена моделью XDS Rapid Content Analyzer, выпускаемой компанией Metrohm AG. Сбор данных и их обработка проведено с использованием программного обеспечения Vision™.

Для калибровки использованы 46 виал, разделенных на 10 групп от А до J. В образцы каждой группы добавлено определенное количество воды для обеспечения постепенного увеличения содержания воды, как показано в таблице 1.

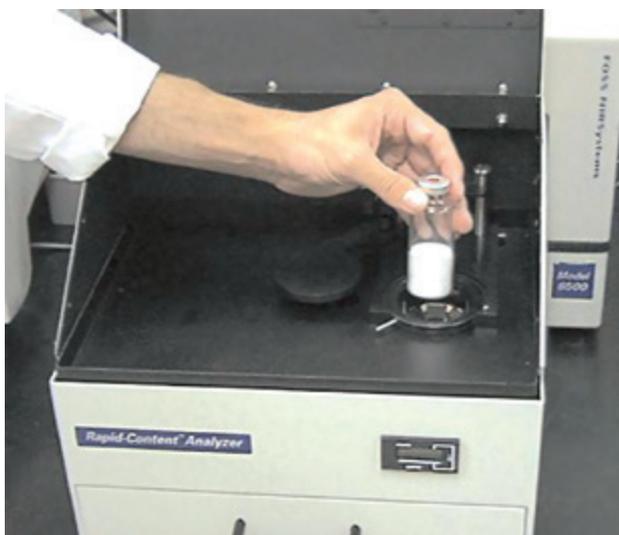


Рисунок 1. Модуль Rapid Content Analyzer (RCA), используемый для анализа

Процедура добавления воды в образец показана на рисунке 2 и включает удержание виалы в горизонтальном положении под небольшим углом и ввод точного количества дистиллированной воды через крышку с помощью микрошприца. Тонкая игла микрошприца размещалась в игле с большим размером (18 калибр) для введения через резиновую пробку. Затем образцы выдерживались 48 ч для полного испарения влаги и установки равновесия в виале. В течение этого времени наклонную ориентацию флаконов поддерживали так, чтобы вода не вступала в непосредственный контакт с лиофилизованным осадком. Эта процедура легко позволяет подготовить калибровочный набор с примерно одинаковым количеством образцов в каждой группе уровней влажности. Этот подход также оказался более удобным, чем процедуры, в которых используются камеры влажности, поскольку предварительное знание скорости поглощения влаги не является необходимым.

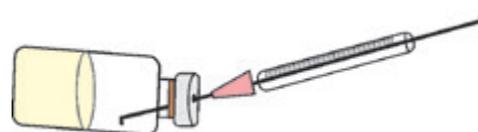


Рисунок 2. Схема метода добавления воды к образцу через виалу

Содержание влаги в калибровочных образцах, используемых для разработки калибровочной модели для БИК-спектроскопии, определялось волюмометрическим титрованием по Карлу Фишеру. Пробоподготовка не требуется.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа методом К. Фишера показаны на рисунке 3. Измеренные содержания согласуются с целевыми значениями для каждой группы. Однако в

трех пробах (D5, E2 и G3) измеренное содержание влаги оказалось выше ожидаемого. Это может быть связано либо с добавлением избыточного количества воды, либо с высокой исходной влажностью в каждом флаконе. За исключением данных трех проб, среднее содержание воды перед добавкой определено в районе 0,7% путем вычитания желаемого увеличения влажности из фактического измеренного значения в каждом флаконе.

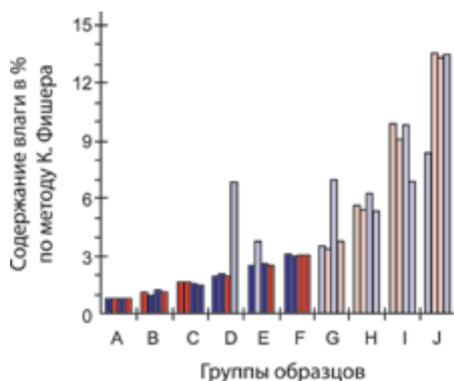


Рисунок 3. Результаты анализа методом К. Фишера для калибровочного набора проб. Синие и красные полосы показывают тренировочный и тестовый наборы образцов соответственно

Спектральные данные

На рисунке 4 показаны БИК-спектры десяти калибровочных образцов, содержащих различное количество влаги, как указано на гистограмме. Для большей репрезентативности проведена коррекция спектров путем вычитания соответствующей абсорбции при 1820 нм от каждой точки на спектре, а

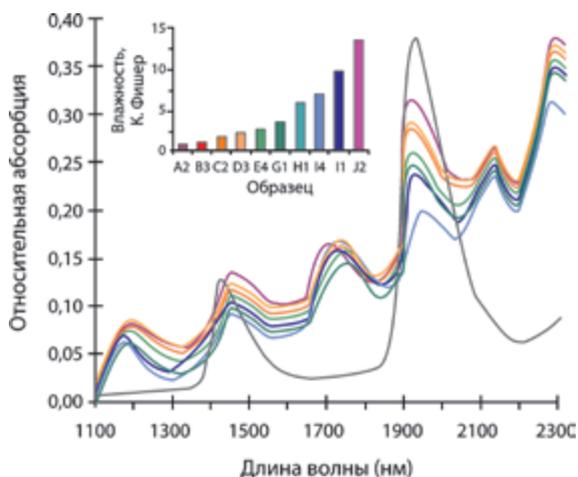


Рисунок 4. БИК-спектры диффузного отражения образцов лиофилизата, содержащих различное количество влаги, показанное на внутренней гистограмме. Спектры скорректированы относительно значения поглощения при 1820 нм. Дополнительная кривая представляет собой спектр пропускания воды с длиной пути 0,3 мм и поглощением до 20% от фактических значений

шкала нормирована по значению наименьшей общей абсорбции, равной нулю. Очевидна корреляция между увеличением содержания влаги и изменением спектральных характеристик при полосе 1940 нм.

Математическая обработка спектра по второй производной часто используется для разработки количественных моделей. Данный способ применяется для коррекции наклонного фона и смещений, связанных с различиями в отражательной способности каждого образца в наборе. Эти различия связаны с физическими параметрами проб, такими как распределение размера частиц.

На рисунке 5 показаны вторые производные спектра десяти образцов из рисунка 4.

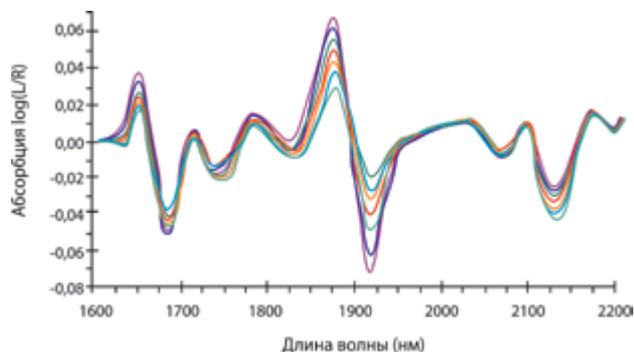


Рисунок 5. Вторая производная спектров поглощения, показанных на рисунке 4

Разработка количественной модели

При разработке количественной модели спектры для калибровки разделены на две разные группы. Образцы в тренировочном наборе используются для построения уравнения, а образцы тестового набора применяют для его валидации. Спектры одного образца не задействуются в обоих наборах. На рисунке 3 синим и красным цветом показаны тренировочный и тестовый наборы, соответственно.

Для получения калибровок проб с содержанием влаги в диапазоне, близком к выбранному приемлемому лимиту, то есть ~2% H₂O, применяется алгоритм множественной линейной регрессии (MLR) по спектру второй производной для образцов групп от А до F. Это позволяет получить уравнение А, оптимизированное для проб с низким содержанием влаги, то есть от 0% до 3,5% H₂O.

Делитель минимизирует эффекты, связанные с мультипликативным рассеянием, вызванным разницей длины пути светового пучка в пробах.

Уравнение A:
для образцов с низким содержанием влаги

$$\text{Содержание влаги в \% (NIR)} = 0,806 - 19,411 \left(\frac{A''_{1842\text{nm}}}{A''_{2124\text{nm}}} \right).$$

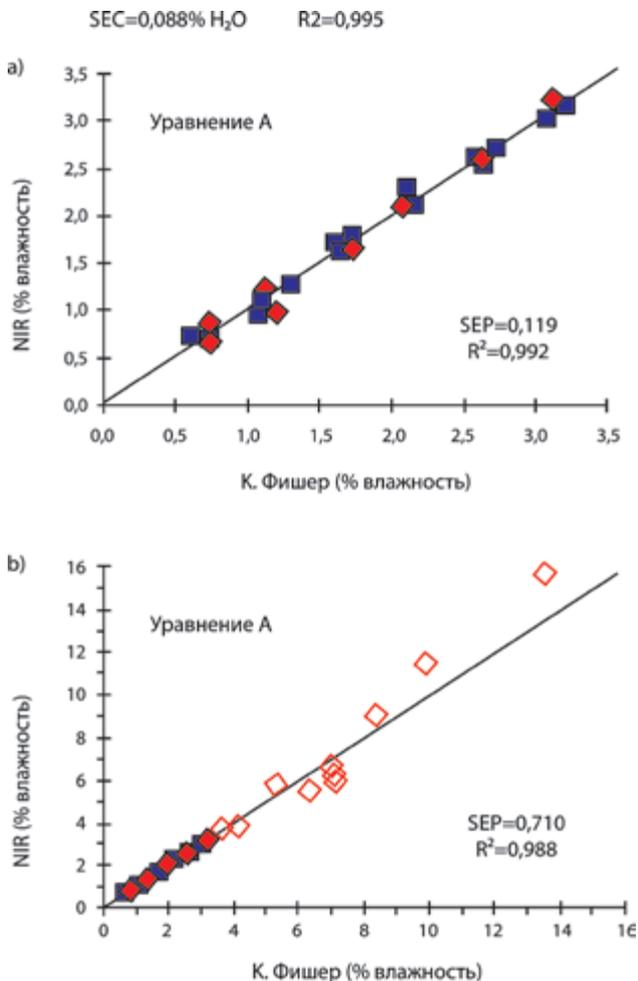


Рисунок 6. Сравнение результатов, полученных по уравнению A и при титровании по Карлу Фишеру. Тренировочному набору соответствуют синие квадраты, а тестовому – красные. Верхний график демонстрирует результаты для малых содержаний влаги, для которых уравнение A было оптимизировано

Вторая калибровка разработана с использованием алгоритма MLR и спектра второй производной для всех проб в тренировочном наборе. Это позволяет получить уравнение B, оптимизированное для проб с содержанием влаги до 15% H₂O.

Уравнение B:
для проб с высоким содержанием влаги

$$\text{Содержание влаги в \% (NIR)} = 1,427 + 6,472 \left(\frac{A''_{1842\text{nm}}}{A''_{2162\text{nm}}} \right).$$

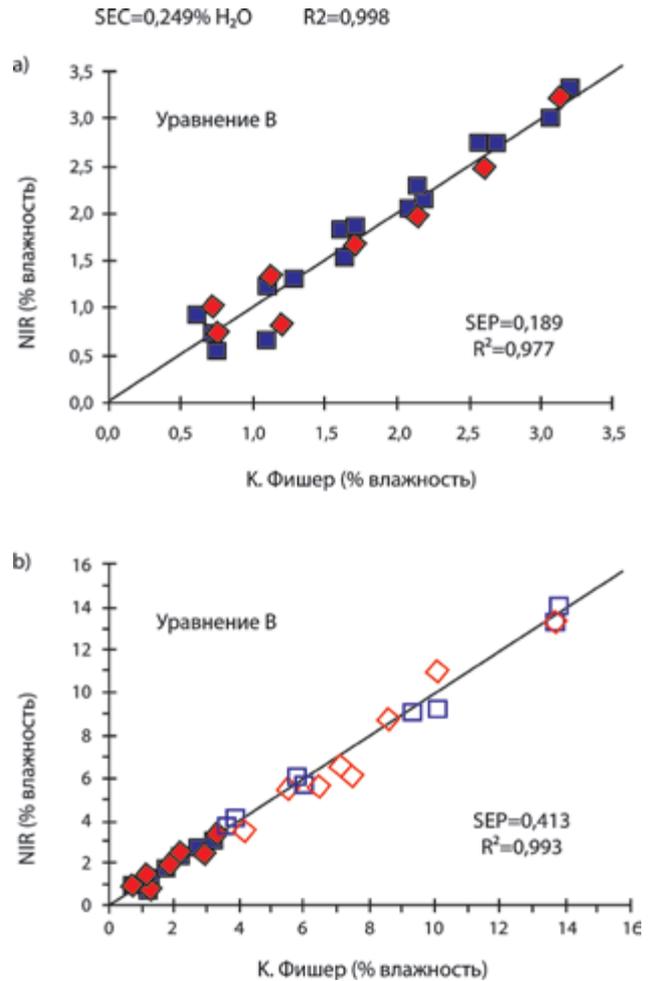


Рисунок 7. Сравнение результатов, полученных по уравнению B и при титровании по Карлу Фишеру. Тренировочному набору соответствуют синие квадраты, а тестовому – красные. Нижний график демонстрирует результаты для высоких содержаний влаги, для которых уравнение B было оптимизировано. При низких содержаниях влаги данная модель дает менее достоверные результаты в сравнении с моделью на рисунке 6

Оба уравнения дают превосходные значения $R^2 > 0,99$. Стандартная ошибка калибровки (SEC) для уравнения B несколько выше, чем для A. Это вызвано более широким диапазоном для уравнения B. Как и ожидалось, уравнение A дает достаточно хорошие результаты по содержанию влаги для набора образцов с содержанием влаги менее 3,5% H₂O и относительно низкую стандартную ошибку прогнозирования SEP=0,119% H₂O. Однако при применении модели к образцам с более высоким уровнем влажности (>8% H₂O) уравнение A демонстрирует тенденцию к завышению полученного результата в сравнении с полученным результатом титрования по методу Карла Фишера. В таких случаях целесообразно применять уравнение B, которое является более точным для образцов с высоким содержанием влаги, но менее точным для низких содержаний.

Сравнение БИК-спектроскопии и термогравиметрии

Термогравиметрия – метод, часто применяемый для анализа содержания остаточных растворителей в порошках и лиофилизированных материалах. Для сравнения описанного выше метода БИК-спектроскопии и термогравиметрии поставлен отдельный эксперимент. Заранее известно, что две из десяти проб имеют относительно высокое содержание влаги. Результаты сравнения приведены на рисунке 8.

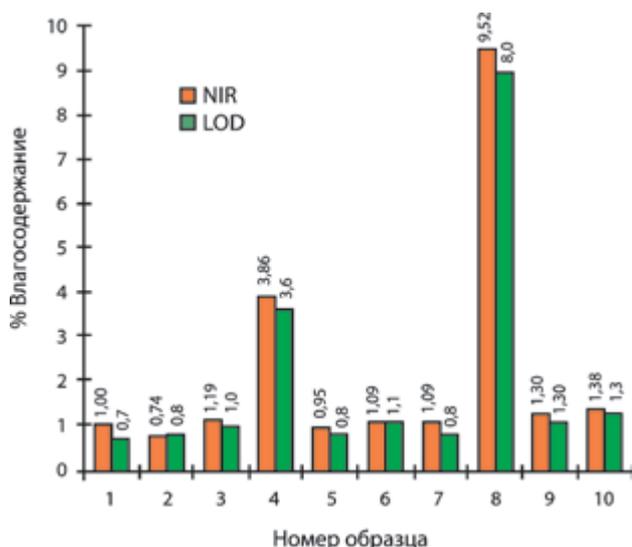


Рисунок 8. Сравнение метода БИК-спектроскопии и термогравиметрии по десяти дополнительным образцам. Высокое содержание влаги в двух пробах заведомо известно, и для получения в них результата методом БИК-спектроскопии применено уравнение В

Наблюдается хорошая корреляция между результатами метода БИК-спектроскопии и термогравиметрии. Однако в среднем значения, полученные с помощью БИК-спектроскопии, несколько выше, чем с помощью термогравиметрии, примерно на $0,20 \pm 0,17\%$. Это различие вызвано тем, что для проведения калибровки в качестве первичного метода выбрано титрование по Карлу Фишеру. Из-за наличия водородных связей практически невозможно удалить всю воду с поверхности вещества простым нагреванием в печи в течение ограниченного промежутка времени. Следовательно, метод термогравиметрии обычно дает заниженные результаты по сравнению с титрованием по Фишеру.

БИК-анализ дефектных проб, содержащих расплавы

Спекание или разрушение лиофилизированной таблетки – один из частых дефектов данных продуктов. Это происходит из-за незавершенности процесса лиофилизации и высокого содержания остаточной влаги во флаконе. Спекание также может происходить в процессе сублимации, если температура и/или давление не поддерживаются ниже точки перехода, где происходит сжижение.

В результате образуется таблетка, сильно отличающаяся от идеальной, имеющей одинаковый цвет и структуру. Образцы, содержащие расплав, обычно меньше и имеют неравномерную структуру. Однако из-за относительно больших размеров в лиофилизированной таблетке возможно внутреннее образование расплава. В таком случае визуальное определение дефектного образца крайне затруднительно. Наличие расплава является критическим дефектом, поскольку это может привести к деградации активного вещества, что влияет на эффективность конечного продукта.

Метод БИК-спектроскопии применен для анализа группы из пятнадцати образцов, имеющих расплавы. В каждом из случаев обнаружено высокое содержание влаги в диапазоне от 5 до 20%. Метод БИК-спектроскопии позволил идентифицировать данные образцы как имеющие высокое содержание влаги, несмотря на то что матрица пробы значительно изменена, а диффузно отраженное БИК-излучение сильно различается при наличии в пробе расплава. Хотя фактические уровни влажности этих образцов не были определены, результаты показывают, что метод БИК-спектроскопии может применяться для контроля качества и выявления дефектной продукции, также может использоваться в качестве качественного инструмента контроля. Данный метод анализа является неразрушающим, следовательно, возможно его применение для автоматического анализа каждой партии продукции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

БИК-спектроскопия идеально подходит для анализа остаточной влаги в лиофилизированных продуктах. Образцы для калибровки могут быть легко получены путем ввода определенного количества воды во флакон и выдерживания пробы для установления равномерного распределения влаги в сублимированной таблетке. Эта процедура обеспечивает удобный способ приготовления калибровочных наборов с равномерным распределением уровней влажности. Уравнения регрессии могут быть оптимизированы для обеспечения измерений остаточной влажности в разных диапазонах, то есть для высоких и низких содержаний H_2O , если тренировочные наборы состоят из образцов с соответствующими уровнями влажности. При сравнении результатов метода БИК-спектроскопии с результатами методов, не используемых для построения калибровочной модели, наблюдаются небольшие различия в полученных значениях. Во многих случаях эти различия можно объяснить, а затем скорректировать уравнение калибровки. Поскольку метод БИК-спектроскопии является неразрушающим, образцы можно использовать для дальнейших анализов. В частности, это полезно при анализе проб, используемых для определения стабильности или для проверки образцов с еще более высоким содержанием влаги. Скорость и легкость метода позволяет не только анализировать большое количество образцов, но и включить тестирование остаточной влаги в качестве неотъемлемой части проверки качества всех лиофилизированных продуктов.

ТРЕТЬЯ ВСЕРОССИЙСКАЯ GMP-КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «РОССИЯ И МИР. УПРАВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛОМ РОСТА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА»



27-29 августа
2018
Казань,
Татарстан

- Ожидается более 1000 участников
- Более 20 делегаций из разных стран мира
- Эксперты в области надлежащих практик мирового уровня
- Подписание глобальных отраслевых соглашений
- Встреча инспекторов стран ЕАЭС
- Конференция по инжинирингу Евразийского отделения ISPE
- Глобальные тренды в области GMP, GDP, GEP
- Обсуждения, дискуссии, практические сессии

УЧАСТИЕ БЕСПЛАТНОЕ

Технический оператор:
Центр корпоративных
коммуникаций S-GROUP

+7 (495) 120-53-33
info@sgr.com.ru
www.sgr.com.ru

Стратегический партнер



ГЕДЕОН РИХТЕР

Сайт мероприятия – www.gosgmp.ru



ИННОВАЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ

Материал предоставлен
компанией LAMSysteMS

ВВЕДЕНИЕ

Специалистами компании LAMSysteMS реализован инновационный подход к обеспечению эффективности защитных свойств в боксах микробиологической безопасности II класса Neoteric.

Боксы микробиологической безопасности используются для защиты оператора и продукта при работе с опасными или потенциально опасными микроорганизмами. Обычным способом обеспечения этой защиты является создание барьеров, препятствующих распространению патогенов. Такими барьерами являются, например, корпус бокса, фильтры, воздушная завеса в рабочем проеме, нисходящий ламинарный воздушный поток в рабочей камере.

Обладая наиболее нестабильными барьерными свойствами, воздушные потоки нуждаются в ежесекундном мониторинге скорости и баланса их взаимодействия. Поэтому все боксы микробиологической безопасности оснащаются датчиками, контролирующими параметры воздушных потоков. И очень непростой задачей, которую при этом приходится решать каждому производителю, является калибровка установленных датчиков, так как от точности их показаний зависит эффективность защитных свойств оборудования.

КАЛИБРОВКА УСТАНОВЛЕННЫХ ДАТЧИКОВ

Специалисты компании LAMSysteMS применили системный подход к решению этой задачи. В конструкции боксов марки LAMSysteMS используются датчики давления. Они имеют очевидные преимущества перед

термоанемометрическими, которыми обычно оснащаются боксы данного типа. Датчики давления не боятся пыли, влажности, стойки к температурным перепадам, что позволяет сохранять точность заданных параметров в течение всего срока эксплуатации, исключая необходимость периодической подстройки. Однократная процедура калибровки датчиков осуществляется по специальной методике с помощью калибратора и уникального программного обеспечения непосредственно при изготовлении микропроцессорной системы управления.

В процессе эксплуатации бокса микропроцессорная система управления по особому алгоритму обрабатывает данные с контрольных точек снятия давления, расположение которых имеет свои особенности и также является ноу-хау производителя, так как позволяет при минимальном количестве установленных датчиков с высокой степенью чувствительности отслеживать взаимодействие воздушных потоков.

Любое, даже незначительное изменение скорости, направления и баланса воздушных потоков, ведущее к снижению защитных свойств бокса микробиологической безопасности, будет замечено системой управления и вызовет автоматическое срабатывание аварийно-звуковой сигнализации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инновационные разработки специалистов компании LAMSysteMS, реализованные в конструкции бокса микробиологической безопасности II класса NEOTERIC, позволяют гарантировать высокую эффективность защиты оператора, продукта и окружающей среды при работе с опасными микроорганизмами и биологическими агентами.





ЗАЩИТА НА УРОВНЕ МИРОВЫХ СТАНДАРТОВ

Материал предоставлен
компанией LAMSYSYSTEMS

ВВЕДЕНИЕ

Ни для кого не секрет, что персонал микробиологической лаборатории подвержен профессиональному риску инфицирования патогенными микроорганизмами. И несмотря на разработанные программы по безопасности, случаи заражения в результате работы с опасными биологическими агентами продолжают регистрироваться. Причиной тому является не только нарушение соответствующих инструкций, но также использование в работе некачественного оборудования, в частности боксов микробиологической безопасности. И если в первом случае ответственность за возможное заражение несет собственноручно лаборант, то во втором последствия инфицирования целиком и полностью лежат на совести производителя. Поэтому безошибочный выбор качественной техники и добросовестного изготовителя имеет жизненно важное значение, особенно в ситуации, когда количество поставщиков растет, ассортимент постоянно расширяется, а возможность приобретения дорогостоящего оборудования для оснащения российских ЛПУ выпадает нечасто.

ВЫБОР БОКСА БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Сегодня выбирать бокс микробиологической безопасности, руководствуясь лишь доступной ценой, не просто малоэффективно, но и рискованно. На первый план здесь выходит более существенное требование – соответствие российским и мировым стандартам, предоставление изготовителем объективной, документированной информации о реальных характеристиках и эксплуатационных свойствах выпускаемой им продукции.

Для многих производителей это требование является подчас невыполнимым. Нужно ли пояснять, что производство высокотехнологичного оборудования требует огромных материальных и интеллектуальных вложений, длительного срока становления, создания собственных конструкторских разработок, отладки всех производственных процессов, прежде чем потребитель получит продукт действительно высоких технологий, полностью выполняющий свое предназначение? Но даже при условии налаженного производства не каждый изготовитель лабораторного оборудования в состоянии документально подтвердить безопасность своей продукции и гарантировать защиту оператора и окружающей среды на уровне мировых стандартов. Ведь для этого нужно проходить специальное тестирование, а поскольку оно не является обязательным, то и деньги тратить ни к чему.



Специалисты ЗАО «Ламинарные системы» придерживаются иной точки зрения. Предприятие занимается проектированием, производством и продажей специализированного лабораторного оборудования: ламинарных укрытий, вытяжных шкафов, ПЦР-боксов и боксов биологической безопасности I, II и III класса. Чтобы с уверенностью гарантировать соответствие выпускаемой продукции заявленным параметрам и эксплуатационным характеристикам, каждое готовое изделие проходит всесторонний контроль качества в соответствии с требованиями мировых стандартов. В ходе контроля осуществляется детальная проверка общего технического состояния, электробезопасности, работоспособности всех систем управления и сигнализации. С особенной тщательностью проверяются характеристики потоков воздуха, создаваемых при работе бокса, и степень защиты изделия по отношению к оператору, рабочему агенту и окружающей среде. Это обусловлено не только стремлением занять лидирующее положение на рынке, но и осознанием ответственности перед конечным потребителем за возможные последствия при эксплуатации выпускаемой продукции.

Одним из важнейших показателей уровня биологической защиты бокса является способность воздушного барьера удерживать патогенные микроорганизмы в пределах бокса, так называемая эффективность удержания в переднем окне. В ходе ежедневно проводимых оператором стандартных манипуляций внутри рабочей зоны бокса образуется аэрозоль, содержащий опасные агенты. В случае выброса за пределы бокса они представляют собой невидимую потенциальную угрозу для персонала и окружающей среды. Существуют разные методы тестирования бокса на эффективность удержания в переднем окне. Один из них – калий-йодидный тест – взят на вооружение специалистами ЗАО «Ламинарные системы». Специально для проведения этого теста предприятие закупило оборудование английского производства (на фото).



- тестовый аэрозоль йодида калия генерируется путем подачи раствора йодида калия на вращающийся с высокой скоростью диск аэрозольного генератора, установленного в определенной точке с наружной или внутренней стороны рабочего проема;
- одновременно с генерацией аэрозоля с другой стороны рабочего проема осуществляется отбор проб воздуха в контрольных точках при помощи вакуумных пробоотборников воздуха с установленными в них мембранными фильтрами.

Примечание: дополнительно имитируется присутствие руки оператора путем установки в рабочем проеме металлического цилиндра диаметром 60–65 мм;

- по окончании генерации тестового аэрозоля и завершении отбора проб воздуха из вакуумных пробоотборников извлекаются мембранные фильтры и помещаются в раствор хлорида палладия. При этом частицы йодида калия, осевшие на мембранных фильтрах, проявляются в виде серо-коричневых точек. Сопоставляя количество частиц, распавшихся при генерации тестового аэрозоля, и количество частиц, осевших на мембранных фильтрах, можно вычислить коэффициент защиты бокса. Причем результаты тестирования становятся доступны уже через несколько минут после его проведения.

Первые тесты на определение эффективности удержания в переднем окне бокса биологической безопасности II класса прошли успешно. Показатели соответствуют европейскому стандарту EN 12469-2000. Таким образом, потребители могут быть уверены – бокс производства ЗАО «Ламинарные системы» действительно обеспечит надежную защиту оператора и окружающей среды от патогенных микроорганизмов.



Калий-йодидный тест, согласно европейскому стандарту EN 12469-2000, применяется для подтверждения того, что бокс биологической безопасности действительно обеспечивает высокий уровень защиты оператора и окружающей среды от микробиологического заражения при работе в боксе с патогенными агентами и микроорганизмами, используемыми в качестве рабочих агентов. Также при проведении калий-йодидного теста подтверждается то, что рабочие агенты, находящиеся в рабочей зоне бокса, надежно защищены от внешней и перекрестной контаминации.

Принцип действия калий-йодидного теста основан на генерации внутри или снаружи бокса (в зависимости от типа испытания) тестового аэрозоля йодида калия (имитирующего аэрозоль опасного рабочего агента) с последующим подсчетом частиц, проникнувших через воздушный барьер наружу или внутрь бокса. Это осуществляется следующим образом:



IV РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

3-5 ОКТЯБРЯ 2018 | МОСКВА | ВДНХ, ПАВИЛЬОН 75

8000 СЛУШАТЕЛЕЙ

Более **300 ДОКЛАДЧИКОВ** российских и иностранных
Более **150 КОМПАНИЙ-УЧАСТНИКОВ** – ведущих российских
и зарубежных производителей и поставщиков лабораторного
оборудования и расходных материалов

Свыше **50 НАУЧНЫХ СЕКЦИЙ**

ТРАДИЦИОННЫЕ ФОРУМЫ

- День сепсиса
- Клиническая цитология
- Этиология, диагностика и профилактика инфекционных заболеваний
- Лабораторная диагностика социально значимых инфекций
- Обращение медицинских изделий in vitro
- Экономика и организация лабораторной службы
- Медицина 5П
- Молекулярно-генетическая лабораторная диагностика в онкологии

НОВЫЕ ТЕМАТИЧЕСКИЕ НАПРАВЛЕНИЯ

- Цифровая медицина. Big data и системы поддержки врачебных решений
- Стандартизация и гармонизация – путь к сопоставимости результатов исследований. Где мы сейчас?
- Хромато-масс-спектрометрия – ключ к решению сложных диагностических задач
- Мужское здоровье и новые маркеры в клинической практике уролога

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ КОНФЕРЕНЦИИ

Лабораторная диагностика в клинической практике:

- Кардиология
- Эндокринология
- Гематология
- Урология
- Дерматовенерология
- Орфанные заболевания

IV МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА «ЛАБОРАТОРНЫЙ ГОРОД»

- ПОСТЕРНАЯ ЗОНА
- ГАЛЕРЕЯ ART LAB – специальные арт-зоны (музей, художественные выставки)
- ФОТОВЫСТАВКА «Израиль глазами российских лабораторных работников», «Лабораторный город и его жители»
- МУЗЫКА И ИСКУССТВО

СПЕЦИАЛЬНЫЕ ПРОЕКТЫ

- ДЕНЬ ИЗРАИЛЯ
- ПРЕМИЯ В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ им. В. В. МЕНЬШИКОВА
- КОНКУРС ДЛЯ ЖУРНАЛИСТОВ «СПЕКТР»





ПРИМЕНЕНИЕ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА НА ВСЕХ ЭТАПАХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ

АВТОРЫ

**У. Нгуен (U. Nguyen),
Ф. Рамирес (F. Ramirez),
С. Мэк (S. Mack),
С. Дарлинг (S. Darling),
Д. Проктор (J. Proctor),
А. Бюге (A. Buge),**

ProteinSimple, 3040,
США, Калифорния, Санта-Клара,
Оакмед вилладж драйв

ВВЕДЕНИЕ

Чтобы вывести на рынок антитело или какой-либо другой фармацевтический препарат, необходимо установить тщательный контроль над каждым этапом технологического процесса. Неоднородность заряда и средняя молекулярная масса (MW), выявляемые посредством ДСН-ПААГ-электрофореза, являются наиболее часто оцениваемыми параметрами. Идеальным вариантом является использование одних и тех же аналитических методик с самого первого этапа разработки препарата до заключительного производственного этапа (слабая выработанность, сложная матрица) и контроля качества (высокая концентрация, чистый материал). Капиллярные методики, такие как КИЭФ и КЭ-ДДСН, широко используются в настоящее время на этапах даунстрим при разработке препарата, однако эти методы лучше всего подходят для работы с очищенными и более высококонцентрированными образцами. В этой статье представлена методика Simple Western, которая объединяет в одном новом приборе под названием Peggu капиллярный электрофорез с иммуноанализом. Данная комбинация обеспечивает в высокой степени воспроизводимый и полностью автоматизированный процесс анализа моноклональных антител. Эта чувствительная технология измеряет в сложных образцах либо размер молекул, либо их заряд и предоставляет чрезвычайно важную информацию о неоднородности заряда, размере и титре без необходимости очистки образца. В статье представлены данные, демонстрирующие применение методики Simple Western и технологии КИЭФ для анализа моноклональных антител к VEGF, а также доказательства возможности получения согласованных данных на всех этапах разработки фармацевтического препарата при применении этих двух методов. Кроме того, приведены примеры уникальной способности данной технологии оценивать аффинность анти-VEGF-антител к различным изоформам молекул VEGF, отличающимся друг от друга зарядами.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

Peggy – это лабораторный измерительный прибор, способный производить разделение белков или по размеру их молекул или по их заряду (рисунок 1). Система ICE3 обеспечивает быстрый, надежный и выполненный с высоким разрешением анализ гетерогенности молекул белка по заряду (рисунок 2). На обеих платформах в качестве метода разделения используется капиллярный электрофорез. На приборе Peggy можно одновременно производить анализ 12 образцов, до 96 образцов на один эксперимент. Образцы, подготовленные для анализа по методике Simple Western, могут быть денатурированы (для разделения по размеру молекул) или сохраняют свое естественное состояние (для разделения по заряду). После подготовки образцы загружают в капилляры, где происходит разделение молекул либо по размеру, либо по заряду. Затем производится иммобилизация белков путем прикрепления к стенкам капилляров с помощью запатентованного метода УФ-захвата. С помощью антитела проводят иммунологическое распознавание целевых белков, а затем выполняют хемилюминесцентную детекцию активности пероксидазы хрена.

Peggy полностью автоматизирует всю процедуру вестерн-блоттинга, что приводит к увеличению воспроизводимости и значительной экономии времени. Система ICE3 производит прямое детектирование при длине волны 280 нм методом капиллярного электрофореза с визуализацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Simple Western позволяет проводить анализ по заряду и по размеру молекул белков и моноклональных антител (mAb), даже если они находят

Основные этапы при проведении анализа с помощью методики КИЭФ

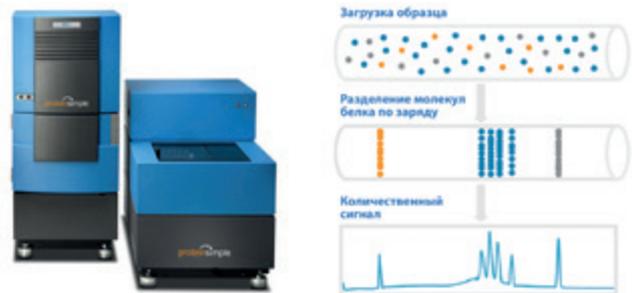


Рисунок 2. Система ICE3 и этапы анализа по методу КИЭФ

Основные этапы при проведении анализа с помощью методики Simple Western

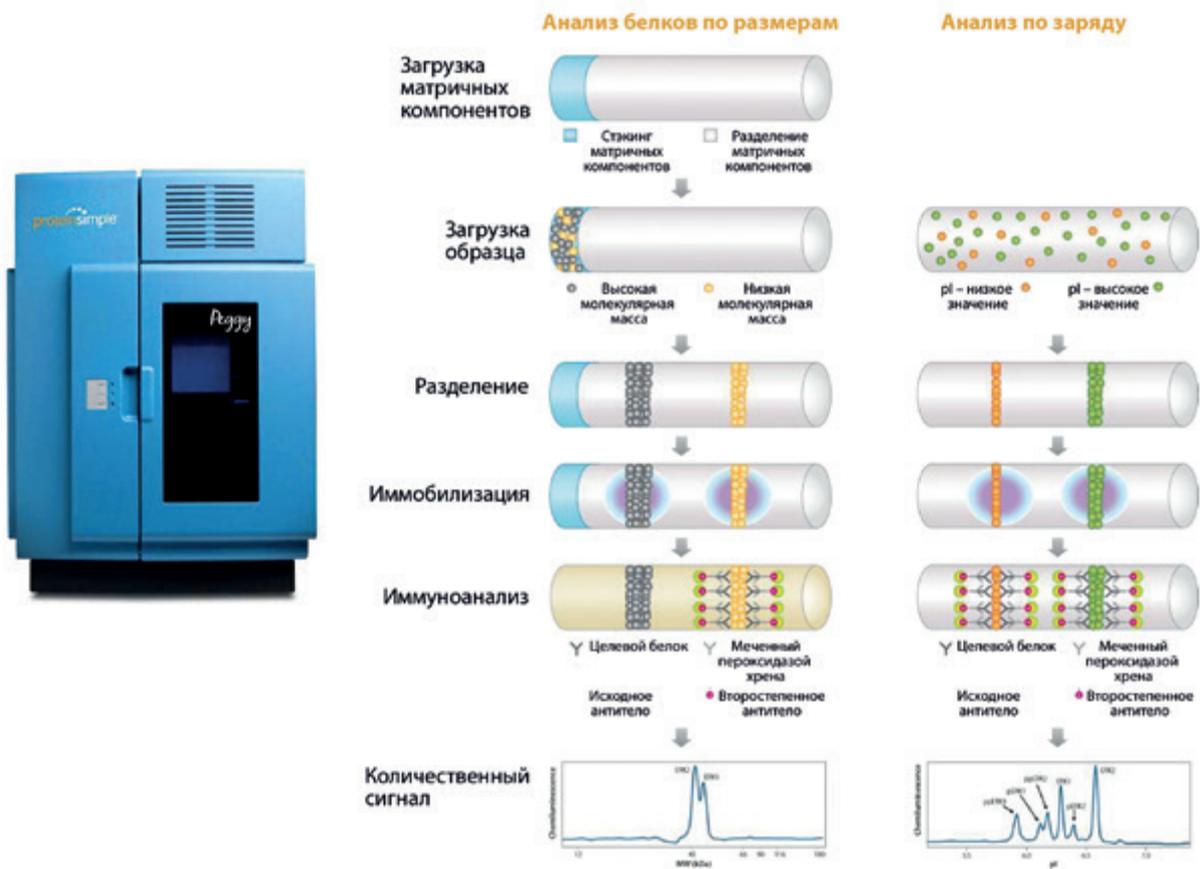


Рисунок 1. Система Peggy и этапы анализа Simple Western

- ся в составе сложных матриц или имеют низкую концентрацию.
- Прибор Peggy и методика Simple Western позволяет быстро получать воспроизводимые результаты анализа гетерогенности заряда mAb и количественного анализа.
- Сочетание методов Simple Western и КИЭФ представляет собой комплексное аналитическое решение, которое охватывает процесс фармацевтических разработок в полном объеме.

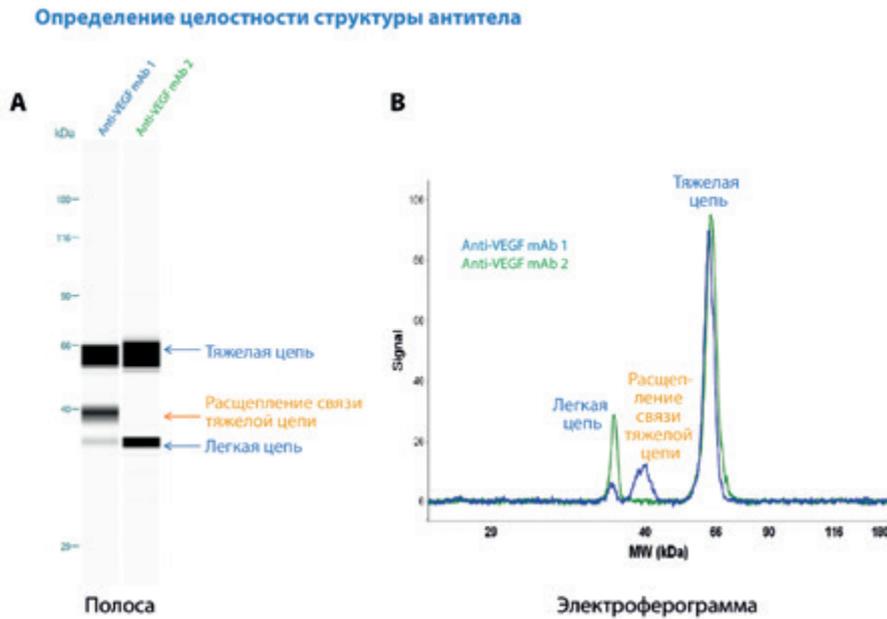


Рисунок 3. Разделение белков по размеру молекул и их обнаружение, выполненное с помощью Peggy, можно использовать для характеристики целостности антител. Два разных препарата с моноклональным антителом (mAb) к VEGF прошли процесс разделения по размеру молекул. Детектирование проводилось с использованием меченных пероксидазой вторичных антикозьих антимышиных антител (ProteinSimple) и хемилюминесцентного субстрата. При проведении количественного анализа по размеру молекул белка, выполняемого с применением методики Simple Western, было обнаружено наличие промежуточной полосы/пика между легкой и тяжелой цепями. Данные свидетельствуют о том, что это расщепление связи тяжелой цепи или неполная трансляция продукта

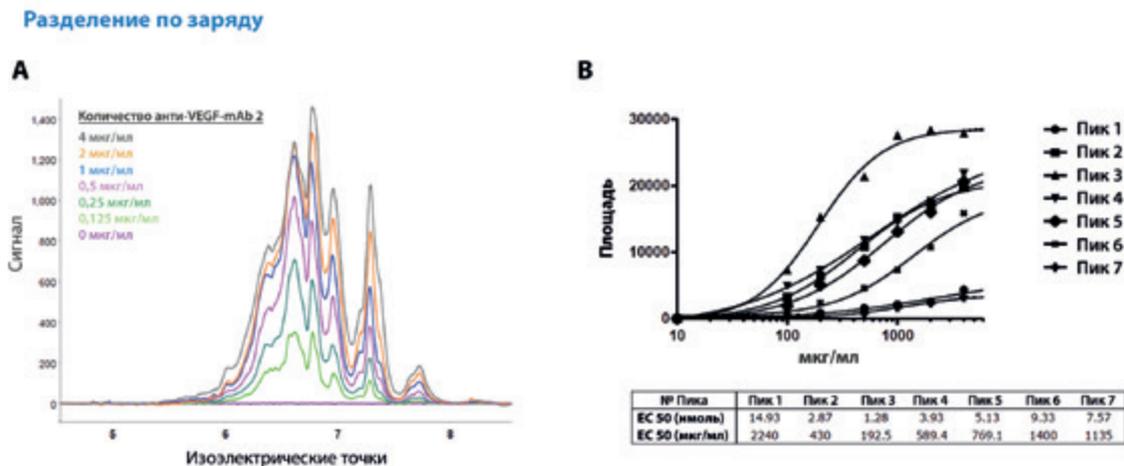


Рисунок 4. Уникальной способностью системы Peggy Simple Western является разделение вариантов целевого белка по заряду и возможность отдельно устанавливать относительное сродство идентифицирующего антитела по отношению к каждому варианту заряда. Показан профиль разделения человеческого VEGF-165 (Cell Signaling Technology, p/n 8065SF) по заряду, взятого в объеме 1 мкг/мл, и при добавлении мышиного моноклонального антитела к VEGF (Calbiochem, p/n GF25) в концентрациях, указанных на графике. Обнаружение проводили с использованием меченного пероксидазой вторичного антикозьего антимышиного антитела производства Proteinsimple. Эти результаты показывают не только количество вариантов заряда, но также дифференциальное сродство антитела по отношению к различным вариантам заряда. Под пунктом (A) показаны электроферограммы, полученные в ответ на различные концентрации антител. Под пунктом (B) показаны кривые сродства, отображающие результаты, полученные в (A)

Методы КИЭФ и Simple Western
гарантируют получение эквивалентных результатов

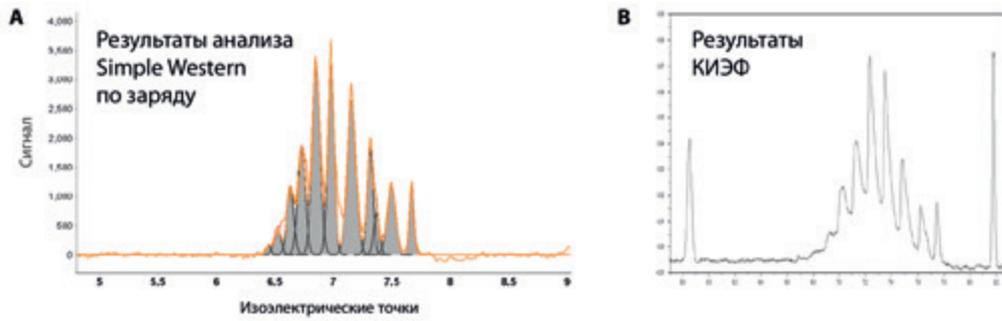


Рисунок 5. Профили разделения mAb VEGF по заряду, полученные при использовании систем Peggu (разделение по заряду по методике Simple Western) и КИЭФ, эквивалентны с точки зрения рассчитанных изоэлектрических точек (pI) и площадей пиков. Тот же самый препарат mAb VEGF был разделен либо на Peggu (режим заряда), либо на iCE3. 1,2 мкг/мл антитела VEGF использовали при разделении по заряду по методу Simple Western и 0,5 мкг/мл антитела VEGF (буфер заменен 20 мМ Tris, pH 8,8) использовали для анализа на iCE3

Обнаружение посттрансляционных изменений

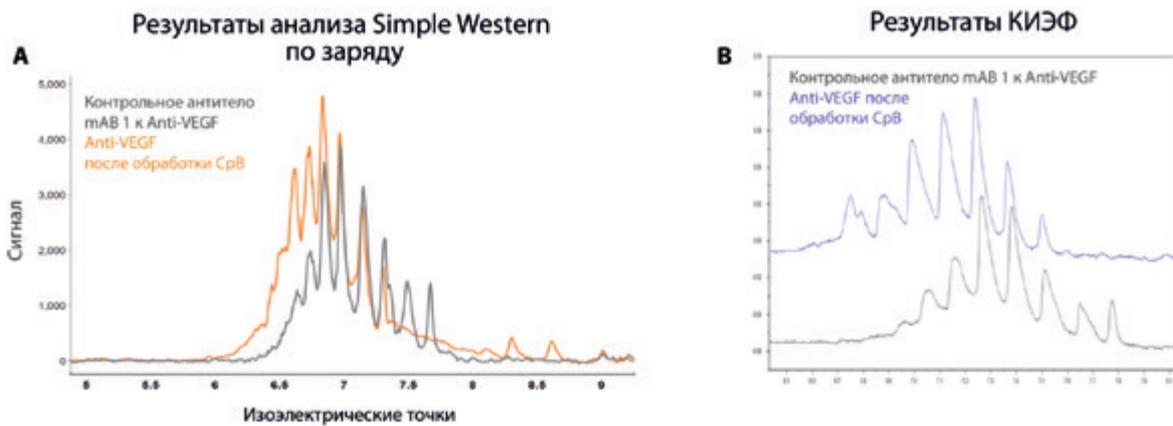


Рисунок 6. В ходе анализа и обнаружения посттрансляционных модификаций получены одинаковые и эквивалентные профили разделения белков по заряду, сгенерированные на системах Peggu и iCE3. Моноклональное антитело mAb к VEGF обрабатывали 1 единицей карбоксипептидазы (CpB) в течение одного часа при 37 °С, а затем оценивали либо на Peggu (Simple Western, анализ по заряду), либо на iCE3. При обработке CpB в профиле разделения по заряду наблюдается четкий сдвиг, а профиль по заряду и площади пиков на Peggu и на iCE3 аналогичны

Дополнительные пункты исследований и работ по фармацевтическим разработкам



Рисунок 7. Peggu и Simple Western являются идеальной платформой для разделения аналитов либо по заряду, либо по размеру в очищенных, а также низкоконцентрированных образцах на ранних этапах фармацевтической разработки. Система iCE, которая позволяет легко и точно выполнять количественное определение изоформ белка с различными зарядами, является идеальной платформой для использования на более поздних стадиях разработки фармацевтического продукта и контроля качества



РАЗРАБОТКА НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НИКОГДА ЕЩЕ НЕ БЫЛА СТОЛЬ ПРОСТОЙ И ДЕШЕВОЙ

Материал предоставлен
компанией URLINSKI

ВВЕДЕНИЕ

Компания URLINSKI вплотную подошла к проблеме, осложняющей жизнь технологам из отделов R&D, которым необходим лабораторный смеситель небольшого объема.

Новая разработка компании – лабораторный смеситель MZUTL 2 – полностью удовлетворяет потребностям отделов R&D. Максимальный рабочий объем нового смесителя составляет 2 л, а минимальный – 0,6 л. Лабораторный смеситель-гомогенизатор был с успехом протестирован в собственной лаборатории компании.

ЛАБОРАТОРНЫЙ СМЕСИТЕЛЬ MZUTL2

Смеситель-гомогенизатор с рабочим объемом 2 л по конструкции и принципу работы совпадает со всей линейкой смесителей-гомогенизаторов URLINSKI. Это означает его полное соответствие принципам scaling-up, то есть возможность масштабирования разработанных в лаборатории рецептур вплоть до их промышленного применения.

Небольшой объем смесителя – это экономия при разработке и подготовке рецептур, а возможность установки дополнительной вспомогательной оснастки дает технологам возможность более быстро и просто вводить новые продукты. Смеситель установлен на компактной мобильной конструкции из кислотоустойчивой стали, благодаря чему его легко транспортировать между помещениями. Плавная регулировка скорости работы мешалки и гомогенизатора, пневматический подъемник крышки вместе с мешалкой, управление системой нагрева и охлаждения, управление вакуумом в емкости с применением автономного водокольцевого вакуумного насоса, встроенного в смеситель, – это преимущества конструкции. Параметры работы отслеживаются и устанавливаются на сенсорной панели управления 10". Для работы смесителя нужны только следующие подключения: вода под давлением 3-4 бар, отвод в канализацию, сжатый воздух (6 бар) и электропитание 400 В/50 Гц 25 А.



Характеристики:

- смеситель, соответствующий требованиям GMP;
- внутренние и внешние поверхности смесителя отполированы до зеркального блеска, Ra≤0,5 мкм;
- элементы в контакте с продуктом изготовлены из стали 316L/316Ti;
- емкость смесителя приспособлена к работе в условиях вакуума и повышенного давления;
- рубашка нагрева-охлаждения для работы с жидкими или газообразными агентами;
- якорная мешалка со скребками из PTFE, снимающими продукт со стенок емкости, гарантирует эффективный теплообмен и отсутствие мертвых зон во всем пространстве перемешивания;
- контролируемое направление циркуляции продукта по вертикали и по горизонтали благодаря применению направляющих лопастей на волнорезе и мешалке, а также плавной регулировке скорости вращения мешалки гарантирует интенсивное и эффективное усреднение продукта в полном объеме независимо от его вязкости;
- точная индикация температуры перемешиваемого продукта;
- функция установки дельты температуры «продукт – рубашка»;
- регулировка скорости нагрева и охлаждения;
- ввод гистерезиса температуры «продукт – рубашка»;
- высокопроизводительный гомогенизатор компании URLIŃSKI с линейной скоростью до 30 м/с обеспечивает интенсивную гомогенизацию в циркуляции by-pass;
- система CIP-мойки с ротационными моющими головками;
- подсветка емкости реактора и смотровое окно со стеклоочистителем для наблюдения за ходом процесса;
- широкие возможности процессных соединений, благодаря которым технологи могут применять различные методы дозирования компонентов;
- всасывание непосредственно над гомогенизатором;
- всасывание в массу продукта;
- ввод небольших доз жидких и порошковых компонентов через патрубков на крышке;
- донный отсечной клапан, перекрывающий гомогенизатор, позволяет вести процесс только с помощью якорной мешалки;

- стандартная визуализация параметров работы с управлением с сенсорной панели 10" с возможностью архивации процессных параметров;
- контроль параметров работы и диагностика системы в режиме online через сеть Ethernet.

«ПРОВЕРЬ, ПРЕЖДЕ ЧЕМ КУПИТЬ»

Отдел исследований и разработок компании Urliński приглашает всех заинтересованных к участию в программе «Проверь, прежде чем купить». В рамках данной программы потенциальному покупателю оборудования предоставляется возможность совершенно бесплатно провести технологические тесты на процессном оборудовании производства компании Urliński. Компания располагает выделенным для этой цели лабораторным помещением, в котором находятся не только смесители, но и все необходимое для проведения испытаний. Более того, опытные технологи компании готовы оказать всестороннюю поддержку при проведении испытаний.

В испытательной лаборатории Urliński можно познакомиться с новейшими решениями, примененными в смесителях-гомогенизаторах, которые были разработаны на основе более чем 30 лет опыта в этой отрасли.

Процессное оборудование Urliński – это высшего класса смесители нового поколения, в которых инженеры-разработчики компании применяют решения, соответствующие сегодняшним требованиям фармацевтической и косметической промышленности. Каждый смеситель компании URLIŃSKI полностью отвечает самым строгим требованиям GMP и директивам GAMP, а соблюдение принципа scale-up обеспечивает соответствие нормам FDA.

«НАМ ДОВЕРЯЮТ ЛУЧШИЕ, ПРИСОЕДИНЯЙТЕСЬ И ВЫ»

Предназначенные для тестов смесители-гомогенизаторы отлично оснащены дополнительными приборами, что дает возможность проведения технологических процессов в полном диапазоне.

- ✓ Плавная регулировка скорости вращения якорной мешалки с направляющими лопастями и скребками двустороннего действия – до 2,5 м/с.
- ✓ Плавная регулировка скорости вращения гомогенизатора в диапазоне до 30 м/с.
- ✓ Система подъема крышки вместе с мешалкой.
- ✓ Плавная регулировка температуры продукта до +100 °С, рубашки – до +120 °С
- функция установки максимальной и минимальной температуры продукта и рубашки;



- функция установки дельты температуры продукт/рубашка;
- регулировка скорости нагрева/охлаждения;
- гистерезис температуры продукт/рубашка.
- ✓ Управление величиной вакуума в емкости с автономным вакуумным насосом с функцией гистерезиса.
- ✓ Разные варианты путей введения компонентов:
 - всасывание непосредственно в гомогенизатор;
 - всасывание над гомогенизатором в полость реактора;
 - всасывание в нижний by-pass в массу продукта;
 - всасывание в систему циркуляции by-pass;
 - всасывание в массу продукта через крышку;
 - дозировка небольших количеств компонентов через патрубков на крышке.
- ✓ Защищенный паролем доступ к управлению системой, калибровка системных параметров, архивация параметров процесса в соответствии с директивами GMP GAMP Annex 11.
- ✓ Просмотр параметров процесса и диагностика в режиме online через сеть Ethernet.
- ✓ Ву-pass с подогревом, дающий возможность работать с воскодержащими продуктами.
- ✓ Клапан, отсекающий гомогенизатор, благодаря чему возможен процесс перемешивания в полости реактора без участия гомогенизатора.



Международная выставка оборудования, сырья
и технологий для фармацевтического производства

International exhibition of equipment, raw materials
and technologies for pharmaceutical production

pharmtech
& ingredients

ufi
Approved
Event

20
лет · years

20–23.11.2018

Россия, Москва
МВЦ «Крокус Экспо»

Crocus Expo IEC
Moscow, Russia

Международный форум
Фармтехпром

International Forum
Pharmtechprom

21–22.11.2018



Организатор
Organised by
+7 (499) 750-08-28
pharmtech@ite-expo.ru

Забронируйте стенд
pharmtech-expo.ru



КОМПЛЕКСНЫЕ РЕШЕНИЯ ПО УПАКОВКЕ

Материал предоставлен
компанией O.M.A.R.

ВВЕДЕНИЕ

Компания O.M.A.R. Srl специализируется на проектировании и производстве автоматических блистерных машин для упаковки твердых пероральных лекарственных форм.

В ассортименте O.M.A.R. Srl представлен широкий выбор загрузочных моделей машин, разработанных с учетом новейших технологий упаковки твердых пероральных лекарственных форм. На протяжении последних лет O.M.A.R. Srl проектирует, изготавливает автоматические загрузочные системы, оснащенные префидером, вибрационными системами, загрузочным транспортом ковшового или ленточного типа, универсальной системой Full box для упаковки таблеток и капсул с вращающимися головками, встроенными аспирационными системами и системой отбраковки. Данные системы гарантируют высокопроизводительную упаковку и обладают такими важными преимуществами, как скорость, качество и надежность.



BF 50 серии R

Блистер размерами 150x100x15 мм

35 циклов в минуту

Обнаружение негерметично запаянных единиц / Автоматический подающий механизм / Камера видеоконтроля / Распределение продукции на качественную и бракованную

ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ

Медицинская промышленность и стоматология всегда находятся в поиске инновационных и полезных решений, которые могли бы модернизировать современный рынок.

Компания O.M.A.R. предлагает продуманные и грамотно спроектированные линии для упаковки стоматологических и медицинских изделий в блистеры с применением автоматических систем подачи продукта.



BF 150

Автоматическая блистерная машина для термоформования

Размер блистера 170x120x40 мм

35 циклов в минуту

Линейка машин для термоформования O.M.A.R. для упаковки вышеописанных изделий представлена полуавтоматическими и автоматическими решениями.



Материалы, используемые в процессе упаковки: ПВХ, ПВХ – ПВДХ, ПЭТ-Г, ПВХ/аклар, ПП, полибар.

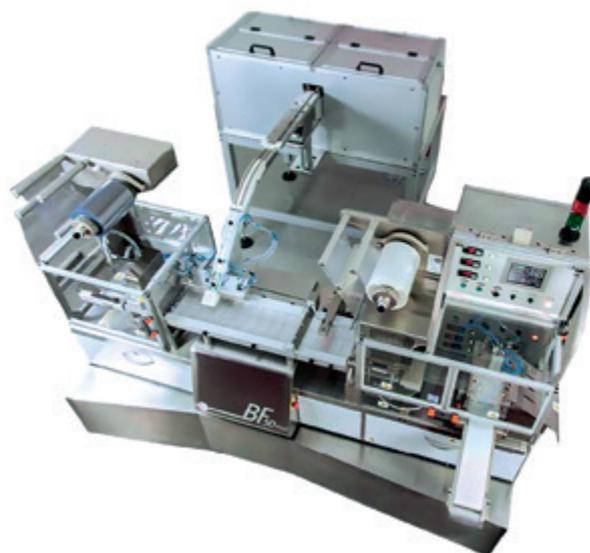
Заказчику предоставляется возможность посетить сборочный цех и своими глазами увидеть этапы производства оборудования. Все машины марки O.M.A.R. разрабатываются, изготавливаются и собираются в Италии.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНО НАПОЛНЕННЫЕ ШПРИЦЫ, АМПУЛЫ И ФЛАКОНЫ

Компания O.M.A.R. предлагает блистерные машины для термоформования со следующими характеристиками: качество блистеров значительно превосходит существующие стандарты; термоформованные углубления имеют глубину от 27 мм (модель BF 50 НТ) до 40 мм (модель BF 150).

Такие блистерные упаковочные машины используются для упаковки разных медицинских изделий, таких как шприцы, ампулы и флаконы, и отвечают всем требованиям современной медицины и стоматологии.

Для подобных изделий линия автоматической подачи играет первостепенную роль. Именно поэтому специалисты O.M.A.R. разработали аппараты с системами захвата, подъема и перемещения продукции, а также с системами управления автоматической подачи. Такие машины могут также оснащаться систе-



BF 50 НТ

Автоматическая блистерная машина для термоформования

Размер блистера 180x100x27 мм

Автоматическая подача шприцов или игл

мой контроля наличия продукта, системами центровки печати и системой отбраковки.

Для данных целей идеальным решением является использование полуавтоматических и автоматических машин для термоформования с системой подачи изделий в ходе упаковки из зоны загрузки или стерилизации. Материалы, используемые в процессе упаковки: ПВХ, ПВХ – ПВДХ, ПЭТ-Г, ПВХ/аклар, ПП, полибар.



ПРИМЕНЕНИЕ В ВЕТЕРИНАРИИ

Компания O.M.A.R. занимается изучением и анализом вопросов, связанных с упаковкой в блистеры ветеринарных препаратов в жидкой и твердой форме. При этом блистеры должны иметь специально подобранную форму и индивидуальные размеры для каждого вида продукции.

Специалисты O.M.A.R. работают над проектированием и производством упаковочных линий для жидких продуктов с использованием в зоне подачи волюметрического дозирующего насоса или перистальтической насосной системы. Системы с одним или двумя насосами интегрируются в зону подачи, при этом дизайн упаковки разрабатывается специалистами





BF 50 HT

Блистерная машина для термоформования

Размер блистера 180x100x27 мм

Увеличенная площадь для облегчения подачи жидких продуктов, перистальтические/волюметрические насосные системы

нашей команды совместно с заказчиком с учетом особенностей продукта.

Наряду с разработкой упаковки продумываются также различные решения для упрощения работы с блистером для потенциального пользователя, такие как перфорация и монодоза или легко отклеивающаяся пленка для максимально простого и быстрого открытия блистера. На конце линии могут находиться



интегрированные системы отбраковки или станции для захвата, подъема и перемещения продукции, интегрированные с упаковочной линией пользователя.

МИКРОДОЗИРОВАНИЕ

Микродозирование – это метод самостоятельного ввода лекарственных средств природного происхождения и гомеопатических препаратов. При микродозировании лекарственное средство предоставляется в минимальной дозе, которая необходима для пациента.

Компания О.М.А.Р. специализируется на изучении и разработке систем упаковки микродоз жидких и порошкообразных препаратов в блистеры с использованием автоматических линий подачи продукта.



BF 35

Блистерная машина

Фиксированный размер 100x35 мм

Встроенная система маркировки

Автоматическая подача жидкостей, капсул, таблеток

Для данного применения О.М.А.Р. предлагает полуавтоматические и автоматические термоформирующие машины. Материалы, используемые в процессе упаковки: ПВХ, ПВХ – ПВДХ, ПЭТ-Г, ПВХ/аклар, ПП, полибар.

**ИЗВЛЕЧЬ РАНЕЕ
УПАКОВАННЫЙ ПРОДУКТ?
ТЕПЕРЬ ЭТО ВОЗМОЖНО**

В процессе формования и упаковки твердых пероральных лекарственных форм в блистеры возможно изготовление блистеров, не соответствующих существующим техническим требованиям. К ним относятся блистеры с неправильной маркировкой, а также блистеры, отбракованные по причине отсутствия упакованного в них продукта.



Как решить эту проблему? Компания О.М.А.Р. предлагает широкий ряд специализированных и универсальных деблистерных машин, которые позволяют извлечь продукт. Капсулы и таблетки извлекаются при помощи специальных машин, которые представлены в различных модификациях и конфигурациях. В ассортименте О.М.А.Р. вы можете найти настольные

**F140**

Модель: универсальная деблистерная машина для извлечения продуктов

60/70 ударов в минуту

станки, полуавтоматические машины с системой ручной загрузки блистеров и с использованием вращающихся барабанов, а также полностью автоматические машины со встроенным загрузчиком.

Рекомендуемые типы блистеров, которые можно распаковать при помощи вышеописанных машин, – это блистеры, изготовленные из ПВХ и алюминия, алюминия и алюминия, с функцией защиты от детей / безопасные для детей. Все машины марки O.M.A.R. производятся в Италии.

ДЛЯ ЧЕГО МОЖЕТ ПОНАДОБИТЬСЯ ИЗВЛЕЧЕНИЕ ИЗ БЛИСТЕРОВ?



В каждой фармацевтической компании при производстве блистеров определенное количество продуктов будет отбраковываться по определенным причинам:

- из-за проблем с форматными частями;
- некорректного выхода продукта из линии;
- неправильного наполнения блистера;
- неправильной кодировки;
- использования неправильного материала.

Для безопасного извлечения упакованных лекарственных средств используются деблистерные машины.

Предположим, что для любого формата, изготовленного на автоматической блистерной машине, 5000 блистеров отбраковываются, потому что они не соответствуют требованиям. Кроме того, каждый блистер



Новая автоматическая деблистерная машина S 200

содержит 10 капсул, стоимость которых составляет около 0,03 евро. Эти капсулы не подлежат изъятию, потому что у Вас нет деблистерной машины.

Ниже приведена приблизительная калькуляция.

- 5000 (несоответствующие качества блистеров) x 10 (капсул в каждом блистере) = 50000 капсул;
- 50000 (отбракованных капсул) X € 0,03 (стоимость одной капсулы) = € 1500,00;
- € 1500,00 X 2 (при формате производства два раза в неделю) = € 3000,00.

Это означает, что вы будете в среднем нести потери в размере € 3000,00 каждую неделю ввиду того, что продукт не может быть изъят из блистера.

Новая автоматическая деблистерная машина S 200 позволит вам изымать любой тип продукта из любого типа материала. Машина окупится в течение первых четырех месяцев производства блистеров.





КАК РАБОТАТЬ С ОБЛАСТЯМИ ПЕЧАТИ, РАСПОЛОЖЕННЫМИ В СЛОЖНЫХ МЕСТАХ?

АВТОРЫ

К. Крайчев (K. Kraychev),

менеджер по продажам
Visiopharma GmbH

ВВЕДЕНИЕ

Нанесение серийных номеров на готовую продукцию является на сегодняшний день одной из самых больших проблем в фармацевтической промышленности. Для обеспечения соответствия самым новым положениям о сериализации производителями фармацевтической продукции очень нужна гибкая технология и новые профессиональные навыки. Среди различных тем и проблем имеется один актуальный вопрос, заслуживающий особого внимания: расположение области печати при нанесении номеров серий. Для того чтобы стало немного понятнее, следует для начала отметить, что основными ограничениями, представляющими большую проблему, являются место расположения и размер области печати. Мы также должны иметь в виду, что существует два варианта печати серийных номеров – они могут располагаться на клапане или не на клапане упаковки.

ПРЕИМУЩЕСТВА ОПТИМАЛЬНОГО ПОДХОДА

В нашей практике мы используем разнообразные подходы, однако конечной целью является создание такого подхода, который лучше всего подходит для выполнения конкретной задачи.

Для этого в Visiopharma разработали полезный набор критериев, отличающихся друг от друга по значимости и масштабу. Принимая эти критерии за основу, выбирают наиболее подходящие способы выполнения задачи в полном соответствии со сложностью проблемы, которую требуется решить.



ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Проектное решение

Ключевую роль в комплексном подходе Visiopharma играет бизнес-анализ (БА). Наша команда по БА и специалисты по работе с клиентами занимаются совместными исследованиями процессов, которые связаны с сериализацией. Исходя из результатов анализа, мы предлагаем целостное решение, разработанное в точном соответствии с поставленной задачей.

Валидация

В зависимости от сложности выбранного решения иногда требуется дополнительная процедура валидации. Это более простой процесс по сравнению с предстоящим аудитом потенциальных или существующих клиентов. В некоторых случаях более крупные производители, использующие услуги субподрядчиков, могут запросить проведение дополнительных процедур валидации, которые, в свою очередь, приведут к изменению проекта. Это диктует необходимость подготовки дополнительных валидационных документов.

Документация

Наряду с валидацией комплексный подход к каждому проекту является ключевым отличием Visiopharma от конкурентов. По запросу можно отказаться от подготовки документации наряду с процедурами SAT и FAT.

Скорость работы

Одним из наиболее важных критериев является скорость работы, то есть сокращение времени на упаковку продукции и, соответственно, сокращение времени на сериализацию и создание целых блоков упа-

ковок. Этот процесс называется агрегированием. Мы можем уделить этому процессу особое внимание в зависимости от сложности и типа продукции. В большинстве случаев мы предлагаем машины, имеющие достаточную производительность, для того чтобы скорость работы не вызвала проблем на протяжении всего рабочего процесса.

Цена

Это один из основных критериев, поскольку, по понятным причинам, он является одним из самых важных моментов, влияющих на процесс принятия решений. Visiopharma всегда стремится предоставлять решения по разумной цене. Мы говорим «разумной», потому что мы создаем подробные отчеты и аргументируем каждый отдельный этап или услугу. Мы считаем, что для наших клиентов это создает атмосферу прозрачности и доверия.

ВЛИЯНИЕ КЛАПАНОВ РАЗЛИЧНЫХ РАЗМЕРОВ

На протяжении многолетней практики, нарабатанной в компании Visiopharma, у нас не раз возникали нестандартные ситуации, в которых нужно было решить проблему, касающуюся расположения области печати на упаковке продукта. Как решать проблему в ситуациях, когда вам нужно и напечатать данные сериализации, и поставить пломбу для контроля первого вскрытия, но места для размещения и пломбы, и серийного номера недостаточно? Первая ситуация – это когда вам нужно напечатать данные сериализации в разных местах продукта по той причине, что клапаны на упаковке очень маленькие. В других случаях существуют вполне объективные ограничения: на некоторых продуктах имеются верхние клапаны, на которых должны печататься данные сериализации. Существуют также ситуации, когда данные должны быть напечатаны в другом месте из-за того, что клапан слишком мал. Существует несколько решений, которые клиенты могут выбрать, когда требуется сериализация.

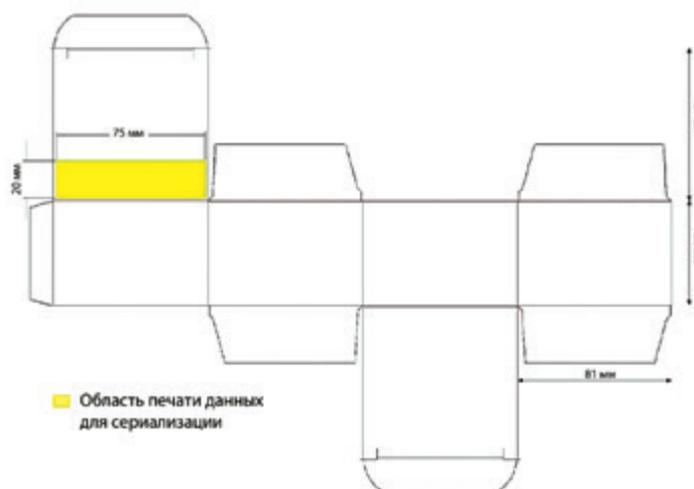
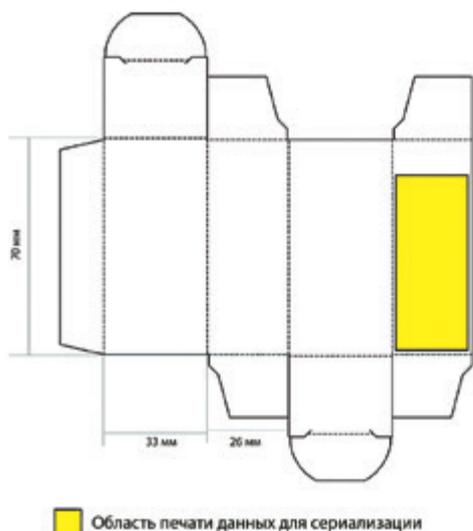
РАЗЛИЧНЫЕ РЕШЕНИЯ

Все решения являются полуавтоматическими сценариями, отличающимися скоростью исполнения, стоимостью и простотой.

Самое простое решение

Когда продукция, на которую необходимо нанести серийный номер, уже упакована, подход состоит в том, чтобы перенести ее вручную на конвейер станции сериализации. Станция наносит печатным способом серийные номера, а затем упаковки должны быть закрыты особым образом, обеспечивающим контроль первого вскрытия. В этом случае можно использовать автономную станцию сериализации, в которой нет мо-





для опломбирования упаковок. Вы просто производите сериализацию, а затем вручную запечатываете продукт, применяя элементы, обеспечивающие контроль вскрытия. Это самое простое и самое дешевое решение. Хотя скорость работы в этом случае достаточно низкая, она по-прежнему на 500% эффективнее, чем сериализация, производимая полностью вручную. Компания Visiopharma на 100% гарантирует валидность данной системы.

Комбинированное решение

Существуют особые случаи, когда необходимо напечатать данные сериализации на других сторонах упаковки продукта. Нужна комбинированная станция, которая способна выполнять операции по сериализации и ставить специальные защитные пломбы. В данном варианте после сериализации необходимо снова повторить этот процесс, изменив положение продук-

та, а затем опломбировать его. В подобном сценарии, который не отличается особой простотой, нет возможности выполнения сериализации и опломбирования в ходе одного рабочего процесса по той причине, что серийные номера и пломбы должны ставиться на продукте в разных направлениях. Это более сложное, среднее по стоимости решение имеет преимущество перед самым простым вариантом в скорости работы. Компания Visiopharma на 100% гарантирует валидность системы опломбирования.

Индивидуальное решение

Это самое быстрое и, соответственно, самое дорогое решение, потому что здесь используются две разные станции: одна для сериализации, другая – для запечатывания упаковки с контролем первого вскрытия. Вращающийся конвейер способен менять положение упаковки с одной из сторон продукта на клапан, поэтому в данном случае можно в ходе одного рабочего процесса выполнять печать серийного номера и ставить защитную пломбу на верхние клапаны.

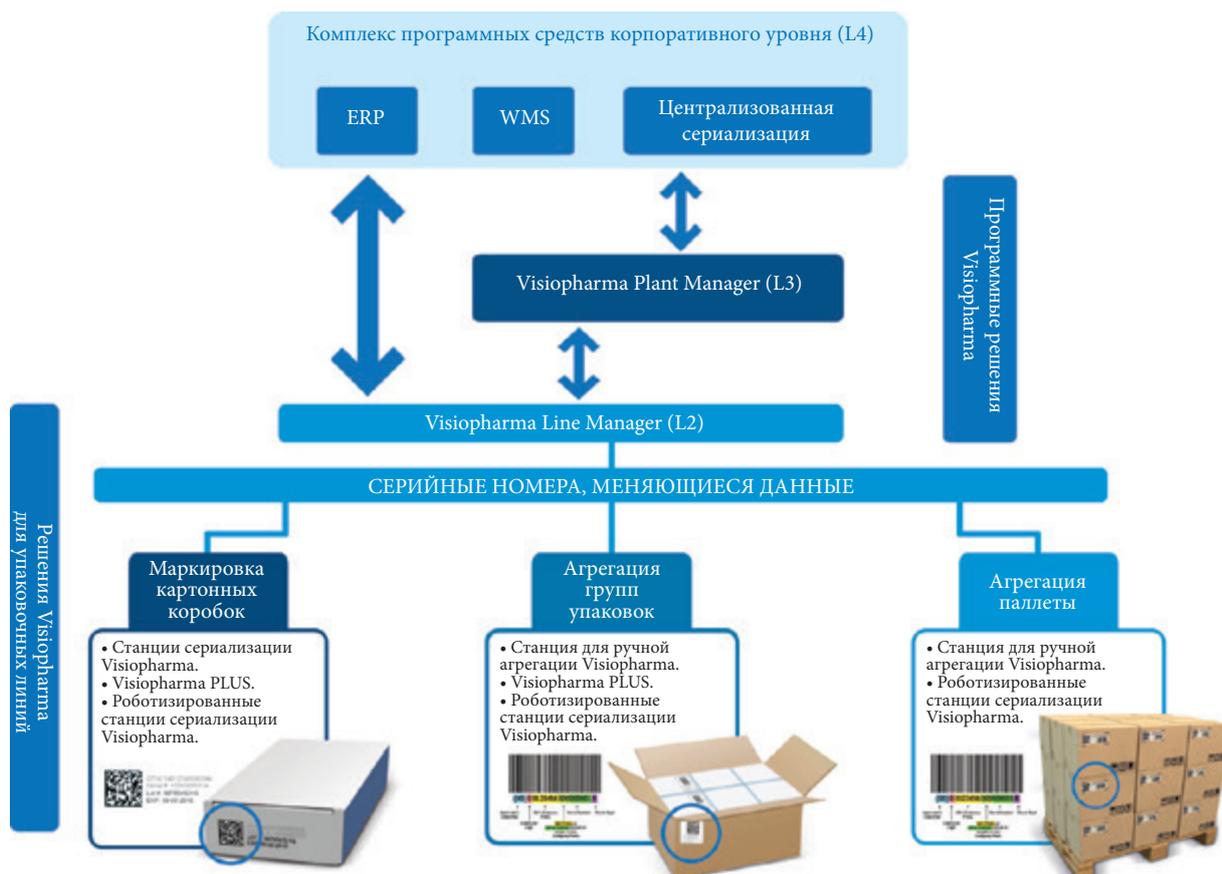
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, чтобы избежать проблем, связанных с расположением и размером области печати, вы можете изменить дизайн упаковки продукта так, чтобы размер клапана был больше и можно было бы без труда разместить на нем данные сериализации. Или вы можете выбрать оборудование подходящего типа.

Visiopharma готова предложить три различных полуавтоматических решения в зависимости от ваших потребностей.

- ✓ Решение 1. Полуавтоматическая машина для сериализации и ручное нанесение контроля первого вскрытия (самое простое решение, минимальная стоимость, 100% гарантия валидности машины от Visiopharma).





✓ Решение 2. Полуавтоматическая машина для сериализации и автоматическое нанесение контроля первого вскрытия в одной машине (более сложное решение, средняя стоимость, средняя скорость – быстрее, чем Решение 1, машина для сериализации и нанесения контроля первого вскрытия является на 100% валидируемым решением).

✓ Решение 3. Полуавтоматическая станция сериализации, модуль вращения (для смены направления продукта) и машина для нанесения контроля первого вскрытия (наиболее сложное решение, высокая стоимость, высокая скорость, система сериализации и нанесения контроля первого вскрытия является на 100% валидируемым решением).



Решение	Описание	Сравнение стоимости
1	VISIOPHARMA IJS-200 станция сериализации	100%
2	VISIOPHARMA STE-210 станция сериализации и нанесения контроля первого вскрытия	180%
3	Индивидуальное решение: <ul style="list-style-type: none"> • VISIOPHARMA IJS-200 станция сериализации • Вращающийся конвейер • VISIOPHARMA TE-100 • VISIOPHARMA L2 комплект документов • VISIOPHARMA L2 сервисный комплект 	



ПРИМЕНЕНИЕ СИТ VIBROWEST ПРИ РАБОТЕ С ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ ПОРОШКАМИ

Материал предоставлен
компанией Vibrowest

ВВЕДЕНИЕ

Компания Vibrowest стремится в полной мере удовлетворять растущие потребности фармацевтической промышленности, в связи с чем ассортимент просеивающего и фильтровального оборудования Vibrowest непрерывно совершенствуется. Все фармацевтические сита изготавливаются из нержавеющей стали марки **316L**, а поверхности деталей, контактирующие с фармацевтическим продуктом, зеркально отполированы (**Ra** составляет **0,1**), что отображено в соответствующем сертификате. Высококачественная поверхность наряду с легко производимым демонтажем деталей гарантирует простоту и гигиеничность очистки.

Наши фильтровальные и фармацевтические сита с успехом применяются для контрольного просеивания фармацевтических порошков до и после смешивания, сортировки после гранулирования и обеспыливания таблеток. Компания сотрудничает с крупными производителями лекарственных препаратов, используя их знания и опыт для разработки более эффективных, гигиеничных и более простых в эксплуатации систем по сравнению с аналогичными системами, производимыми конкурентами. Это крайне важно для обеспечения качества продукции в пищевой, фармацевтической, химической промышленности и при производстве пластмасс. Благодаря применению систем фильтрации Vibrowest полностью исключается порча конечного продукта вследствие попадания инородных материалов и загрязнения продукта до, во время и после окончания производственного процесса. Являясь важным элементом наших конвейерных систем, фильтровальные системы в значительной степени способствуют обеспечению качества.

Вспомогательные вещества – лактоза, крахмал и микрокристаллическая целлюлоза (МСС) регулярно используются в твердых лекарственных формах, предназначенных для приема внутрь, таких как таблетки, капсулы или порошки в пакетиках саше.



ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Использование наших фармацевтических вибросит гарантирует высокое качество конечного продукта, удаляя любые крупные загрязняющие вещества или нежелательные частицы природного происхождения из применяемых вспомогательных веществ.

ПРЕИМУЩЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СИТ VIBROWEST

- Легкая очистка и восстановление компонентов.
- Низкий уровень шума.
- Сокращение времени, требуемого для технического обслуживания.
- Наличие сертификатов IQ, OQ, PQ.
- Сертификат АТЕХ.
- Общее содержание пыли во время просеивания.
- Имеется система безразборной мойки (CIP) с шаровыми кранами. Она применяется при работе с сильнодействующими АФИ (ВАФС).

Сита Vibrowest могут использоваться для фильтрации жидких фармацевтических продуктов с целью удаления нерастворенных частиц.

Промышленные фармацевтические вибросита используются на предприятиях многих стран мира. Они помогают ускорить процесс контроля качества, обеспечивая при этом улучшенные показатели безопасности и снижая эксплуатационные затраты.



ПРИМЕНЕНИЕ СИТ VIBROWEST ПРИ РАБОТЕ С ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ ПОРОШКАМИ

Вибросито Vibrowest было установлено на фармацевтическом предприятии при расширении мощностей компании для производства парацетамола. Фармацевтическая компания является известным игроком фармацевтического рынка Италии и ранее уже сотрудничала с Vibrowest по вопросу поставки высокопроизводительных фильтровальных машины.

Имея более, чем 50-летний опыт поставок фармацевтического оборудования в разные страны мира, мы проанализировали уникальные требования, предъявляемые данным клиентом, и отправили ему два вибросита диаметром 914 мм и ультразвуковую систему разделения порошков GLOBAL. Машина **MSC** предназначена для контрольного просеивания фармацевтических порошков и является высокопроизводительным аппаратом, обеспечивающим более высокую пропускную способность в сравнении с существующими на рынке аналогичными машинами. Закрытая система идеально подходит для условий фармацевтического производства, поскольку она обеспечивает полную защиту оператора, не допуская попадания любых вредных испарений или пыли в производственное пространство. Высококачественные части из нержавеющей стали, с которыми контактируют фармацевтические вещества, легко чистятся. Устройство можно легко демонтировать и собрать без использования специальных инструментов.

Вследствие свойств и характеристик АФИ при просеивании порошков ячейки сетки сита могут забиваться, что приводит к дополнительным эксплуатационным затратам. Установка сита Vibrowest в ультразвуковую систему разделения порошков **GLOBAL** гарантирует, что порошки будут просеиваться с помощью более мелких сеток без снижения скорости просеивания.





КОМПЛЕКСНЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ РОЗЛИВА И УКУПОРКИ

Материал предоставлен
компанией IMACO Group

ВВЕДЕНИЕ

Компания IMACO Group производит широкий перечень оборудования для различных отраслей промышленности: химическая, фармацевтическая, косметическая, пищевая. Ассортимент производимого оборудования включает разливочные машины, автоматические укупорочные машины, этикетировочные системы, машины для наполнения и запайки туб, а также комплексные разливочные и упаковочные линии. IMACO Group была основана в Чехии в 1997 году. На сегодняшний день компания произвела более 1000 машин, которые успешно функционируют более, чем в 30 странах во всем мире. Специалисты проектного департамента компании плотно взаимодействуют с заказчиком в ходе разработки проекта, реализуя



индивидуальные потребности клиентов. Основная механическая и электрическая поддержка машин осуществляется собственной инженерной группой IMACO Group.

Топовой моделью в линейке машин для розлива и укупорки IMACO Group является **моноблок для розлива и укупорки Spectrum**. Машина отличается высокой производительностью и идеально подходит для розлива жидкостей в бутылки/флаконы малого объема и укупорки их различными видами крышек. Машины Spectrum могут применяться для работы с агрессивными и легковоспламеняющимися продуктами. В зависимости от задачи машина может комплектоваться различными системами подачи пробок и крышек, в том числе распылительными крышками и капельницами.

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАШИНЫ SPECTRUM

- ✓ Механический кулачковый привод.
- ✓ Линейная и угловая версии входного и выходного конвейеров.
- ✓ Производительность до 3600 шт/час; PLC и HMI управление.
- ✓ Фармацевтическое исполнение (части, контактирующие с продуктом, изготовлены из AISI 316L) согласно GMP и EN 10204-2.2.

- ✓ Серво-мотор укупорочной головки с регулируемым вращением и различными режимами укупорки.
- ✓ Доступны различные виды дозирующих систем (санитарные керамические насосы, объемные насосы, перистальтические насосы, шестеренные насосы).
- ✓ Контроль и проверка функций (наличие бутылки, крышки, подкрышки, извлечение дефектной бутылки).
- ✓ Форматные детали для различного типа бутылок; множество доступных опций.
- ✓ Машина может быть снабжена 2–4 разливочными форсунками, в зависимости от требуемой производительности.

Также доступны различные виды сортировщиков для пробки/крышки/колпачка:

- роторный сортировщик;
- система «водопада»;
- вибrotchаша.

Специально для фармацевтического применения все детали, контактирующие с продуктом изготавливаются из стали марки AISI 316L с полировкой поверхности Ra<0,4, что облегчает их мойку, снижая риск



контаминации и перекрестного загрязнения. Все применяемые детали и комплектующие также имеют фармацевтическое исполнение.

Разливочная группа машины оснащена 2 или 4 разливочными форсунками с пневматическим закрытием (рисунок 1). Количество разливочных позиций зависит от параметров продукта.

Розлив обеспечивается с помощью объемных насосов (стандартно) с возможностью выбора различных видов дозирующих устройств в соответствии со свойствами жидкости.



Рисунок 1. Модуль розлива машины Spectrum

Укупорочная группа. Стандартно машина оснащена одним сервоприводом укупорочной головки, при необходимости возможно изготовление машины с несколькими сервоприводами (рисунок 2). Укупорочная станция подходит для укупорки винтовыми крышками, различными аппликаторами, пробками, распы-



Рисунок 2. Укупорочная группа с сервоприводом

лителями, индукционной запайкой и горячей сваркой для крышек с алюминиевой крышкой (с использованием индукционной запайки).

Для каждой крышки и подкрышки сконструировано специальное техническое решение и форматные детали.

Для ориентации крышек используется вибрационный ориентатор крышек в соответствии с параметрами крышки и потребностями. Для простых крышек может быть использован роторный ориентатор.

Для легкой перестройки машины под другой формат бутылки и крышки используется набор форматных деталей для различных видов бутылок и крышек.

Преимущества моноблока для розлива и укупорки Spectrum для фармацевтического применения

- фармацевтическое исполнение машины, включая все детали и комплектующие;
- розлив малых объемов до 1 литра;
- возможность предварительной укупорки пробками;
- детали, контактирующие с продуктом, выполненные из нержавеющей стали AISI 316L;
- легкая очистка;
- простая перестройка машины под другой формат: бутылки/флаконы и пробки/крышки/колпачки;
- укупорка различными видами крышек, помпами, распылителями, пипетками, алюминиевыми крышками, подкрышками и т.д.

Дополнительные опции

- ✓ Впрыскивание инертного газа до и/или после розлива.
- ✓ Станция ионизированной очистки воздуха с насосной станцией.
- ✓ Отбраковка дефектных бутылок.
- ✓ Входной/выходной столы.
- ✓ Подъемные конвейеры для крышек.
- ✓ Станция индукционной запайки.
- ✓ Контрольные весы на выходном конвейере.
- ✓ Доступно в ATEX версии.

В линейке производимого оборудования IMACO Group представлены также машины для розлива, автоматические укупорочные машины, системы для нанесения этикетки, машины для наполнения и запайки труб, а также комплексные решения.

МАШИНЫ ДЛЯ РОЗЛИВА

Линейные наполнители изготавливаются с несколькими видами дозирующих устройств, выбранных в соответствии с требованиями клиента:

- ✓ Расходомер (массовый или магнитный).
- ✓ Объемные насосы (нержавеющая сталь, стекло, пластик).
- ✓ Перистальтические насосы.
- ✓ Шестеренные насосы.

Разливочная машина может быть оборудована 1–16 шт разливочными форсунками в соответствии с требуемой производительностью.



образом используются для розлива пастообразных и кремообразных продуктов.

Оборудование поставляется со следующими видами дозаторов:

- ✓ Объемный насос (SS насос).
- ✓ Перистальтический насос.
- ✓ Шестеренный насос.

УКУПОРЧНЫЕ МАШИНЫ

Укупорочные машины производятся в линейной и ротационной версиях для укупорки пластиковых и стеклянных бутылок и банок данными видами крышек:

- ✓ Винтовые (screw-on).
- ✓ Плотно надеваемые (press-on).
- ✓ Винтовые металлические (twist off).
- ✓ Пильфер-пруф (pill proof).

При производстве укупорочных машин применяется множество современных технологий, например, кулачковый механизм, обеспечивающий движение машины; магнитная укупорочная головка с регулируемым моментом затяжки; различные виды укупорочных головок; подающее плечо и т.д.

НАПОЛНЕНИЕ И ЗАПАЙКА ТУБ

Тубонаполняющие машины сконструированы для наполнения и запайки металлических (алюминиевых), ламинированных и пластиковых туб. Машины главным





- ✓ Дозирующее устройство Nibar для очень малых объемов.
- ✓ Объемный насос с экструдером для очень вязких продуктов.

КОМПЛЕКСНЫЕ РАЗЛИВОЧНЫЕ ЛИНИИ

Разливочные линии обычно состоят из разливочной, укупорочной и этикетировочной машин с дополнительным оборудованием: дополнительные конвейеры, входные и выходные столы, подъемные конвейеры и т.д.

Оборудование предназначено для розлива продуктов в различных отраслях промышленности:

- ✓ Соевый соус, пищевые масла.
- ✓ Сиропы и фруктовые соки.
- ✓ Кетчупы, горчица, майонез, джемы.
- ✓ Шампунь, кондиционеры, крема, жидкое мыло, лосьоны для тела.
- ✓ Чистящие средства, моющие средства.
- ✓ Химикаты (кислоты, щелочи), чернила, краски.
- ✓ Моторные масла, тормозные жидкости, антифризы.



Посетите стенд B217 компании IMACO Group на крупнейшей выставке в области упаковки в России – RosPack 2018 (павильон № 3, зал 15). Специалисты Компании расскажут Вам о новинках и акциях 2018 года, а также познакомят с принципом работы и особенностями наиболее востребованных моделей машин для фармацевтического применения. В частности, на стенде IMACO Group будет продемонстрировано комплексное решение для розлива с последующим нанесением этикетки.

Линия состоит из накопительного стола, машины для розлива во флаконы Spectrum, бункера для продукта, конвейера, этикетировочной машины Proxima и приемного стола.





«ФАРМКОНТРАКТ ИНЖИНИРИНГ»

Проектирование и строительство производственных предприятий для фармацевтической промышленности любой сложности по стандартам cGMP

ГЕНПОДРЯД

сертификат ИСО 9001-2011
(ISO 9001:2008)

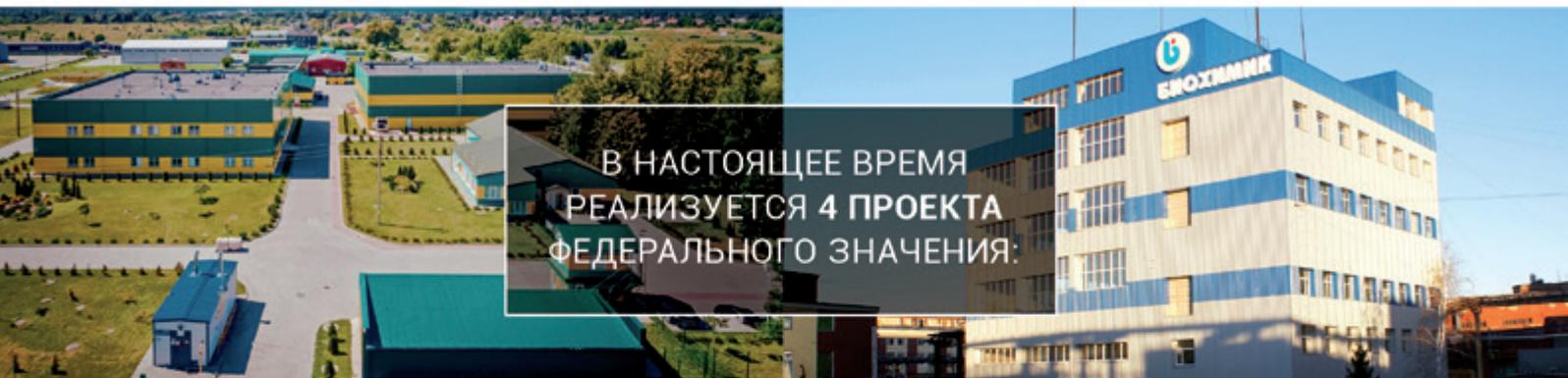
ПОЛНЫЙ ЦИКЛ РАБОТ «ПОД КЛЮЧ» ОТ ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПЕЦИАЛИСТОВ

СОПРОВОЖДЕНИЕ ПРОЕКТА:

- Эскизный проект, Мастер-план, Вариантное проектирование, Комплексная разработка проекта
- Согласование проектной документации для организации производства
- DQ квалификация проектной документации для подтверждения соответствия проекта и здания стандартам GMP
- Разработка нескольких вариантных проектов решений, ТЭО и выбора наиболее соответствующего заданным производственным мощностям вариантов

УПРАВЛЕНИЕ ПРОЕКТОМ:

- Управление процессами закрепленным за проектом КАМом, полное документальное сопровождение проекта
- Управление сроками в формате календарного плана от получения заявки и составления договора до проведения валидации и сдачи объекта
- Управление финансами: отслеживание исполнения бюджета в режиме реального времени
- Управление качеством



В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ
РЕАЛИЗУЕТСЯ 4 ПРОЕКТА
ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗНАЧЕНИЯ:



Цех по производству фармацевтической субстанции «Мирамистин» («Инфамед К»)

Реконструкция и оснащение оборудованием 7, 9, 15 и 26 корпусов ПАО «Биохимик» общей площадью более 30 тыс. м²

ФАРМКОНТРАКТ ИНЖИНИРИНГ: ВМЕСТЕ МЫ СОЗДАЕМ БУДУЩЕЕ РОССИЙСКОЙ ФАРМАЦЕВТИКИ!

Лицензия на проведение работ с использованием сведений составляющих гостайну № 27688 от 20.01.2016

Свидетельство СРО № 4204.01-2017-7724838223-П-192 от 24.01.2017

Решения для производства и упаковки мягких желатиновых капсул

от приготовления желатина, наполнения и производства мягких желатиновых капсул до упаковки в блистеры, пакет или картонную коробку.

SV-3000

Автоматическая сервоприводная машина для наполнения капсул разного размера и формы



SVC-100

Первичная упаковка в коробки/пачки

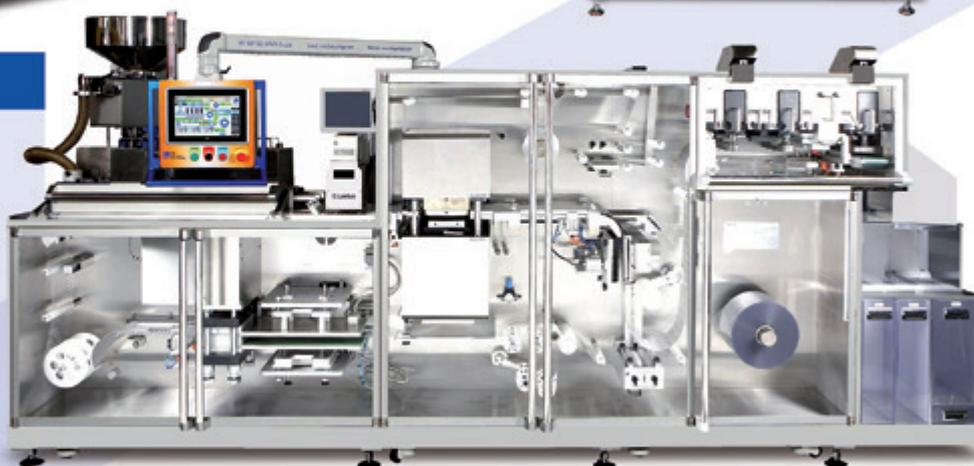


SVB-4000/5000/6

Производительность от 400 до 600 блчстеров/мин

Материал для формирования блистера: ПВХ, ПВДХ, ACLAR, Al фольга

Материал для закапывания блистера: ALU фольга, бумага/ALU



Автоматическая упаковка в пакеты

Скорость фасовки: до 6 тыс. капсул в минуту

* система печати для маркировки



SAB 527

Счетно-фасовочная машина

Фасовка до 120 банок/мин или до 12 000 лекарственных форм в минуту



SMC-527S

Решения от SKY Softgel – это конкурентоспособная цена, высочайшее качество и непревзойденный уровень сервиса.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

К публикации принимаются законченные оригинальные работы (до 25 машинописных страниц, включая иллюстративный материал и список литературы), рассматривающие экспериментальные исследования в области фармацевтической технологии и разработки, вопросы оценки качества, эффективности, безопасности воспроизведенных и оригинальных лекарственных средств и регистрации лекарственных средств.

Журнал также публикует предлагаемые авторами и одобренные редакционной коллегией обзорные статьи по актуальным проблемам фармацевтической технологии, разработки и регистрации лекарственных средств (до 40 машинописных страниц, включая иллюстративный материал и список литературы).

Работы приоритетного характера (1-3 машинописные страницы), содержащие не более 3 иллюстраций, публикуются в виде коротких сообщений.

Текст статьи должен быть представлен в редакцию на адрес электронной почты: info@pharmjournal.ru, набранным в текстовом редакторе MS Word версии не ниже 2003. Название файла – фамилия первого автора. Редакция не несет ответственности за содержание и достоверность представленного материала.

Первая страница статьи начинается с УДК и названия статьи на русском языке, напечатанного заглавными буквами по центру. Далее следует список авторов на русском языке. Для каждого автора указываются инициалы и фамилия, сначала пишутся инициалы, потом фамилия автора. Инициалы отделяются от фамилии автора одинарным пробелом. Затем следуют точные названия и адреса (с обязательным указанием почтового индекса) всех учреждений (с цифровой пометкой, где работает каждый из авторов), звездочкой в верхнем регистре помечен автор, ответственный за переписку (* – ссылка на телефон и адрес электронной почты). Редакция не несет ответственности за искаженное воспроизведение имен собственных, допущенное по вине автора.

Затем приводится краткое резюме статьи (**Резюме**) на русском языке (не более 100 слов). Далее следуют ключевые слова (**Ключевые слова:**) (не более 6) на русском языке.

Далее в том же порядке: название статьи заглавными буквами по центру, список авторов с указанием точных названий и адресов с почтовым индексом всех учреждений/организаций (также с цифровой пометкой в верхнем регистре, указывающей, где работает каждый из авторов), краткое резюме (**Abstract**) и ключевые слова статьи (**Keywords:**) в переводе на английский язык.

Текст экспериментальной статьи и коротких сообщений должен быть разбит на разделы: 1) ВВЕДЕНИЕ; 2) МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ; 3) РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ; 4) ЗАКЛЮЧЕНИЕ; 5) ЛИТЕРАТУРА (все буквы в названиях разделов - заглавные).

Все сокращения и аббревиатуры, использованные в тексте статьи, должны быть расшифрованы (либо при первом употреблении в скобках, либо в конце статьи в списке сокращений). Расшифровка сокращений и аббревиатур иноязычных терминов должна быть представлена на языке оригинала.

Правила набора. Интервал между словами должен быть один пробел, перенос слов не делать, текст

набирается шрифтом Times New Roman, 14 кеглем через полтора интервала. Название статьи набирается заглавными буквами полужирным шрифтом, инициалы и фамилии авторов – полужирным шрифтом. При обозначении единиц измерения должна использоваться система единиц СИ. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств. При описании в работе результатов клинических исследований необходимо привести номер и дату разрешения на проведение клинического исследования согласно Реестру выданных разрешений на проведение клинических исследований лекарственных препаратов. При описании используемых общелабораторных реактивов следует приводить их наименование, класс чистоты, фирму-производитель и страну происхождения. При описании специфических импортных реактивов необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива. При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производитель, страну происхождения, серию и срок годности. При описании используемых стандартных образцов приводить количественное содержание активного вещества в стандартном образце, фирму-производитель, страну происхождения, серию и срок годности. Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии – группировочного или химического названия. Числовые данные необходимо указывать цифрами, в десятичных дробях использовать запятые. Математические и химические формулы писать четко, с указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов. К статье может быть приложено необходимое количество таблиц и рисунков. Все таблицы и рисунки должны иметь номер и название, текст статьи должен содержать ссылку на них.

К статье необходимо приложить список всей цитируемой литературы, оформленный в соответствии с действующим ГОСТ Р 7.0.5-2008. В тексте статьи следует указывать номер ссылки в квадратных скобках цифрами в соответствии с пристатейным списком литературы. Ссылки нумеруются в порядке цитирования. Перед списком указывается ЛИТЕРАТУРА прописными буквами. Список литературы должен представлять собой полную затекстовую ссылку. Для книг и сборников указываются точные названия по титульному листу, место и год издания, страницы; для нормативных документов – тип документа и принявший его орган (постановление Правительства Российской Федерации, приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации и т. п.), дата утверждения, номер и точное название. Для журнальных статей указываются фамилия и инициалы авторов, полное название статьи, название журнала, год, номер выпуска, номера страниц.

Решение о публикации принимает редакция. Редакция журнала оставляет за собой право вносить стилистические изменения, не искажающие смысл. Корректура не высылается.

Образец оформления статей, примеры сокращения единиц измерения и оформления ссылок представлены на сайте журнала: www.pharmjournal.ru.

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Журнал выходит 1 раз в квартал

АНКЕТА ПОДПИСЧИКА

Фамилия: _____

Имя: _____

Отчество: _____

Предприятие: _____

Должность: _____

Отдел: _____

Необходимое количество экземпляров журнала: _____

Телефон: _____

Факс: _____

E-mail: _____

Почтовый индекс: _____

Город, район, область: _____

Адрес: _____

Пожалуйста, отметьте один или несколько вариантов

<p><i>Наиболее интересные для Вас разделы:</i></p> <p><input type="checkbox"/> Новые методики анализа</p> <p><input type="checkbox"/> Регистрационные вопросы</p>	<p><i>Какие материалы вы хотели бы видеть в следующих номерах:</i></p> <p><input type="checkbox"/> Практические пособия выполнения анализов</p> <p><input type="checkbox"/> Новости фармацевтической отрасли</p> <p><input type="checkbox"/> Пути решения трудностей при регистрации</p> <p><input type="checkbox"/> Аналитические статьи и обзоры</p> <p><input type="checkbox"/> Оборудование для разработки и анализа</p>
<p><i>Нужно ли размещать тематические рекламные блоки в журнале:</i></p> <p><input type="checkbox"/> Да</p> <p><input type="checkbox"/> Нет</p>	<p><i>Ваши предложения и пожелания:</i></p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

ВНИМАНИЕ! Почтовая доставка за пределы России, в т.ч. страны ЕАЭС, ЕС, а также Украину, Узбекистан, Туркменистан **платная**.

* Отсканированную копию заполненной анкеты необходимо выслать на электронный адрес редакции:

info@pharmjournal.ru или на почтовый адрес:

115054, Москва, ул. Дубининская, д. 57, стр. 2, оф. 2.306.

Также Вы можете оформить подписку на нашем сайте в разделе «Подписка»: **www.pharmjournal.ru**

Благодарим Вас за неоценимый вклад в развитие Журнала!