

# РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ВНЕСЕН В ПЕРЕЧЕНЬ

ВАК Scopus®

RESEARCH &amp; PRODUCTION JOURNAL

DRUG DEVELOPMENT &amp; REGISTRATION

**АВРОРА**  
ТЕХНОЛОГИИ ИЗМЕРЕНИЙ

Универсальный детектор  
заряженных аэрозолей  
**Corona Veo (Thermo Scientific)**



- ✓ Подходит к системе ВЭЖХ/УВЭЖХ любого производителя.
- ✓ Для разработчиков и производителей вакцин и фармпрепаратов.
- ✓ Мгновенная детализация состава, стабильности, примесей и продуктов разложения.
- ✓ Создан для определения безхромовых аналитов



Узнай больше на [www.avrora-analyt.ru](http://www.avrora-analyt.ru) и [thermo@avrora-lab.com](mailto:thermo@avrora-lab.com)

Официальный дистрибьютор Thermo Scientific в России — компания «АВРОРА»



ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») – сертифицированный по требованиям GLP (ГОСТ 33044-2014) лабораторный центр, выполняющий высококачественные исследования в области разработки и контроля инновационных и воспроизведенных лекарственных средств, что является крайне актуальным с учетом действующих государственных программ развития фармацевтической промышленности (Фарма-2020)

#### Основными видами деятельности центра являются:

- биоаналитические исследования (аналитический этап исследований биоэквивалентности, доклинических исследований и 1 фазы клинических исследований) хими-фармацевтических лекарственных средств, нано-препаратов и препаратов-биоаналогов;
- сравнительный тест кинетики растворения (моделирование высвобождения лекарственных средств в желудочно-кишечном тракте в условиях *in vitro*);
- статистическая обработка результатов биоаналитических исследований и описание фармакокинетики препаратов;
- разработка, валидация и апробация методик анализа лекарственных средств



#### Область сертификации:

- научно-исследовательская работа;
- проведение биоаналитических исследований;
- проведение фармакокинетических исследований;
- проведение СТПК (сравнительного теста кинетики растворения)



ООО «ЦФА»  
117246, город Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 3

Тел.: +7 (499) 281-81-11  
www.cpha.ru E-mail: info@cpha.ru

Система менеджмента ООО «ЦФА» сертифицирована по требованиям стандартов: GLP (ГОСТ 33044-2014) в системе Сертификации Русского Регистра, свидетельство Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт), № Сертификата 19.1198.026 от 18 июля 2019 г. Сертификат действителен до 3 августа 2022 г.; ГОСТ Р ИСО 9001:2015 в системе Ассоциации по сертификации «Русский Регистр» с аккредитацией Федеральной службы по аккредитации РФ (Росаккредитации), № Сертификата 18.1497.026 от 5 сентября 2018 г. Сертификат действителен до 5 сентября 2021 г.; международного стандарта ISO 9001:2015 в системе Сертификации Русского Регистра, участника международного форума по аккредитации IAF, сертификат соответствия единого образца IQNet, № Сертификата 18.1498.026 от 5 сентября 2018 г. Сертификат действителен до 5 сентября 2021 г. Область сертификации: научно-исследовательская работа, проведение биоаналитических исследований, проведение фармакокинетических исследований, проведение СТПК (сравнительного теста кинетики растворения), определение противоязвенных антител к биологическим лекарственным препаратам.



## **РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Научно-производственный журнал

**2021. Том 10, № 3**

## **DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION**

Research & production journal

**2021. Volume 10, No. 3**

## Цели и задачи журнала

Научно-производственный рецензируемый журнал «**Разработка и регистрация лекарственных средств**» – актуальное бесплатное ежеквартальное прикладное издание и информационный портал для специалистов, задействованных в сфере обращения лекарственных средств. Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений. Основная цель журнала – обобщение научных и практических достижений в сфере разработки и регистрации лекарственных средств, повышение научной и практической квалификации специалистов сферы обращения лекарственных средств. Основные **пять тематических разделов** журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» включают цикл развития лекарственного средства от его создания до получения регистрационного удостоверения.

**Первый раздел** посвящен поиску и разработке новых лекарственных средств.

**Второй раздел** – фармацевтической технологии и рассматривает научные и практические направления, от разработки и производства исходных фармацевтических ингредиентов, технологий и оборудования до создания стандартных и терапевтически эффективных лекарственных препаратов.

**Третий раздел** описывает аналитические методики контроля качества.

**Четвертый раздел** посвящен подходам к оценке эффективности и безопасности лекарственных средств, проведению доклинических и клинических исследований.

В **пятом разделе** рассматриваются вопросы валидации методик, подготовки регистрационного досье, жизненный цикл лекарственного препарата в ГхР-окружении. Журнал принимает к рассмотрению обзорные и экспериментальные статьи по данной тематике. К публикации в журнале приглашаются как отечественные, так и зарубежные исследователи в области разработки и регистрации лекарственных средств.

## Главный редактор

**Шохин И. Е.**, д. фарм. н., генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», Москва, Россия

## Заместители главного редактора

**Хуторянский В. В.**, к. х. н., Prof., BSc MSc PhD MRSC, School of Pharmacy, University of Reading, Рединг, Великобритания

**Муштафин Р. И.**, к. фарм. н., директор Института фармации ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань, Республика Татарстан

**Скорик Ю. А.**, доц., к. х. н., руководитель лаборатории природных полимеров Института высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия

## Редакционная коллегия

**Аммур Ю. И.**, к. биол. н., зав. лабораторией экспериментальной иммунологии ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия

**Белоусов М. В.**, профессор, д. фарм. н., заведующий кафедрой фармации ФПК и ППС ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

**Боян Салия**, Assist. Professor, PhD, University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Белград, Сербия

**Василенко И. А.**, проф., д. х. н., профессор Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ РУДН, Москва, Россия

**Ваизова О. Е.**, доцент, д. м. н., профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия

**Вартаньянц И. А.**, проф., к. ф.-м. н., профессор Deutsches Elektronen-Synchrotron, Гамбург, Германия

**Гузев К. С.**, д. ф. н., уполномоченное лицо АО Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва, Россия

**Гусаров Д. А.**, к. х. н., руководитель группы экспериментального биотехнологического производства Научно-исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

**Демина Н. Б.**, проф., д. фарм. н., профессор кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

**Емшанова С. В.**, д. фарм. н., начальник отдела научных разработок ЦКП (НОЦ) ФГАОУ РУДН, Москва, Россия

**Каленикова Е. И.**, проф., д. фарм. н., зав. кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

**Комаров Т. Н.**, к. фарм. н., заведующий лабораторией биоаналитических исследований № 2, ООО «ЦФА», Москва, Россия

**Кулинич Ю. И.**, к. фарм. н., эксперт 1 категории ФГБУ НЦ ЭСМП Минздрава России, Москва, Россия

**Макеев О. Г.**, проф., д. м. н., зав. кафедрой биологии и медицинской генетики УГМУ, Екатеринбург, Россия

**Малашенко Е. А.**, к. фарм. н., ст. преп. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

**Медведев Ю. В.**, к. фарм. н., доц. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

**Мельников Е. С.**, к. фарм. н., старший научный сотрудник ЦКФ ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, Москва, Россия

**Миросниченко И. И.**, д. м. н., заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ Научный центр психического здоровья (НЦПЗ), Москва, Россия

**Оборотова Н. А.**, проф., д. фарм. н., НИМЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия

**Попов В. В.**, проф., д. м. н., зав. лабораторией профессиональной клинической фармакодинамики НУЗ «Научный клинический центр ОАО «РЖД», Москва, Россия

**Потанина О. Г.**, д. фарм. н., директор центра научных исследований и разработок ЦКП (НОЦ) РУДН, Москва, Россия

**Русинов В. Л.**, чл. корр. РАН, д. х. н., директор Химико-технологического института ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

**Сливкин А. И.**, проф., д. фарм. н., зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Смехова И. Е.**, профессор кафедры технологии лекарственных форм. ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

**Станишевский Я. М.**, д. х. н., проф., директор Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ РУДН, Москва, Россия

**Сукоян Г. В.**, д. б. н., Международный центр внедрения новых биомедицинских технологий, Тбилисский государственный университет имени Иванэ Джавахишвили, Тбилиси, Грузия

**Сысуев Б. Б.**, доц., д. фарм. н., ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

**Ташлицкий В. Н.**, к. х. н., старший научный сотрудник кафедры химии природных соединений химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

**Тринеева О. В.**, д. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Чучалин В. С.**, д. фарм. н., заведующий кафедрой фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия

**Эпштейн Н. А.**, к. х. н., зав. лабораторией Центра регистрации и разработки лекарственных средств ООО «Ирвин 2», Москва, Россия

<b>Учредители печатной версии</b>	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 3
	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) Адрес: 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Адрес: 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2
<b>Учредители онлайн версии</b>	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 3
<b>Издатель</b>	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 3
<b>Директор журнала</b>	Кульджанова Н. В.
<b>Заведующий редакцией</b>	Михайлова Н. С.
<b>Основан</b>	Журнал издается с ноября 2012 г.
<b>Периодичность</b>	4 выпуска в год
<b>Префикс DOI</b>	10.33380
<b>ISSN print</b>	2305-2066
<b>ISSN online</b>	2658-5049
<b>Адрес редакции</b>	Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Россия, 117246, Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 3. <a href="http://www.pharmjournal.ru">www.pharmjournal.ru</a> e-mail e-mail: <a href="mailto:info@pharmjournal.ru">info@pharmjournal.ru</a>
<b>Адрес типографии</b>	ООО «МАКС ПРЕСС» Россия, 141092, Московская область, г. Королев, микрорайон Юбилейный, ул. Парковая, д. 2, кв. 103
<b>Копирайт</b>	© Разработка и регистрация лекарственных средств, 2021
<b>Условия распространения материалов</b>	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License 
<b>Тираж</b>	999 экземпляров
<b>Цена</b>	Свободная

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

## Focus and Scope of the journal

Research and production peer-reviewed journal **"Drug development & registration"** (Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv) is an up-to-date quarterly free application publication and information portal for Professionals involved in the circulation of medicines. Journal is designed for pharmaceutical manufacturers and their employees from the departments of development, quality control, registration, production and development; employees of laboratory centers, contract research organizations, scientific and educational institutions. The main focus of the journal is to summarize scientific and practical achievements in the field of drug development and registration, to increase the scientific and practical qualifications of specialists in the field of drug circulation. The main **five thematic sections** of the journal "Drug development & registration" (Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv) include the development lifecycle of a drug product from its creation to obtaining a marketing authorization.

**The first section** is devoted to the research and development of new medicines.

**The second section** one provides information about pharmaceutical technology, pharmaceutical ingredients, and equipment for drug development.

**The third section** describes analytical quality control methods.

**The fourth section** is devoted to approaches to evaluating the efficacy and safety of medicines, conducting clinical and preclinical studies.

**The fifth section** deals with the validation of methods, preparation of the registration dossier, the life cycle of the drug product in the GxP environment. Journal accepts for consideration both review and original papers. Both domestic and foreign researchers in the field of drug development and registration are invited to publication in the journal.

---

## Editor-in-Chief

**Igor E. Shohin**, Dr. of Sci. (Pharm.), CEO in LLC Center of Pharmaceutical Analytics (LLC Center of Pharmaceutical Analytics/LLC "CPHA"), Moscow, Russia

## Deputy Editor-in-Chief

**Vitaliy V. Khutoryanskiy**, Prof., Dr. of Sci. (Chem.) (UK), University of Reading, Reading, United Kingdom

**Rouslan I. Moustafine**, Cand. of Sci. (Pharm.), Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan

**Yury A. Skorik**, Cand. of Sci. (Chem.), Institute of Macromolecular Compounds, Saint-Petersburg, Russia

## Editorial board

**Yulia I. Ammour**, Cand. of Sci. (Biol.), Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Sera of RAMS, Moscow, Russia

**Mikhail V. Belousov**, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

**Boyan R. Calija**, as. Prof., PhD (Serbia), University of Belgrade, Belgrade, Serbia

**Ivan A. Vasilenko**, Prof., Dr. of Sci. (Chem.), RUDN University, Moscow, Russia

**Olga E. Vaizova**, as. Prof., Dr. of Sci., Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

**Ivan A. Vartaniants**, Prof., Cand. of Sci, Deutsches Elektronen-Synchrotron, Hamburg, Germany

**Konstantin S. Guzev**, Retinoidy Company, Dr. of Sci. (Pharm.), Moscow, Russia

**Dmitriy A. Gusarov**, MIREA – Russian Technological University (RTU MIREA), Dr. of Sci. (Chem.), Moscow, Russia

**Natalia B. Diomina**, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

**Svetlana V. Emshanova**, Dr. of Sci. (Pharm.), RUDN University, Moscow, Russia

**Elena I. Kalenikova**, Prof., Dr. of Sci., Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Timofey N. Komarov**, Cand. of Sci. (Chem.), Center of Pharmaceutical Analytics, Moscow, Russia

**Julia I. Kulinich**, Cand. of Sci. (Pharm.), Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

**Oleg G. Makeev**, Prof., Dr. of Sci. (Med.), The Central Research Laboratory of the Ural Medical University, Yekaterinburg, Russia

**Evgeniya A. Malashenko**, Cand. of Sci. Pharm., Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

**Yury V. Medvedev**, Cand. of Sci. (Pharm.), Center of Pharmaceutical Analytics, Moscow, Russia

**Evgeny S. Melnikov**, Cand. of Sci. (Pharm.), FSBI "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Igor I. Miroshnichenko**, Dr. of Sci., Federal State Budget Scientific Institution "Scientific Center of Mental Health", Moscow, Russia

**Natalia A. Oborotova**, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

**Vladimir V. Popov**, Prof., Dr. of Sci. (Med.), Joint Stock Company "Russian Railways", Moscow, Russia

**Olga G. Potanina**, Dr. of Sci. (Pharm.), Director of the Shared Research and Educational Center of the Peoples' Friendship University of Russia (SREC PFUR), Moscow, Russia

**Vladimir L. Rusinov**, RAS c.-m., Dr. of Sci. (Chem.), Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**Aleksei I. Slivkin**, Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Voronezh State University, Voronezh, Russia

**Irina E. Smekhova**, Dr. of Sci. (Pharm.), Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

**Yaroslav M. Stanishevskiy**, Prof., Dr. of Sci. (Chem.), RUDN University, Moscow, Russia

**Galina V. Sukoyan**, Dr. of Sci. (Biol.) (Georgia), International Centre of Introduction of New Biomedical Technology, Tbilisi, Georgia

**Boris B. Sysuev**, as. Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

**Vadim N. Tashlitsky**, Cand. of Sci. (Chem.), Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Olga V. Trineeva**, Dr. of Sci. (Pharm.), Voronezh State University, Voronezh, Russia

**Vladimir S. Chuchalin**, Dr. of Sci. (Pharm.), Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

**Naum A. Epshtein**, Cand. of Sci. (Chem.), Irvin-2 Company, Moscow, Russia

<b>Print version founders</b>	<p>LC Center of Pharmaceutical Analytics (LLC "CPHA") Address: 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia</p> <p>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) Address: 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia</p> <p>Siberian State Medical University Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, Russia</p>
<b>Online version founders</b>	<p>LC Center of Pharmaceutical Analytics (LLC "CPHA") Address: 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia</p>
<b>Publisher</b>	<p>LC Center of Pharmaceutical Analytics (LLC "CPHA") Address: 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia</p>
<b>Journal director</b>	Natalia V. Kuldjanova
<b>Managing Editor</b>	Nadezhda S. Mikhaylova
<b>Founded:</b>	The journal has been published since November 2012.
<b>Frequency</b>	Quarterly
<b>DOI Prefix</b>	10.33380
<b>ISSN print</b>	2305-2066
<b>ISSN online</b>	2658-5049
<b>Editorial office address</b>	<p>LC Center of Pharmaceutical Analytics (LLC "CPHA") Address: 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia <a href="http://www.pharmjournal.ru">www.pharmjournal.ru</a> e-mail e-mail: <a href="mailto:info@pharmjournal.ru">info@pharmjournal.ru</a></p>
<b>Printing house address</b>	<p>LLC "MAX PRESS" 2/103, Parkovaya str., Yubileyny microdistrict, Korolev, Moscow region, 141092, Russia</p>
<b>Copyright</b>	© Drug development & registration, 2021
<b>Content distribution terms</b>	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License 
<b>Circulation</b>	999 copies
<b>Price</b>	Free

**The journal is included in the List of peer-reviewed scientific publications, in which the main scientific results of dissertations for the degree of candidate of science, for the degree of doctor of sciences should be published**

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>От редакции</b> .....	10
<b>Практические рекомендации</b> .....	16
<b>Мероприятия</b> .....	29
<b>Поиск и разработка новых лекарственных средств</b>	
<b>Современные лекарственные средства (ассортимент) и тенденции в совершенствовании лекарственных форм гепатопротекторных средств (обзор)</b> Д. А. Петрухина, И. В. Плетнева, Б. Б. Сысуев .....	38
<b>Фармацевтическая технология</b>	
<b>Разработка составов и технологии получения таблеток с экстрактом листьев оливы, стандартизованного по гидрокситирозолу</b> М. С. Масленникова, Н. Л. Соловьёва .....	47
<b>Разработка гастроретентивной лекарственной формы нового перспективного противотуберкулезного лекарственного средства макозинон</b> В. Г. Нестеренко, Р. Н. Болгарин, Б. А. Рудой, Д. Х. Салахетдинов, Ю. Г. Казаишвили, В. С. Щербакова, Н. А. Никитина, Ю. В. Медведев, Е. Н. Фишер, Е. А. Малашенко, И. Е. Шохин .....	55
<b>Методы анализа лекарственных средств</b>	
<b>Разработка способа анализа офлоксацина в комплексном препарате «Офлоксазоль»</b> Т. А. Кобелева, А. И. Сичко, А. И. Замараева, Н. С. Бессонова .....	70
<b>Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе новой субстанции VMA-10-18</b> Е. С. Мищенко, Д. С. Лазарян, А. Д. Лазарян .....	76
<b>Моделирование образования липосом с винпоцетином из фосфолипидов соевого лецитина методом молекулярной динамики</b> Ю. А. Полковникова .....	83
<b>Стандартизация фармацевтической субстанции препарата ЛХС-1208</b> Е. В. Игнатьева, И. В. Ярцева, З. С. Шпрах, А. П. Будько, Л. В. Эктова, Д. А. Козин, В. Ю. Решетняк, О. В. Нестерова, Е. А. Панкратова .....	88
<b>Фитохимический анализ листьев лоха серебристого <i>Elaeagnus argentea</i></b> Н. А. Сальникова, Ю. В. Шур, А. А. Цибизова .....	95
<b>Доклинические и клинические исследования</b>	
<b>Ретроспективный анализ клинического изучения лекарственного препарата «Флакозид» в терапии заболеваний гепатобилиарной системы</b> В. В. Бортникова, В. В. Карабаева, Л. В. Крепкова, П. Г. Мизина, А. Н. Бабенко, Н. С. Михеева, О. Н. Карабаева .....	100
<b>Определение лаппаконитина, дитерпенового алкалоида, получаемого из растений <i>Aconitum leucostomum</i>, и его активного метаболита N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека</b> О. А. Арчакова, Т. Н. Комаров, А. В. Рогов, Д. С. Щелгачева, А. В. Алешина, Н. С. Багаева, И. Е. Шохин .....	105
<b>Регуляторные вопросы</b>	
<b>Маркировка иммунобиологических лекарственных препаратов, выпускаемых ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора (обзор)</b> А. В. Комиссаров, О. А. Лобовикова, И. В. Шульгина, В. С. Костюченко, Е. Г. Абрамова, О. А. Волох, Н. В. Сеницына, В. А. Демченко, А. С. Феськова, А. К. Никифоров .....	115
<b>Масштабирование процесса гранулирования в условиях GMP тренинг-центра и оценка возможных рисков</b> О. Н. Абросимова, М. А. Буракова .....	131

<b>Порядок пересмотра проведения фармацевтических инспекций в Евразийском экономическом союзе (обзор)</b>	
А. П. Мешковский, В. В. Береговых, В. Н. Шестаков, Н. В. Пятигорская, Ж. И. Аладышева, Н. С. Николенко, А. М. Пятигорский, Е. И. Нестеркина .....	138
<b>Интегрированная модель системы менеджмента качества лабораторных исследований лекарственных средств (обзор)</b>	
А. И. Селезнева, В. А. Смирнов, В. В. Горячкин, Н. Н. Чадова, С. В. Поляков, В. Н. Шестаков, Р. А. Абрамович .....	148
<b>Материалы студенческой научной школы</b>	
<b>Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника</b>	
Д. А. Жданов, В. А. Куркин, В. Б. Браславский, А. И. Агапов .....	167
<b>Биомедицинское применение наночастиц серебра (обзор)</b>	
Д. Т. Реджепов, А. А. Водяшкин, А. В. Сергородцева, Я. М. Станишевский .....	176

## CONTENTS

<b>Introduction</b> .....	10
<b>Practical recommendations</b> .....	16
<b>Events</b> .....	29
<b>Research and development of new drug products</b>	
<b>Modern Medicines (Assortment) and Trends in the Improvement of Dosage Forms of Hepatoprotective Agents (Review)</b> Darya A. Petrukhina, Irina V. Pletneva, Boris B. Sysuev .....	38
<b>Pharmaceutical Technology</b>	
<b>Development of Compositions and Technologies for Producing Tablets with Hydroxythyzol-standardized Extract of Olive Leaves</b> Maria S. Maslennikova, Natalia L. Solovyova .....	47
<b>Development of a Gastro-retentive Dosage Form of a New Promising Anti-tuberculosis Drug Macozinone</b> Vladimir G. Nesterenko, Roman N. Bolgarin, Boris A. Rudoy, Damir K. Salakhedinov, Yuri G. Kazaishvili, Victoria S. Scherbakova, Natalia A. Nikitina, Yuri V. Medvedev, Elizaveta N. Fisher, Evgeniya A. Malashenko, Igor E. Shohin .....	55
<b>Analytical Methods</b>	
<b>Development of a Method of Analysis of Ofloxacin in the Complex Preparation "Ofloxazol"</b> Tatyana A. Kobeleva, Alik I. Sichko, Anna I. Zamaraeva, Natalya S. Bessonova .....	70
<b>Use of High Performance Liquid Chromatography in the Analysis of a New Substance VMA-10-18</b> Ekaterina S. Mischenko, John S. Lazaryan, Anush Jh. Lazaryan .....	76
<b>Modeling the Formation of Liposomes with Vinpocetine from Soy Lecithin Phospholipids by Molecular Dynamics</b> Yulia A. Polkovnikova .....	83
<b>Standardization of the Pharmaceutical Substance of the Drug LCS-1208</b> Elena V. Ignateva, Irina V. Yartseva, Zoya S. Shprakh, Andrej P. Bud'ko, Lydya V. Ektova, Dmytry A. Kozin, Vladimir Yu. Reshetnyak, Olga V. Nesterova, Elizaveta A. Pankratova .....	88
<b>Phytochemical Analysis of <i>Elaeagnus Argentea</i> Leaves</b> Natalya A. Salnikova, Yuliya V. Shur, Alexandra A. Tsibizova .....	95
<b>Preclinical and clinical study</b>	
<b>A Retrospective Analysis of the Clinical Studies of a Drug "Flakozid" in the Treatment of Diseases of the Hepatobiliary System</b> Valentina V. Bortnikova, Vera V. Karabaeva, Lubov' V. Krepkova, Praskovya G. Mizina, Aleksandra N. Babenko, Natalya S. Mikheeva, Ol'ga N. Karabaeva .....	100
<b>Determination of Lappaconitin, Diterpene Alkaloide Obtained from Plants <i>Aconitum Leucostomum</i>, and its Active Metabolite N-desacetylappaconitin in Human Plasma and Blood</b> Olga A. Archakova, Timofey N. Komarov, Anton V. Rogov, Dana S. Shchelgacheva, Alexandra A. Aleshina, Natalia S. Bagaeva, Igor E. Shohin .....	105
<b>Regulatory Issues</b>	
<b>Labeling of Immunobiological Drugs, Produced by the Russian Research An-ti-Plague Institution "Microbe" of the Rospotrebnadzor (Review)</b> Alexander V. Komissarov, Oksana A. Lobovikova, Irina V. Shul'gina, Vera S. Kostyuchenko, Elena G. Abramova, Oksana A. Volokh, Natalia V. Sinityna, Victoria A. Demchenko, Anna S. Fes'kova, Alexey K. Nikiforov .....	115
<b>Scaling of the Granulation Process in the Conditions of GMP Training Center and Assessment of Possible Risks</b> Olesya N. Abrosimova, Marina A. Burakova .....	131

<b>Procedure for Reviewing Pharmaceutical Inspections in the Eurasian Economic Union (Review)</b> Andrei P. Meshkovskiy, Valery V. Beregovykh, Vladislav N. Shestakov, Natalia V. Pyatigorskaya, Zhanna I. Aladysheva, Natalia S. Nikolenko, Alexander M. Pyatigorskiy, Ekaterina I. Nesterkina .....	138
<b>The Integrated Model of Quality Management System of Laboratory Studies of Medicines (Review)</b> Arina I. Selezneva, Vladimir A. Smirnov, Vyacheslav V. Goryachkin, Nataliya N. Chadova, Sergey V. Polyakov, Vladislav N. Shestakov, Rimma A. Abramovich .....	148
<i>Materials of the student scientific school</i>	
<b>Actual Aspects of Quality Control and Standardization of Rosehip Fruits</b> Dmitry A. Zhdanov, Vladimir A. Kurkin, Valery B. Braslavsky, Al'bert I. Agapov .....	167
<b>Biomedical Applications of Silver Nanoparticles (Review)</b> Dovlet T. Rejepov, Andrey A. Vodyashkin, Antonina V. Sergorodceva, Yaroslav M. Stanishevskiy .....	176

Редакционная статья / Editorial article

## Ежегодная конференция с международным участием «Разработка и регистрация биотехнологических лекарственных средств» состоялась 25 июня

В этот раз ежегодная научно-практическая конференция состоялась в живом формате в Москве. Организаторами конференции выступили ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» и научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств». Мероприятие прошло 25 июня в Москве в Технопарк «КАЛИБР». Мероприятие было посвящено жизненному циклу биотехнологических лекарственных средств. Мы обсудили отдельные аспекты разработки, исследований и производства различных групп биотехнологических лекарственных средств, таких как моноклональные антитела, низкомолекулярные гепарины, инсулины, пептидные препараты и другие.

## The annual conference with international participation "Development and registration of biotechnological drugs" was held on June 25

This time the annual scientific and practical conference was held in a live format in Moscow. The conference was organized by Center of Pharmaceutical Analytics and research and production peer-reviewed journal "Drug development & registration". The event took place on June 25 in Moscow in Technopark "KALIBR". The event was dedicated to the life cycle of biotechnological medicines. We discussed certain aspects of the development, research and production of various groups of biotechnological drugs, such as monoclonal antibodies, low molecular weight heparins, insulins, peptide drugs, and others.

Лекторами конференции выступили представители академической общественности, фармацевтических предприятий, а также регуляторных органов.

Мероприятие прошло при поддержке наших партнеров: ТД Химмед, компания Аврора, Сарториус РУС, ДИАЭМ, ЭРВЕКА.

Программа конференции состояла из нескольких секций, посвященных различным вопросам исследования биопрепаратов.

Отрывал конференцию доклад **Игоря Шохина**, д. фарм. н., генерального директора ООО «ЦФА», о роли исследовательских лабораторных центров в борьбе с пандемией COVID-19. **Игорь Евгеньевич** рассказал о работе исследовательского центра на примере ЦФА, группах исследуемых препаратов, а также применяемых методиках.

### О Центре:

- ✓ Лабораторный исследовательский центр, сертифицированный по GLP (ГОСТ 33044).
- ✓ Три лаборатории: две биоаналитические (ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-МС/МС, ИФА-анализаторы), одна фарм. аналитическая (тест «Растворение», ВЭЖХ с различными видами детектирования).
- ✓ 20 сотрудников, 3 кандидата фарм наук, 1 доктор фарм наук.

### Группы препаратов, исследуемых в Центре:

- ✓ Низкомолекулярные гепарины-биоаналоги (эноксапарин натрия, надропарин кальция): сравнительные исследования специфичности *in vitro* (анти-Ха, анти-IIa активность), аналитический этап клинического сравнительного исследования фармакокинетики и фармакодинамики (анти-Ха, анти-IIa

активность, TFPI), иммуногенности (анти-лекарственные антитела, вызывающие гепарин-индуцированную тромбоцитопению).

- ✓ Новые оральные антикоагулянты (ривароксабан): сравнительный тест кинетики растворения для биосерий препарата (10 и 20 мг), био-вейвер для дополнительных дозировок (2,5 и 15 мг), биоаналитический этап исследования биоэквивалентности.
- ✓ Противовирусные препараты (фавипиравир): исследование фармакокинетики в рамках фазы 1 клинического исследования для новой лекарственной формы препарата (раствор для инфузий).
- ✓ Ингибиторы интерлейкинов (новая биотехнологическая молекула-моноклональное антитело RPH-104): исследование фармакокинетики и иммуногенности (анти-лекарственные антитела) у разных популяций пациентов.
- ✓ Препараты иммуноглобулинов (КОВИД-глобулин): исследование фармакокинетики в рамках фазы 1 (добровольцы) и фазы 2 (пациенты).

**Виктор Милокумов**, Сарториус РУС, в рамках секции *оборудование для исследования биотехнологических препаратов*, рассказал об обеспечении целостности, достоверности и соответствия требованиям GxP результатов лабораторных измерений массы с применением весов Sartorius Cubis II.

Целостность и достоверность лабораторных данных критически важны для обеспечения доверия к результатам испытаний и исследований, и в результате – к качеству продукции. Особенную важность в

современных условиях это приобретает в сфере разработки и производства лекарственных средств.

На территории Российской Федерации данные требования регулируются правилами надлежащей лабораторной и производственной практики (GxP). Суммировать эти требования можно следующим образом:

- оборудование должно обеспечивать требуемую точность измерений;
- оборудование должно быть поверено и откалибровано;
- все действия с оборудованием должны сохраняться;
- оборудование и записи должны быть защищены от несанкционированного доступа;
- данные должны храниться длительное время, быть защищены от повреждений, потери и изменений.



При разработке новой серии весов компанией Sartorius особый упор был сделан на соответствие требованиям фармацевтической отрасли, в связи с чем в серии весов Cubis II реализован набор программных и аппаратных функций, направленных на обеспечение точности, а также целостности и достоверности результатов измерений, в том числе:

- автоматическая калибровка по времени и температуре;
- автоматическая установка по уровню;
- автоматическая компенсация погрешности от нецентрального положения нагрузки;
- автоматический встроенный ионизатор для удаления статического заряда с образцов;
- центр приложений с более 60 приложениями, объединенных в тематические пакеты;
- измерительные задачи с гибкими настройками и пошаговыми инструкциями по их выполнению;
- настраиваемый формат протокола с идентификацией весов, объекта взвешивания, измерительной задачи, даты и времени;
- «алиби-память», сохраняющая все результаты измерений;
- контрольный журнал, сохраняющий все действия с весами;

- функция электронной подписи протокола;
- функция контроля минимальной навески;
- приложение «Пользовательская калибровка» для контроля погрешности измерений;
- широкий набор интерфейсов и поддерживаемых форматов передачи данных
- управление пользователями с разграничением уровней доступа и политикой паролей.

Данные решения позволяют гарантировать полную целостность и достоверность результатов измерений в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной и производственной практики, а также Фармакопеи США и Европейского союза. Более того, весы Cubis II – это единственные в мире весы, в которых без использования дополнительного программного обеспечения реализовано соответствие принципам ALCOA+ – наиболее распространенной схемы для обеспечения целостности и достоверности лабораторных данных.

Продолжил секцию доклад **Леонида Усовича**, ДИАЭМ, о применении одноразовых технологий для масскультивирования клеток и очистки фармстанций.

Сегодня на биофармацевтическом рынке четко прослеживается тенденция перехода к использованию одноразовых материалов. Если в 2006 году одноразовые реакторы составляли 21 % от суммы всех произведенных многоразовых установок, то к 2013 году соотношение поднялось до 81 %. Данный скачок роста говорит о явных преимуществах таких технологий, связанных с удобством, гибкостью, сокращением времени запуска, а также легкостью адаптации при переходе на выпуск нового продукта.

В чем же заключается привлекательность перехода к одноразовым решениям?

1. Снижение риска контаминации. Риск составляет порядка 3 %. Это невысокий показатель. Но когда речь идет о дорогостоящем и долгом процессе, каждая забракованная серия может вылиться во многомиллионные потери.
2. Сокращение производственного цикла. Подготовка отнимает до 8 часов времени и задействует минимум двух квалифицированных операторов.
3. Простота использования. Однозначность, скорость и легкость использования уменьшают риск ошибки.

При выборе технологии в расчет берутся некоторые капитальные затраты.

- При строительстве помещений учитывают: стоимость, сроки, площадь.
- Наличие необходимой инфраструктуры: сип мойка, парогенератор, обвязка реактора.
- Оборудование: стоимость, время установки, обслуживание.

Одноразовые технологии помогают сэкономить 30 % электроэнергии для работы, 62 % энергии, потребляемой для производства системы, 87 % воды и 95 % моющих средств в сравнении с классическим оборудованием (рисунок 1).

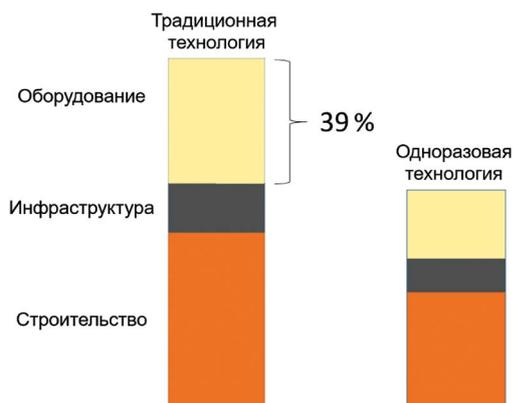


Рисунок 1. Экономия 39 % на этапе проектирования

Figure 1. Savings of 39 % during the design phase

При выборе поставщика одноразовых решений необходимо понимать некоторые важные критерии:

1. Безопасность состава и отсутствие влияния на скорость роста чувствительных линий клеток.
2. Прочность и надежность полимерной пленки одноразовых мешков.
3. Гарантия стабильности поставок.

Компания ДИАЭМ, совместно с компанией Thermo Fisher Scientific развивает направление одноразовых технологий, связанное с производством фармстанций по стандартам GMP и GLP. Thermo FS уже более 20 лет занимается разработкой продуктов и систем разового использования, и зарекомендовала себя как поставщик надежных материалов для лабораторий и производств.

В рамках секции, посвященной исследованиям биоаналогичности, руководитель медицинского департамента ГЕРОФАРМ, **Игорь Макаренко**, рассказал о разработке и доклинических исследованиях биосимиляров инсулинов. Медицинский научный советник отдела ранних фаз клинических исследований ГЕРОФАРМ, **Артем Доротенко**, выступил с докладом на тему «Изучение фармакокинетики и фармакодинамики высококонцентрированных инсулинов».

**Мария Колганова**, старший химик-аналитик ООО «ЦФА», поделилась со слушателями особенностями проведения исследований фармакокинетики и иммуногенности препаратов моноклональных антител.

**Моноклональные антитела (МкАТ)** – это антитела, вырабатываемые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону, то есть произошедшими из одной плазматической клетки-предшественницы. Моноклональные антитела обладают высокой молекулярной специфичностью для соответствующих им биологических мишеней, поэтому с использованием МкАТ было создано множество методов лабораторной диагностики *in vitro*, а также МкАТ широко применяются для терапии и диагности-

ки различных заболеваний (например, онкологических и аутоиммунных).

Полная валидация аналитической методики для целей анализа фармакокинетики опирается на руководство FDA Bioanalytical Method Validation и Правила проведения исследований биоэквивалентности ЛП в рамках ЕАЭС и включает в себя следующие параметры: MRD, селективность, калибровочная кривая и чувствительность, правильность и прецизионность, линейность разведения, стабильность, специфичность, параллелизм и эффект переноса. По окончании валидационного этапа исследования методику применяют для аналитического этапа (фармакокинетического анализа реальных образцов), следуя при этом описанным в нормативной документации требованиям и критериям приемлемости.

### Анализ фармакокинетики: Практическое применение

Анализируемое вещество (МНН)	НПКО	MRD	Дизайн КИ/ДКИ	Эквивалентность
Бевацизумаб	3 мкг/мл	1:1000	Сравн. КИ	Да
Трастузумаб	3 мкг/мл	1:5000	Сравн. КИ	Да
Молекула-ингибитор PD-L1	40 нг/мл	1:50	Несравн. ДКИ	N/A
Молекула-ингибитор ИЛ	1 мкг/мл	1:100	Несравн. КИ	N/A
Цетуксимаб	0,16 мкг/мл	1:1000	Сравн. КИ	N/A

Полная валидация аналитической методики для целей анализа иммуногенности опирается на руководство FDA Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products – Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection и Правила проведения исследований биологических ЛС ЕАЭС, включает в себя следующие параметры: MRD, предел исключения (cut point), чувствительность и концентрация образцов положительного контроля, селективность, прецизионность, толерантность к присутствию ЛП, специфичность и стабильность. Однако, в отличие от методик для фармакокинетического анализа, в методиках оценки иммуногенности возникает проблема интерференции вследствие наличия в образцах исходного биологического препарата МкАТ, который связывается с выявляемыми противолечательными антителами (ADA – anti-drug antibodies). Для преодоления этой проблемы обычно используют один из трех вариантов: откладывают отбор проб иммуногенности на более поздний срок, применяют методики с этапом кислотной диссоциации или используют сильное разведение исследуемых образцов для снижения концентрации мешающего препарата. Оптимальный подход – скомбинировать несколько способов, например, диссоциировать комплексы ADA – ЛП (методики с этапом кислотной диссоциации) и разбавлять образцы буферным раствором, соблюдая при этом баланс между чувствительностью методики и разведением, достаточным для нивелирования фоновой интерференции.

## Анализ иммуногенности: Практическое применение

Анализируемое вещество (МНН)	Пробоподготовка	Чувствительность	Дизайн: КИ/ДКИ	Толерантность к ЛП
Бевацизумаб	разведение	63 нг/мл	Сравн. КИ	5 мкг/мл
Трастузумаб	АСЕ, разведение	99,5 нг/мл	Сравн. КИ	50 мкг/мл
Молекула-ингибитор PD-L1	АСЕ, разведение	250 нг/мл	Несравн. ДКИ	50 мкг/мл
Молекула-ингибитор ИЛ	АСЕ, разведение	115 нг/мл	Несравн. КИ	200 мкг/мл
Цетуксимаб	АСЕ, разведение	198,5 нг/мл	Сравн. КИ	200 мкг/мл
Бевацизумаб	АСЕ, разведение	60,8 нг/мл	Сравн. ДКИ	100 мкг/мл

По окончании валидационного этапа исследования методику применяют для аналитического этапа (анализа иммуногенности реальных образцов), который обычно является многоступенчатым и состоит из этапов скрининга образцов, подтверждающего анализа, определения титра антител и определения нейтрализующей активности антител.

**Наталья Багаева**, биостатистик ООО «ЦФА», в рамках секции *отдельные вопросы исследований био-препаратов* рассказала о статистических методах при проведении валидации методик полуколичественного определения анти-лекарственных антител.

Предел исключения для скрининга определяет как уровень отклика анализа, при котором (и выше) образец определяется как «реактивный» («потенциально положительный») на присутствие anti-drug antibody (ADA), а ниже которого он, вероятно, отрицательный. Допустимый предел исключения анализа устанавливается во время валидации перед исследованием путем систематической и статистической оценки результатов анализа для подмножества образцов, которые считаются репрезентативными для целевой группы пациентов/субъектов, не принимавших лекарственные препараты.

При использовании подхода к оценке иммуногенности, основанного на оценке риска, во время скрининга более целесообразно иметь ложноположительные результаты, чем ложноотрицательные. Скрининговый анализ, который вообще не идентифицирует какие-либо реактивные образцы, может поставить под сомнение способность анализа обнаруживать слабopоложительные образцы. Скрининговый анализ, позволяющий выявить некоторые (например,  $\geq 5\%$ ) положительные результаты, которые впоследствии могут оказаться неспецифичными в подтверждающем анализе, обеспечивает уверенность в том, что будут обнаружены истинно низкие положительные результаты. На практике выявление любых ложных срабатываний лучше, чем их отсутствие.

Обычно в клинических исследованиях анализируют значения матрикса от  $\geq 50$  людей. Из практических соображений в доклинических исследованиях может быть достаточно как минимум 15 образцов. Использование объединенных образцов матрицы для определения предела исключения нецелесообразно, поскольку при тестировании реплицируемых образцов из объединенной смеси измеряется аналитическая, но не биологическая вариация. Если несколько

аналитиков будут проводить анализ исследуемых образцов во время исследования, исследование предела исключения во время предварительной валидации должно включать как минимум двух аналитиков.

Для определения предела исключения необходимо проверить массив данных на нормальность, при необходимости – преобразовать данные и исключить выбросы. Далее необходимо сравнить средние значения и проверить однородность дисперсий для циклов/аналитиков/инструментов. С помощью полученных результатов расчета определяем, какой предел исключения для скрининга будет использован в дальнейшем анализе (рисунок 2).

Для определения предела исключения для подтверждающего анализа необходимо проверить массив данных на нормальность, при необходимости – преобразовать данные и исключить выбросы.

Подробная схема определения предела исключения описана в статье G. Shankar et al. (Shankar G. et al. Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;48(5):1267–1281.)

Завершил мероприятие доклад **Юлии Амму**р, к.б.н., зав. лаб. экспериментальной иммунологии НИИВС им. И. И. Мечникова, о клеточных методах для исследования нейтрализующих антител к терапевтическим белкам.

В ответ на биологические лекарственные препараты образуются несколько типов связывающих антител, но только один тип антител против терапевтических белков является нейтрализующим. Нейтрализующие антитела ингибируют эффекты биологического препарата и приводят к подавлению терапевтического эффекта. При этом остальные связывающие антитела не оказывают прямого воздействия на механизмы терапевтического эффекта, но могут оказывать влияние на фармакокинетические и фармакодинамические характеристики препарата и приводить к развитию анафилактических реакций.

В то время как стандартные иммунные методы, такие как ИФА, могут обнаружить антитела против терапевтических молекул, они не могут выделить из них нейтрализующие антитела (NABs). Таким образом, обнаружение NABs требует использования более специализированных анализов. Клеточные анализы *in vitro* должны имитировать механизм, с помощью которого NABs проявляют свой эффект *in vivo*.

Различают прямой, основанный на непосредственном взаимодействии Nabs с клеточными белками, и непрямой анализ определения антител, основанный на конкурентной связи как непосредственно Nabs, так и их специфических лигандов с клеточной поверхностью.

Используемая культура клеток должна быть чувствительна и специфична для мишени, анализ должен быть воспроизводимым, минимально подверженным влиянию матричных эффектов и позволять обнаружить NABs в присутствии терапевтического средства.

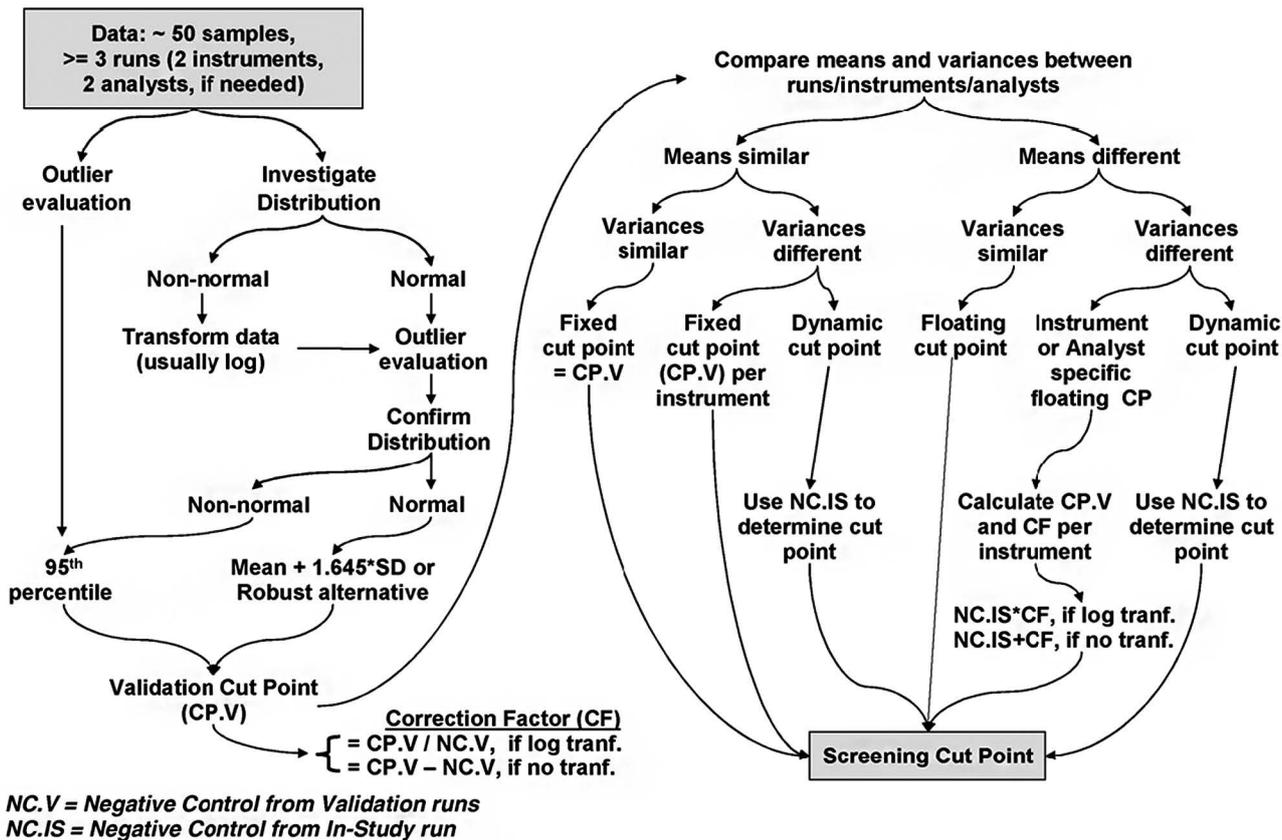


Рисунок 2. Определения предела исключения для скрининга [Shankar G. et al. Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008;48:1272 p.]

Figure 2. Definitions of the screening exclusion limit [Shankar G. et al. Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008;48:1272 p.]

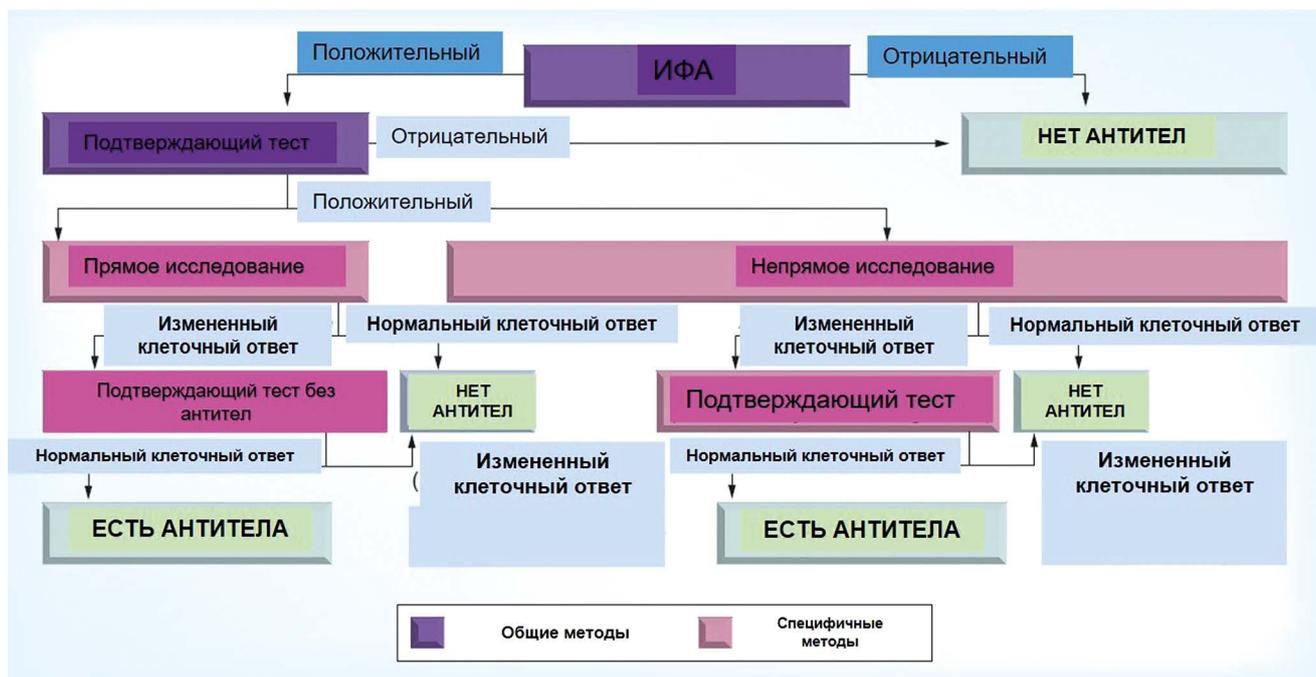


Схема определения предела исключения

В зависимости от механизма действия могут быть реализованы различные форматы анализов, включая анализ: пролиферации клеток и их жизнеспособности, антителозависимой клеточно-опосредованной и комплемент-зависимой цитотоксичности, ингибирования цитопатического эффекта, апоптоза, передачи сигналов клеток, стимулированных лигандами, активности ферментов, репортерных генов, секреции белков, метаболической активности, функции митохондрий. Детекция может проходить по уровню сигналов абсорбции, флуоресценции, люминесценции, хемилюминесценции или проточной цитометрии.

Таким образом, сначала образец проверяют с помощью иммуноанализа (например, ИФА), для обнаружения каких-либо специфических антител к лекарственным средствам. Если образец положительный, его проверяют в подтверждающем количественном тесте. Если образец остается положительный, его проверяют в специфическом анализе на культуре клеток. Если клеточный ответ нормальный (без изменений по сравнению с контролем), образец не содержит NAbs. Образцы, приводящие к изменению измеряемого параметра (реактивные образцы), обычно подвергают дальнейшему тестированию. Реактивные образцы из прямого анализа проверяют в подтверждающем тесте, в котором NAbs удаляют из образца перед испытанием. Отсутствие клеточного ответа указывает на то, что исходный реактивный образец содержал NAbs. Измененный клеточный ответ указывает, что более

ранний результат был ложноположительным, вероятно, из-за наличия активных компонентов в матрице.

Конференция «Разработка и регистрация биотехнологических лекарственных средств» состоялась в живом формате при строгом соблюдении всех противоэпидемических мер. Как докладчики, так и слушатели принимали активное участие в мероприятии, задавая вопросы и участвуя в обсуждении интересующих вопросов. Участники выразили благодарность организаторам конференции и желание принимать участие в подобных мероприятиях в дальнейшем. Для получения дополнительной информации о конференции просьба обращаться к организаторам по электронной почте [info@pharmjournal.ru](mailto:info@pharmjournal.ru).

**О конференции:**

Ежегодная научно-практическая конференция «Разработка и регистрация лекарственных средств» проводится 2 раза в год: весна, осень. Организаторами конференции выступают ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» и научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств». Целью мероприятия является обобщение научных и практических достижений в сфере разработки ЛС, обсуждение актуальных вопросов, связанных с разработкой, исследованиями, а также регистрацией ЛС. По вопросу участия в дальнейших мероприятиях как в качестве слушателя, так и в качестве докладчика просьба обращаться к организаторам [info@pharmjournal.ru](mailto:info@pharmjournal.ru)

Рекламная статья / Sponsored article

## Внешние стандартные образцы или относительные факторы отклика: вопросы количественного определения примесей в фармацевтических препаратах



Статья предоставлена компанией LGC STANDARDS

Точное и воспроизводимое количественное определение примесей в фармацевтических препаратах является важной частью разработки лекарств. Примеси должны быть доведены до уровня, который гарантирует, что качество продукта будет таким же хорошим или лучше, чем качество материалов, используемых в доклинических исследованиях безопасности и клинических испытаниях. Рекомендации Q3A и Q3B Международного Совета по Гармонизации (ICH) в отношении лекарственных веществ и фармацевтических препаратов обеспечивают нормативные ожидания в отношении исследования и контроля примесей, включая вещества, связанные с процессом, и продукты разложения. Пороговые значения для идентификации и оценки безопасности примесей могут основываться на относительных процентах или непосредственно в миллиграммах воздействия, в зависимости от природы лекарственных веществ и продуктов<sup>1</sup>. Таким образом, точная оценка уровней примесей необходима как для руководства разработкой, так и в течение всего жизненного цикла препарата.

### External Reference Standards or Relative Response Factors: Considerations for Quantitation of Impurities in Pharmaceuticals

The article is presented by the company LGC STANDARDS

Accurate and reproducible quantitation of impurities in pharmaceuticals is an important part of drug development. Impurities must be controlled to levels that will ensure the quality of the product is as good or better than the quality of materials used in preclinical safety studies and clinical trials. International Council for Harmonisation (ICH) Q3A and Q3B guidelines for drug substances and drug products, respectively, provide regulatory expectations for investigation and control of impurities including process-related substances and degradation products. Thresholds for identification and safety qualification of impurities can be based on relative percentages or directly in milligrams of exposure, depending on the nature of drug substances and products<sup>1</sup>. Therefore, an accurate assessment of impurity levels is needed both to guide development efforts and during the entire lifecycle of the drug.

## ВВЕДЕНИЕ

Определение примесей для большинства фармацевтических препаратов осуществляется с помощью метода ВЭЖХ с УФ-детектированием. Количественное определение может быть выполнено в сравнении с внешним стандартом самой примеси или путем сравнения с реакцией активного фармацевтического ингредиента (АФИ). Если отклик (площадь пика / концентрация) примеси отличается от отклика АФИ, то можно применить **относительный коэффициент отклика (ОКО)** для более точного определения процентного содержания примеси. Относительные коэффициенты отклика определяются в уравнении 1 и могут применяться независимо от того, используется ли метод нормализации диапазона (% от общей площади пика) или разбавленный раствор стандарта АФИ.

$$\text{ОКО} = \frac{(\text{отклик примесей} / \text{концентрация примесей})}{(\text{отклик АФИ} / \text{концентрация АФИ})}. \quad (1)$$

Несколько факторов влияют на выбор количественного определения примесей с использованием стандартных образцов на примеси или АФИ с ОКО. В данной статье рассматриваются эти факторы и вопросы, которые необходимо учесть для осознанного выбора.

Эта статья не рассматривает в деталях количественное определение примесей в фармакопейных монографиях. Тем не менее, следует отметить, что Фармакопея США (USP) и Европейская Фармакопея (Ph. Eur.) используют различные условные обозначения для ОКО при расчете примесей. Понимание этих различий важно, чтобы избежать искажения результатов, т. е. в случае, когда информация о фармакопее используется в нефармакопейных целях. В Ph. Eur. монографиях поправочный коэффициент ПК (CF) применяется, когда отклики примеси и АФИ различны. ПК определяется как 1/ОКО и появляется в чис-

<sup>1</sup> ICH Q3A(R2), Q3B(R2).

лителе расчетов примесей как множитель. В обновленных монографиях USP OKO (RRF) обозначены как F и отображаются в знаменателе расчетов. В более старых монографиях используются другие обозначения, поэтому очень важно понять, как относительные факторы отклика или поправочные коэффициенты, используемые в конкретной ситуации, были определены и применяются.

## ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА В СРАВНЕНИИ С АФИ

Общепризнано, что использование эталона для данной примеси является наиболее точным и надежным средством количественного определения примесей. Тем не менее, существуют случаи, когда рекомендуется количественное определение примеси по сравнению с АФИ.

Стандарты примесей может быть трудно выделить или синтезировать в адекватных количествах, необходимых для повседневного использования. Стандарты должны быть адекватно охарактеризованы для подтверждения идентичности и оценки чистоты, и эта характеристика должна тщательно контролироваться для учета потенциальных изменений с течением времени. Доступность и стоимость стандартов улучшились в последние годы из-за появления коммерческих источников у специализированных производителей стандартных примесей. Некоторые из которых работают в соответствии с ISO 17034: 2016 (общие требования к компетенции производителей стандартных образцов) и аккредитованы, чтобы обеспечить максимально возможный уровень качества для повышения точности.

Изготовление внешних стандартных растворов примесей может быть более сложным и трудоемким для лабораторных операций. Этот процесс можно облегчить путем замораживания или охлаждения изготовленных стандартных образцов, в случае если гарантирована их стабильность в течение длительного срока.

Некоторые лекарства имеют сложные примесные профили со многими компонентами, что затрудняет характеристику всех примесей. В таких случаях приоритет при рассмотрении стандартных образцов следует отдавать индивидуально указанным примесям.

## ЗНАЧЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА ОТКЛИКА

Использование ответа АФИ и OKO для точного количественного определения примесей требует точного значения OKO. Определение OKO достигается путем сравнения реакции примеси с реакцией АФИ для известных концентраций соединений в условиях аналитического метода ВЭЖХ. Эталонный стандарт АФИ часто используется для сравнения, поскольку

он был тщательно охарактеризован, ему присвоено значение для анализа, и для приготовления растворов примесей известной концентрации требуется образец примеси. Необходимо подтверждение идентичности примеси, а также знание общей чистоты образца, с помощью которого можно присвоить значение для анализа. OKO примеси часто рассчитывается как отношение наклонов графиков линейности для примеси и АФИ.

В фармакопейных монографиях<sup>1</sup> часто считается, что OKO (RRF) между 0,8 и 1,2 достаточно близки к 1,0, поэтому OKO можно не применять, то есть OKO принимается равным 1,0, но это не так. Более того, для работы с нефармакопейными методами этот подход принимается регуляторными органами только в том случае, если примесь фактически переоценена, то есть истинный OKO выше 1,0, но расчет выполняется с использованием OKO равным 1,0.

Как обсуждается ниже, OKO подвержены изменчивости в зависимости от спектров участвующих соединений и экспериментальных условий анализа, таких как специфические для прибора факторы. Когда методы передаются в лабораторию или внедряется фармакопейный метод, рекомендуется проверить указанные OKO, чтобы убедиться, что инструментальные различия не вызвали значительного расхождения.

## ТОЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА ОТКЛИКА

Правильное количественное определение примесей с использованием OKO зависит от точности самого OKO. Для точного определения OKO необходима правильная оценка значения анализа пробы примесей. Как и в случае эталонных стандартов АФИ, назначение анализа для примесей только путем нормализации площади ВЭЖХ не является адекватным. При назначении анализа необходимо учитывать противоионы соли, влагу, неорганические примеси, остаточные растворители и т.д. Например, выделение примеси путем лиофилизации может оставлять высокие уровни воды. Могут также присутствовать трифлорацетатные соли из препаративной ВЭЖХ-выделения или сольваты из синтезирующего кристаллизационного растворителя. Статья «Характеристика некомпендиальных примесных эталонных стандартов: насколько хорошо это достаточно хорошо?» описывает подходы к назначению данного анализа<sup>2</sup>.

Переоценка анализа примесей приводит к недооценке OKO, что приводит к завышению количества

<sup>1</sup> USP общая статья 621, Ph. Eur.

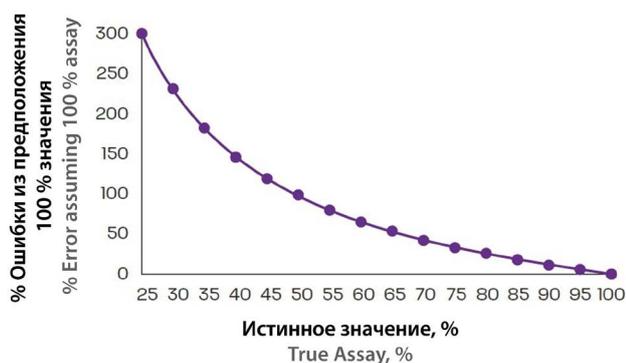
<sup>2</sup> Обратите внимание и публикацию Mikromol «Характеристика некомпендиальных примесных эталонных стандартов: насколько хорошо это достаточно хорошо?». Available at: <https://www.lgcstandards.com/RU/ru/Resources/Mikromol-White-Papers>.

примеси, измеренной в образцах. Потенциальное влияние может состоять в том, что пороговые значения ICH будут неправильно превышены, что приведет к ненужным исследованиям или усилиям по разработке, как будет объяснено более подробно в следующем параграфе.

Процентная ошибка в сообщении уровня примеси с использованием ОКО возрастает по мере того, как содержание стандарта примеси уменьшается, но при расчете ОКО принимается за 100 %. Если содержание стандарта примеси составляет менее 100 %, но вместо этого предполагается, что оно составляет 100 %, ОКО будет присвоено значение, меньшее «истинного» ОКО. Затем при выполнении анализа примесей результаты будут разделены на более низкий ОКО, чем фактический, что приведет к более высокому расчетному результату для примеси.

Например, если ОКО был назначен, предполагая, что стандарт на примеси имел 100%-ый анализ, который на самом деле имел только 70%-ый анализ, была бы получена ошибка переоценки в 43 %. В этом случае, если уровень примесей был на уровне 0,12 %, он будет указан как 0,17 % из-за неправильного ОКО.

Неправильный результат превышает порог квалификации ICH 0,15 % в этом примере, где фактический результат, определенный с точным ОКО (или точно назначенным стандартом внешнего загрязнения), будет ниже порога. Влияние переоценки анализа примесной пробы при назначении ОКО показано на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Ошибка в примесях приводит к неточно определенному ОКО из-за переоценки анализа пробы примесей

**Figure 1.** An error in impurities leads to an inaccurately determined RED due to overestimation of the analysis of an impurity sample

В таком случае завышенная оценка приведет к скрытым расходам, связанным с квалификационными исследованиями, которые затем требуются в соответствии с руководящими принципами ICH Q3A/Q3B. По тому же механизму можно видеть, что переоценка может также привести к ненужным не отвечающим требованиям спецификации [Out-of-Specifi-

cation (OOS)] результатам. Отслеживание результатов OOS считается дорогостоящим мероприятием. Исследование результатов OOS лабораториями и квалифицированным персоналом часто может занять много часов. Одна смета расходов составляет \$3000 (США) за простое расследование с легко определяемой причиной<sup>1</sup>. Понятно, что в случае задержки производства или выпуска продукции могут возникнуть гораздо большие затраты.

Необходимость точной характеристики анализа примесной пробы для назначения ОКО предполагает, что стандарт примесей может быть установлен и использован вместо установления и применения ОКО. Количество доступной примеси по сравнению с количеством, необходимым для обычного использования, может затем стать решающим фактором для использования стандарта.

## ОЦЕНКА АНАЛИЗА ДЛЯ НЕКОМПЕНДИАЛЬНЫХ ПРИМЕСНЫХ СТАНДАРТОВ<sup>2</sup>

Перед оценкой пробы примеси необходимо получить данные для подтверждения структуры материала. Обычно это достигается с помощью спектроскопических методов, таких как МС, ЯМР и ИК. Другие данные, такие как элементный состав, также могут поддерживать идентификацию образца.

Значение анализа часто рассчитывается по балансу массы, где примеси определяются и вычитаются из 100 %. Основным соображением для точного присвоения баланса массы является то, что все значительные примеси были учтены. Другие компоненты в образце, такие как противоионы или сольватированные растворители, включая воду, также должны учитываться.

Количественный <sup>1</sup>H-ЯМР (кЯМР) во многих случаях полезен для определения пробы образца<sup>3</sup>. Площадь резонансного пика или группы пиков, характерных для соединения, можно сравнить с площадью пика внутреннего стандарта известного соединения. Зная количество протонов, которые вызывают соответствующие пики, можно рассчитать анализ пробы примеси. кЯМР может быть особенно полезен, когда примесь не может быть получена путем внешней покупки или внутреннего синтеза. Когда примесь должна быть извле-

<sup>1</sup> How Painful Are OOS Investigations? Available at: <http://complectors.com/?p=64>. Accessed: 09.03.2018.

<sup>2</sup> Стандарты компендиальных примесей здесь выходят за рамки, поскольку они предназначены для использования только в сочетании с фармакопейными методами. Их использование в других целях не охватывается фармакопейями. (например: USP general chapter 11, Ph.Eur. general text 5.12.).

<sup>3</sup> a) Malmström J., Hansen L., Ryager A., Olsen H. J Pharm Sci. 2005;94:2549–2567. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16200561>. b) Liu S., Hu C. Anal Chim Acta. 2007;602:114–121. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17936115>.

цена из АФИ или готовых лекарственных форм в достаточных количествах с помощью предварительной ВЭЖХ для идентификации и количественного определения, кЯМР может оказать огромную помощь в определении значений чистоты или анализа, учитывая небольшое количество доступного материала.

Точность, необходимая для назначения анализа примесей, должна учитывать предполагаемое использование стандарта на примеси. Например, если образец используется в качестве качественного пикового маркера, этого может быть достаточно для подтверждения идентичности и установления отсутствия других компонентов, которые могли бы привести к значительным пикам. Процессы идентификации примесей и определения характеристик описаны более подробно в сопроводительном документе<sup>1</sup>.

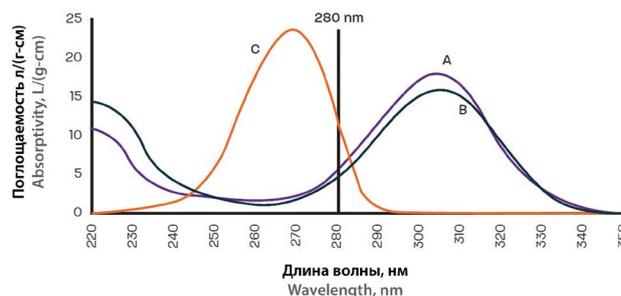
## ДРУГИЕ «ПОДВОДНЫЕ КАМНИ» ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА ОТКЛИКА

### Сходимость

Постоянство ОКО изо дня в день, на разных приборах и в разных лабораториях важна для долгосрочного использования метода. Одним из основных факторов, влияющих на значение ОКО, является УФ-спектр примеси и АФИ<sup>2</sup>. Если небольшие изменения в длине волны вызывают относительно большие изменения в примесях и откликах АФИ, то значение ОКО подвержено высокой изменчивости. Это особенно заметно, когда спектры примеси и АФИ имеют наклон в противоположных направлениях в небольшом диапазоне вокруг номинальной длины волны детектирования. Это проиллюстрировано на рисунке 2, где показаны спектры для АФИ (А) и примесей В и С. Длина волны детектирования составляла 280 нм, чтобы обеспечить детектирование обеих примесей. Изучение спектров показывает, что небольшое уменьшение длины волны от 280 нм даст более высокий отклик для примеси С и более низкий отклик для АФИ. Противоположная ситуация возникает при небольшом увеличении длины волны.

<sup>1</sup> Эталонные стандарты на примеси в идеале производятся по специальной системе качества, такой как ISO 17034: 2016, которая отличает их от исследовательских химикатов. Риск использования исследовательских химикатов взаимозаменяемо с эталонными стандартами иллюстрируется недавним проектом по перепрофилированию лекарств Broad Institute, который показал, что 29 % из исследованных 8500+ образцов соединений не прошли контроль качества, показав чистоту менее 85 %, даже для продуктов, для которых была заявлена гораздо более высокая чистота. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5568558/>

<sup>2</sup> Olsen B. A., Argentine M. D. J. Chromatogr. A. 1997;762: 227–233. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9098981>.



**Рисунок 2.** УФ-спектры лекарственного вещества А и примесей В и С. Длина волны детектирования метода составляет 280 нм

**Figure 2.** UV spectra of drug substance A and impurities B and C. The detection wavelength of the method is 280 nm

ОКО для примеси С изменяется примерно на 30 % при изменении длины волны от 280 нм до  $\pm 2$  нм. Небольшие изменения длины волны приводят к незначительному изменению ОКО для примеси В, поскольку ее спектр изменяется почти идентично спектру АФИ. К сожалению, устойчивость ОКО относительно небольших изменений длины волны не всегда оценивается при разработке и валидации метода. Другие факторы детектора, такие как тип детектора (переменная длина волны или матрица фотодиодов) и полоса пропускания или другие настройки, могут влиять на прочность ОКО, но по этим факторам доступно мало информации<sup>3</sup>.

### Диапазон применения Относительного Коэффициента Отклика

Есть ли предел диапазона применения ОКО? Например, следует ли применять ОКО вне диапазона 0,1–10? Одно из указаний предполагает, что минимальный ОКО должен быть ограничен до 0,2, но выбор остается за разработчиками методов. Цель метода будет являться фактором для этого решения, но очень низкие значения ОКО могут вносить большие ошибки или изменчивость в количественные результаты для примесей, поскольку интеграция и хроматографическая изменчивость увеличиваются. Кроме того, когда проводится анализ следов для соединений, таких как мутагенные примеси, рекомендуется использовать внешний контроль, поскольку приемлемые пороговые значения определяются воздействием соединения на основе массы<sup>4</sup>.

### Сопоставимость методов

Трудно сравнивать результаты между различными методами, если в одном или обоих методах используются неточные или ненадежные ОКО. Это вызывает

<sup>3</sup> Техническое руководство по разработке монографий. 7-е изд., 2015.

<sup>4</sup> Руководство ICH M7 по мутагенным примесям.

трудности сравнения, особенно если пределы спецификации примесей основаны на результатах с неточными ОКО. В таких случаях рекомендуется изменить метод на более точный.

## СТАНДАРТНЫЕ ПОДХОДЫ

Как упоминалось ранее, наличие, характеристика и простота подготовки являются факторами, которые следует учитывать при использовании эталонных стандартов примеси. Стандартные растворы в одноразовых или многоразовых флаконах, которые можно хранить в условиях, обеспечивающих адекватную стабильность примесей, могут уменьшить необходимое количество примеси. Приготовление стандартных растворов для инъекций также может быть более эффективным с растворами, которые можно хранить в течение длительных периодов времени.

Внешний стандартный образец также служит в качестве положительной идентификации пика примеси, вместо того чтобы полагаться на относительные времена удерживания, которые подвержены изменчивости. Положительная идентификация пиков особенно полезна, если несколько возможных примесей близки по удержанию и их присутствие колеблется от образца к образцу.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количественное определение примесей с использованием внешних стандартов обеспечивает точное определение результатов в массовых процентах, которое предотвращает неверные выводы при сравнении уровней примесей с порогами примесей ICH. Внешние стандарты примесей также обеспечивают точные результаты, которые могут обеспечить основу для сопоставимости в течение жизненного цикла аналитического метода для примесей, то есть для проверки того, что продукт соответствует техническим характеристикам во время обычного контроля качества. В идеале, такие эталонные стандарты производятся в рамках специальной системы качества, такой как ISO 17034: 2016 (Общие требования к компетентности производителей эталонных материалов), представляющей максимально возможный уровень качества. Количественный анализ по сравнению с ответом АФИ, модифицированным с помощью относительных факторов отклика, также может успешно использоваться при соответствующих обстоятельствах, если ОКО назначаются точно. Надежное определение ОКО требует наличия примесной пробы, анализ которой точно определен. Потенциальные проблемы прочности с ОКО (RRF) должны быть рассмотрены при включении ОКО в методы для обычного долгосрочного использования.

# Mikromol™

## Узнайте, как мы можем стать вашим партнером для оценки качества с помощью фармацевтических эталонных образцов.

На протяжении более 27 лет Mikromol является синонимом совершенства.

Разделение фаз при экстракции жидкость-жидкость Эналаприл малеат. (Примесь Имидазол, ММ0015.02).

Мы являемся ведущим международным производителем и поставщиком средств обеспечения контроля качества, которые призваны усовершенствовать ваши программы тестирования и помочь в проведении аналитических испытаний.

Мы используем наш опыт для производства продукции в соответствии с высочайшими стандартами, включая ISO / IEC 17025 и ISO 17034, чтобы вы могли быть уверены в достоверности результатов, содержащихся в Сертификате Анализа продукта.

- Более пяти тысяч эталонных образцов Mikromol для АФС, примесей и вспомогательных веществ. По всему миру наши изделия применяются для разработки аналитических методик, валидации методов и контроля качества готовой продукции
- Постоянное наличие стандартных образцов на складе, в том числе Европейской Фармакопеи
- Комплексный подход в формировании заказов, в том числе производство эталонных образцов по индивидуальному заказу для выявления примесей и АФС
- Профильные команды для оказания поддержки при выборе эталонных образцов и проведении аналитических испытаний



### Mikromol, достижение стандартов совместными усилиями.

- Детализированный протокол испытаний
- Сервисная служба на разных языках
- Опыт в обращении с контролируруемыми веществами
- Поддержка электронных заказов и интегрированные системы закупок
- Удобные покупки в онлайн-магазине

#### Контакты:

E-mail: [ru@lgcgroup.com](mailto:ru@lgcgroup.com)  
Тел: +7 (495) 197 7801



Рекламная статья / Sponsored article



## Аппаратные средства Thermo Scientific для оптимизации трансфера методик ВЭЖХ из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD и систему УВЭЖХ Vanquish Flex

Статья предоставлена компанией «АВРОРА»

**Цель статьи:** демонстрация прямого переноса аналитических методов ВЭЖХ из системы Agilent™ 1260 Infinity на платформу UltiMate 3000 и платформу Vanquish.

В статье показаны преимущества платформ UltiMate 3000 и Vanquish для прямого переноса ВЭЖХ методов, согласно требованиям USP.

- Гибкая регулировка общего объема системы в системах Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 и системах УВЭЖХ Thermo Scientific™ Vanquish™ упрощает перенос аналитических методов ВЭЖХ.
- Расширенные аппаратные функции системы ВЭЖХ Thermo Scientific™ Vanquish™ позволяют гибко регулировать общий объем задержки градиента системы для облегчения точной настройки во время переноса.
- Эквивалентные хроматографические результаты получены с обеими системами, но улучшенное разрешение и повторяемость системы обеспечиваются системой Thermo Scientific™ Vanquish™.
- Если чувствительность обнаружения является критической проблемой, то технология Thermo Scientific™ LightPipe™ является оптимальным решением.

## Thermo Scientific Hardware to Optimize the Transfer of HPLC Methods from the Agilent 1260 Infinity System to the UltiMate 3000 SD and the Vanquish Flex UHPLC system

The article is presented by the company "AURORA"

**Purpose of the article:** To demonstrate the direct transfer of analytical HPLC methods from an Agilent™ 1260 Infinity system to the UltiMate 3000 platform and the Vanquish platform.

This article demonstrates the benefits of the UltiMate 3000 and Vanquish platforms for direct transfer of HPLC methods, as required by the USP.

- Flexible control of total system volume on Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 systems and Thermo Scientific™ Vanquish™ UHPLC systems simplifies the transfer of analytical HPLC methods.
- The advanced hardware features of the Thermo Scientific™ Vanquish™ LC system allow flexible adjustment of the total system gradient hold volume to facilitate fine tuning during transfer.
- Equivalent chromatographic results are obtained with both systems, but improved system resolution and repeatability are provided by the Thermo Scientific™ Vanquish™ System.
- If detection sensitivity is a critical issue, then Thermo Scientific™ LightPipe™ technology is the optimal solution.

### ОБЩАЯ ЧАСТЬ

Перенос методов аналитической жидкостной хроматографии (ЖХ) с одного прибора на другой является частой, но сложной задачей в большинстве отраслей промышленности и имеет особое значение в фармацевтическом производстве, регулируемым требованиями надлежащих практик<sup>1</sup>. Причины необходимости переноса методов много, процедуры включают перенос между одним и тем же или разными типами инструментов в одной лаборатории, а также переход с устаревших инструментов на новые в связи с заменой. Кроме того, очень распространен переход от исследовательских лабораторий к внедряющим лаборато-

риям с различным расположением и оборудованием.

Правильная передача достигается только в том случае, если на передающей и принимающей системе ВЭЖХ получены эквивалентные результаты<sup>2</sup>. Истинная сложность этой задачи во многом зависит от надежности передаваемого метода, а также от инструментальных различий обеих систем. Чтобы успешно справиться с задачей поддержания времени удерживания, разрешения и других критических факторов, необходимо учитывать особые технические характеристики систем, такие как объем градиентной задержки (GDV), гидродинамическое поведение или режим термостабилизации. Кроме того, поскольку повторная валидация занимает много времени и является дорогостоя-

<sup>1</sup> Swartz M. E., Krull I. Analytical Method Transfer. *LCGC North America*. 2006;24(11):1204–1214.

<sup>2</sup> Ermer J., Limberger M., Lis K., Wdtzig H. The transfer of analytical procedures. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013;85:262–276.

ящим, следует по возможности избегать изменения параметров метода.

В таблице 1 ниже указаны допустимые корректировки параметров для методов ВЭЖХ по Фармакопее США (USP 37 NF 32 S1 Глава 621).

Как видно из таблицы, трансфер методики, особенно методики, связанной с градиентным элюированием, имеет очень мало степеней свободы в плане корректировки самой методики, поэтому возможность различных аппаратных решений, позволяющих корректировать параметры метода, без изменения критических параметров методики, становится критичной при передаче методов.

В предлагаемой вашему вниманию статье демонстрируется использование аппаратных функций, предоставляемых платформами Thermo Scientific UltiMate 3000 и Vanquish, таких как настраиваемый объем задержки градиента и переключаемые режи-

мы термостатирования, для передачи метода с прибора другого производителя (здесь система Agilent 1260 Infinity).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Реагенты и материалы

- Деионизированная вода с удельным сопротивлением 18,2 МОм · см или выше.
- Метанол Fisher Scientific™ Optima™, класс ЖХ/МС.
- Безводный двухосновный фосфат натрия Fisher Scientific™.
- Дигидрофосфат калия Fisher Scientific™.
- Ацетаминофен, 4-аминофенол, N- (4-гидроксифенил) пропанамид (примесь В), 2-ацетамидофенол (примесь С), ацетанилид (примесь D), 4'-хлорацетанилид (примесь J) были приобретены у поставщиков с хорошей репутацией.

Таблица 1. Допустимые корректировки параметров для методов ВЭЖХ по Фармакопее США

Table 1. Admissible parameter adjustments for HPLC methods according to the US Pharmacopoeia

Параметры пригодности системы System suitability parameters	USP 37 NF 32 S1 Глава 621 USP 37 NF 32 S1 Chapter 621	
	Изократика Isocratic	Градиент Gradient
Размер частиц Particle size	Д/рч: от -25 до +50 % или КТТ: -25 до +50 %	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Длина колонки Column length	L/ps: from -25 to +50 % or NTP: -25 to +50 %	
Внутренний диаметр колонки Column inner diameter	Можно регулировать, если линейная скорость остается постоянной Can be adjusted if line speed remains constant	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Скорость потока Flow rate	$F2 = F1 \times [(dc2 \cdot 2 \times dp1) / (dc1 \cdot 2 \times dp2)]$ Дополнительные корректировки: $\pm 50\%$ , дает уменьшение КТТ $\leq 20\%$ Additional adjustments: $\pm 50\%$ , gives a reduction in NTP $\leq 20\%$	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Объем ввода пробы Sample injection volume	Может регулироваться, насколько это соответствует точности и пределам обнаружения Can be adjusted to match accuracy and detection limits	Может регулироваться, насколько это соответствует точности и пределам обнаружения Can be adjusted to match accuracy and detection limits
Температура колонки Column temperature	$\pm 10\text{ }^\circ\text{C}$	$\pm 10\text{ }^\circ\text{C}$
pH подвижной фазы pH of the mobile phase	$\pm 0,2$ ед. $\pm 0.2$ units	$\pm 0,2$ ед. $\pm 0.2$ units
Содержание солей Salt content	В пределах $\pm 10\%$ при соблюдении допустимого отклонения pH Within $\pm 10\%$ subject to pH tolerance	В пределах $\pm 10\%$ при соблюдении допустимого отклонения pH Within $\pm 10\%$ subject to pH tolerance
Соотношение компонентов в подвижной фазе The ratio of the components in the mobile phase	Второстепенный компонент ( $\leq 50\%$ ): относительное значение $\pm 30\%$ , но не может превышать $\pm 10\%$ абсолютного значения; можно регулировать только один второстепенный компонент в тройных смесях Minor component ( $\leq 50\%$ ): relative value $\pm 30\%$ , but cannot exceed $\pm 10\%$ of the absolute value; only one minor component can be adjusted in ternary mixtures	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Длина волны детектора Detector wavelength	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed

**Примечание.** Д/рч – отношение длины колонки к размеру частиц сорбента.  
КТТ – число теоретических тарелок.

**Note.** L/ps – the ratio of the column length to the size of the sorbent particles.  
NTP – the number of theoretical plates.

Таблица 2. Приборы

Table 2. Devices

Стандартные конфигурации Standard configurations			
	Agilent 1269 Infinity	UltiMate 3000	Vanquish Flex
Насос Pump	Градиентный, четыре растворителя Gradient, four solvents	Стандартный градиентный четыре растворителя Standard Gradient Four Solvents	Градиентный, четыре растворителя Gradient, four solvents
Автосамплер Autosampler	Высокоэффективный сэмплер с модулем термостатирования High efficiency sampler with thermostat module	Микропланшетный автосамплер WPS3000TSL Microplate Autosampler WPS3000TSL	Сплит сэмплер FT Split sampler FT
Отделение для колонок Column compartment	Термостатируемое, с теплообменником 6 мкл Thermostatted, with 6 µl heat exchanger	Термостатируемое с теплообменником Thermostatted with heat exchanger	Термостатируемое с настраиваемым теплообменником Thermostatted with adjustable heat exchanger
Детектор Detector	Диодно-матричный детектор Diode Array Detector	Диодно-матричный детектор Diode Array Detector	Диодно-матричный детектор Diode Array Detector
Ячейка Cell	Стандартная 10 мм, 13 мкл Standard 10 mm, 13 µl	Аналитическая 10 мм, 13 мкл Analytical 10 mm, 13 µl	Стандартная био 10 мм, 13 мкл Standard bio 10 mm, 13 µl
<i>Аппаратные модификации, примененные для передачи метода Hardware modifications applied to method transfer</i>			
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Добавление 7 мкл преподогревателя элюента.</li> <li>• Замена штатного статического смесителя 350 мкл на статический смеситель 750 мкл</li> <li>• Addition of 7 µl eluent preheater.</li> <li>• Replacing a standard 350 µl static mixer with a 750 µl static mixer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Замена штатной петли на 25 мкл петель на 100 мкл.</li> <li>• Замена объема задержки градиента с 25 мкл по умолчанию</li> <li>• Replacement of a standard loop for 25 µL with a loop for 100 µL.</li> <li>• Replacing the delayed gradient volume from the default 25 µL</li> </ul>
<i>Модификации для повышения чувствительности Sensitivity modifications</i>			
			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Замена DAD FG на DAD HL со стандартной проточной кюветой LightPipe (10 мм) или установка проточной кюветы высокой чувствительности LightPipe (60 мм)</li> <li>• Replace DAD FG with DAD HL with standard LightPipe (10 mm) flow cell or install LightPipe (60 mm) high sensitivity flow cell</li> </ul>

Таблица 3. Условия хроматографирования

Table 3. Chromatographic conditions

Колонка Column	Hypersil GOLD C8, 4.6 × 100 mm, 3 µm, 175 A
Подвижная фаза Mobile phase	A: 1,7 г/л KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> и 1,8 г/л Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> в воде. B: метанол A: 1.7 g/l KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> and 1.8 g/l Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> in water. B: methanol
Скорость потока Flow rate	1 мл/мин 1 ml/min
Градиент Gradient	0 мин 1% B 3 мин 1% B 7 мин 81% B 7,1 мин 1% B 12 мин 1% B* 0 min 1% B 3 min 1% B 7 min 81% B 7.1 min 1% B 12 min 1% B*

Температура колонки Temperature columns	35 °C с использованием предварительного нагрева элюента 35 °C using eluent preheating
Температура проб Temperature samples	8 °C
Детектирование Detection	230 нм, частота сбора данных 10 Гц, время отклика 0,5 с 230 nm, acquisition rate 10 Hz, response time 0.5 s
Объем ввода пробы Sample injection volume	1 мкл 1 µl
Промывка иглы Needle flush	Отключена Disabled

**Примечание.** \* При использовании системы UltiMate 3000 SD со статическим миксером на 750 мкл время уравнивания было увеличено до 13 минут.

**Note.** \* Equilibration time increased to 13 minutes when using the UltiMate 3000 SD system with a 750 µL static mixer.

## Пробоподготовка

Исходные растворы ацетаминофена (20 мг/мл), 4-аминофенола и примесей В, С, D и J (по 1 мг/мл каждый) готовили в метаноле. Путем разбавления метанолом и смешивания исходных растворов был подготовлен образец, содержащий 1 мг/мл ацетаминофена и 10 мкг/мл каждого из других соединений (что соответствует 1 % API).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все эксперименты по переносу метода проводились с одной и той же колонкой и образцом, с согласованными параметрами метода и семью повторными вводами. Хроматограммы на рисунке 1 отображают начальную ситуацию для переноса из системы Agilent 1260 Infinity к системе UltiMate 3000 SD и к системе Thermo Scientific™ Vanquish™.

Соответствующие времена удерживания приведены в таблице 4.

На рисунке 1а данные системы Agilent 1260 Infinity сравниваются с данными, полученными на системе UltiMate 3000 стандартной конфигурации без предварительного нагревателя элюента, а также с данными, полученными на системе UltiMate 3000, оснащенной дополнительным предварительным нагревателем объемом 7 мкл. Отчетливые различия обеих хроматограмм системы UltiMate 3000 наглядно демонстрируют заметное влияние термостатиро-

вания элюента даже при умеренных температурах разделения. Таким образом, успешный перенос метода должен осуществляться при отрегулированных условиях термостатирования и установленном подогревателе в системе UltiMate 3000. Это особенно подчеркивается поведением первого пика (4-аминофенол), который элюируется в изократических условиях и не подвержен эффектам градиента. Без предварительного нагрева элюента он элюируется позже, чем в системе Agilent 1260 Infinity, и приближается, когда применяется предварительный нагрев. В систему Vanquish Flex активный подогреватель включен в стандартную конфигурацию и для переноса этого метода он был активирован, давая аналогичное удерживание аминафенола (рисунок 1b). Напротив, все пики, которые элюируются во время градиента, элюируются раньше на обоих приборах Thermo Scientific, чем на системе Agilent 1260 Infinity с включенным предварительным нагревом элюента для трех систем. В основном это происходит из-за большего (и, кроме того, зависящего от обратного давления) объема задержки градиента прибора Agilent 1260. По этой причине физическая регулировка объема задержки градиента с помощью нескольких функций, предоставляемых UltiMate 3000 и Vanquish, является многообещающим способом минимизировать системные различия для успешного переноса метода.

Для переноса анализа ацетаминофена из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD статический смеситель по умолчанию (350 мкл) был

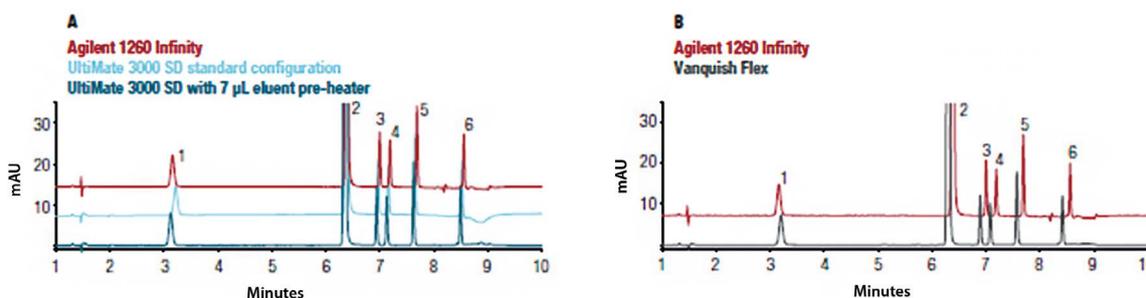


Рисунок 1. Начальная ситуация передачи метода.

А – Хроматограмма системы Agilent 1260 Infinity по сравнению с системой UltiMate 3000 SD в стандартной конфигурации и с дополнительным предварительным нагревателем элюента; В– Хроматограмма системы Agilent 1260 Infinity по сравнению с системой Vanquish Flex

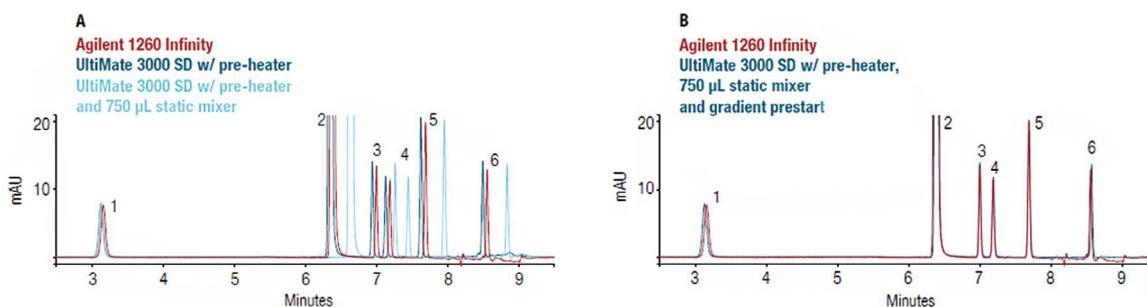
Figure 1. Initial situation of method transfer.

A – Chromatogram of the Agilent 1260 Infinity system compared to the UltiMate 3000 SD system in standard configuration and with optional eluent preheater; B – Chromatogram of the Agilent 1260 Infinity System compared to the Vanquish Flex System

Таблица 4. Времена удерживания

Table 4. Retention times

№ пика Peak no.	Компонент Component	1260	UM 3000 без пре-хитера UM 3000 without pre-heather	UM 2000 с пре-хитером UM 2000 with pre-hitter	Vanquish Flex
1	4-аминофенол	3.16	3.21	3.13 (Δ 0.9 %)	3.20 (Δ - 1.3 %)
2	Ацетаминофен (АФИ)	6.38	6.39	6.34 (Δ 0.5 %)	6.29 (Δ 1.3 %)
3	Примесь В	7.00	6.97	6.94 (Δ 0.8 %)	6.89 (Δ 1.6 %)
4	Примесь С	7.19	7.16	7.13 (Δ 0.8 %)	7.08 (Δ 1.5 %)
5	Примесь D	7.69	7.66	7.63 (Δ 0.8 %)	7.57 (Δ 1.6 %)
6	Примесь J	8.56	8.52	8.50 (Δ 0.7 %)	8.41 (Δ 1.7 %)



**Рисунок 2.** Передача метода из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD.

**A** – Сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы UltiMate 3000 SD с предварительным нагревателем элюента и статическим смесителем стандартного или большего размера; **B** – окончательный перенос: сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы UltiMate 3000 SD с подогревателем элюента, статическим смесителем большего размера и предварительным запуском градиента

**Figure 2.** Method transfer from an Agilent 1260 Infinity system to an UltiMate 3000 SD system.

**A** – Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the UltiMate 3000 SD System with standard or larger eluent preheater and static mixer; **B** – Final Transfer: Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the UltiMate 3000 SD System with Eluent Warmer, Larger Static Mixer, and Gradient Pre-Run

заменен на более крупный смеситель на 750 мкл. Поскольку эта разница в объеме чрезмерно компенсировала разницу ОЗГ между передающей и принимающим приборами (см. рисунок 2а), для согласования времен удерживания был применен престарт градиента.

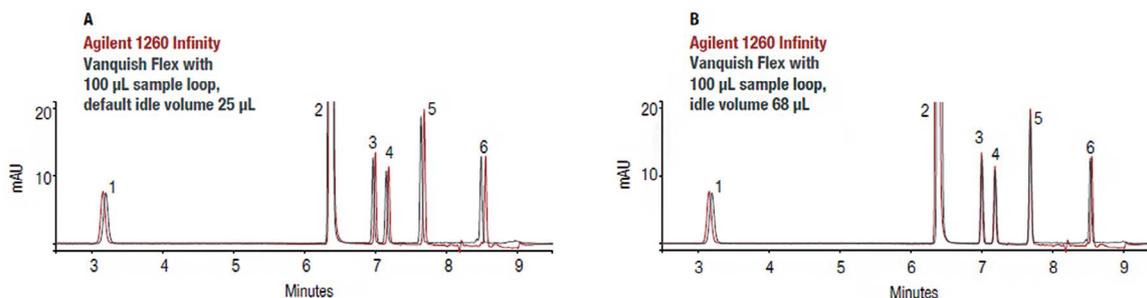
С помощью техники предварительного запуска можно смоделировать меньший объем задержки градиента путем смещения времени инъекции относительно начала метода. Поскольку инъекция по определению выполняется в 0,0 мин, для начала метода устанавливается отрицательное значение времени и все остальные шаги метода сдвигаются на то же значение. Таким образом, ни один сегмент метода не изменяется, и таблица градиентов в целом не изменяется. Для текущего переноса степень сдвига по времени составила  $-0,27$  мин и была получена из средней разницы во времени удерживания пиков, элюированных градиентом системы UltiMate 3000 со статическим смесителем на 750 мкл и системой Agilent 1260 Infinity. На рисунке 2b показано очень хорошее совпадение времени удерживания, которое было получено с помощью этого метода, что дает отклонения относительного времени удерживания  $< 1\%$  для аминафенола и  $< 0,2\%$  для пиков, которые элюируются в градиенте по отношению к исходному методу. Хотя пики, элюированные градиентом, сдвигаются в соответствии с истинными или смоделированными корректировками ОЗГ, пики, элюированные в изократических условиях, не затрагиваются. Незначительная разница в удерживании аминафенола, таким образом, может быть результатом немного различных температурных условий или пропорции изократических условий с  $1\%$  подвижной фазы В.

Напротив, предварительный запуск градиента не был необходим для системы Vanquish Flex для достижения согласованности времени удерживания из-за более гибких возможностей настройки GDV. Сначала разница ГРВ.

Системы Agilent 1260 Infinity и Vanquish Flex стандартной конфигурации, представленные на рисунке 1b, были частично компенсированы заменой стандартной петли для отбора проб Vanquish петлей для отбора проб 100 мкл (фактический вклад ОЗГ 130 мкл). Полученное время удерживания было ближе к исходному прибору (см. рисунок 3а), а оставшиеся различия находились в диапазоне, который можно было компенсировать, регулируя объем задержки градиента дозирующего устройства автосэмплера, проводящего ввод пробы. Эта функция уникальна для платформы Vanquish и может помочь в тонкой настройке ОЗГ, поскольку она является частью пути потока петли образца. Настройка объема холостого хода по умолчанию, равная 25 мкл, была увеличена на 43 мкл до 68 мкл, что привело к хорошему согласованию времен удерживания, показанному на рисунке 3b, с относительными отклонениями времени удерживания  $1,2\%$  для аминафенола и  $< 0,4\%$  для пиков градиента.

Еще одна уникальная особенность приборов Vanquish – переключаемый режим термостатирования отсека колонки, дающий возможность выбора между статическим или принудительным нагревом колонны воздуха. Предыдущие хроматограммы были записаны в режиме неподвижного воздуха, так как он лучше всего отражает режим термостатирования отделения колонки Agilent. Рисунок 4 показывает, что для текущего применения режим термостатирования оказывает незначительное влияние на время удерживания и здесь им можно пренебречь. Однако в приложениях с более высокими диапазонами давления (сверхвысокопроизводительная ЖХ, УВЭЖХ,  $> 600$  бар), где становится актуальным нагрев колонки трением, режим отделения колонки имеет определенное значение.

В результате, времена удерживания были успешно перенесены с прибора Agilent 1260 Infinity на прибор UltiMate 3000 SD и прибор Vanquish Flex с помощью физической или моделируемой адаптации ОЗГ.

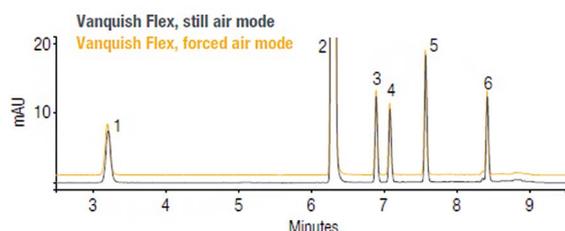


**Рисунок 3.** Перенос метода из системы Agilent 1260 Infinity в систему Vanquish Flex.

**A** – Сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы Vanquish Flex с петлей для образцов на 100 мкл; **Б** – окончательный перенос: сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы Vanquish Flex с петлей для образцов 100 мкл и адаптированным свободным объемом до 68 мкл

**Figure 3.** Method transfer from an Agilent 1260 Infinity system to a Vanquish Flex system.

**A** – Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the Vanquish Flex System with a 100 µL sample loop; **B** – Final Transfer: Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the Vanquish Flex System with a 100 µL sample loop and an adapted free volume up to 68 µL



**Рисунок 4.** Незначительное влияние режима термостатирования колонки для системы Vanquish Flex в режиме статического и принудительного воздухообмена

**Figure 4.** Minor effect of column incubation mode for Vanquish Flex system in static and forced air exchange mode

Это полностью согласуется с допустимыми корректировками в соответствии с Общей главой USP <621>, в которой говорится: «Если корректировки необходимы, изменение [...] продолжительности первоначальной изократической задержки (если предписано) и/или допустимый объем выдержки»<sup>1,2</sup>. Кроме того, важные хроматографические результаты легко сохранялись во время переноса. Разрешение критической пары примесей В и С всего<sup>3</sup> или лучше тестируемых сценариев, а коэффициенты задержки пиков варьировались от 0,99 до 1,12. Относительное стандартное отклонение высот пиков всегда было намного ниже

<sup>1</sup> United States Pharmacopeia USP40-NF35 S2, Acetaminophen method, The United States Pharmacopeial Convention, 2017.

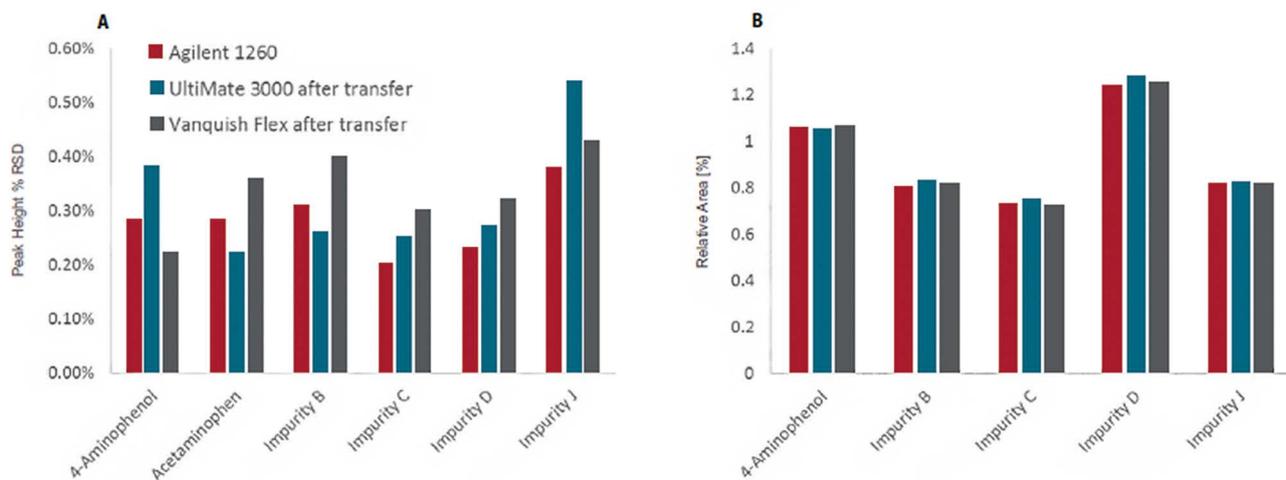
<sup>2</sup> United States Pharmacopeia USP40-NF35 S2, General chapter <621> Chromatography, The United States Pharmacopeial Convention, 2017.

<sup>3</sup> Paul C., Grubner M. et al. Thermo Scientific White Paper 72711: An instrument parameter guide for successful (U)HPLC method transfer. 2018. Available at: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Reference-Materials/wp-72711-lc-methodtransfer-guide-wp72711-en.pdf>.

1 % (рисунок 5а). Таким образом, соответствие системы USP было достигнуто всеми тремя системами, как с адаптацией ОЗГ, так и без нее. Относительные площади всех пиков примесей были постоянными на всех трех приборах (рисунок 5б).

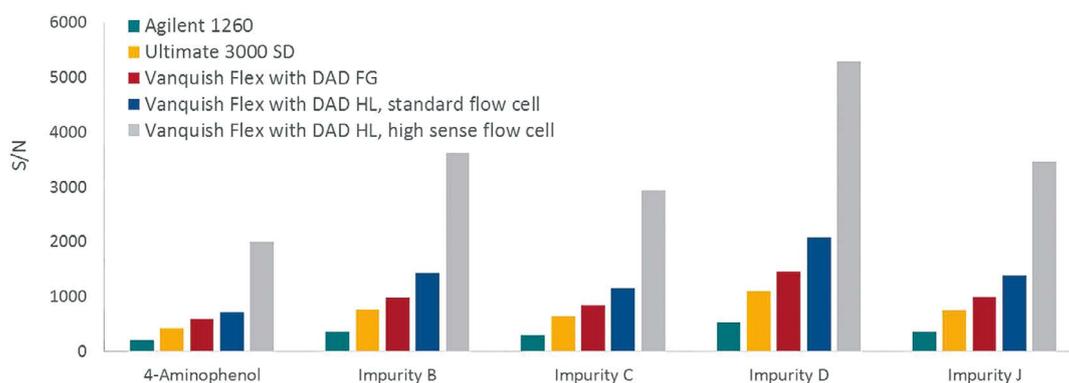
На рисунке 6 приведены отношения сигнал/шум (S/N) переданного метода, демонстрирующие явное улучшение характеристик S/N от исходной системы к системе Ultimate 3000 SD и системе Vanquish Flex в представленной конфигурации. В качестве альтернативы Thermo Scientific™ Vanquish™ DAD FG предлагается Thermo Scientific™ Vanquish™ DAD HL, которая обеспечивает превосходное отношение сигнал/шум, основанное на технологии Thermo Scientific™ LightPipe™, (дополнительный серый столбик на графике). Эти результаты были получены с той же системой Vanquish, что и раньше, но с замененной стандартной проточной кюветой с такой же длиной оптического пути, что и в трех предыдущих системах 10 мм на высокочувствительную проточную кювету с световым путем 60 мм. Повышение отношения сигнал/шум проточной кюветы LightPipe в основном вызвано снижением шума, а преимущество от применения высокочувствительной проточной кюветы, в частности, обусловлено увеличением чувствительности из-за длинного светового пути. Эта ячейка особенно подходит для анализа с колонками с внутренним диаметром 4,6 мм<sup>4</sup>. Таким образом, DAD HL оптимален для анализа примесей с низким содержанием, и настоятельно рекомендуется если характеристики отношения сигнал/шум или чувствительность имеют решающее значение.

<sup>4</sup> Manka A., Franz, H. Thermo Scientific Technical Note 165: Boosting Trace Detection Performance with the Vanquish Diode Array Detector and High-Sensitivity LightPipe Flow Cell. 2016. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/TN-165-LC-Vanquish-DAD-Trace-Detection-TN71674-EN.pdf>. Accessed: 26.04.2021.



**Рисунок 5.** Усредненная точность высоты пика (A) и относительные площади пиков примесей (B) для исходной системы Agilent 1260 Infinity, системы UltiMate 3000 SD после оптимизации переноса метода (статический смеситель 750 мкл и предварительный запуск градиента) и системы Vanquish Flex после оптимизация переноса метода (петля для образцов 100 мкл и свободный объем 68 мкл)

**Figure 5.** Average Accuracy of Peak Height (A) and Relative Peak Areas for Impurities (B) for the original Agilent 1260 Infinity System, UltiMate 3000 SD System after Method Transfer Optimization (750  $\mu$ L Static Mixer and Gradient Pre-Run), and Vanquish Flex System after Transfer Optimization method (sample loop 100  $\mu$ L and free volume 68  $\mu$ L)



**Рисунок 6.** Отношения сигнал/шум (S/N), полученные с помощью системы Agilent 1260 Infinity, системы Ultimate 3000 SD после оптимизации переноса метода (статический смеситель 750 мкл и предварительный запуск градиента), системы Vanquish Flex после оптимизации переноса метода (образец 100 мкл петля и объем холостого хода 68 мкл) с DAD FG, DAD HL с проточной кюветой 10 мм и DAD HL с проточной кюветой с высокой чувствительностью 60 мм. Шум рассчитывается по текущей хроматограмме 4,1–4,6 мин

**Figure 6.** Signal-to-noise (S/N) ratios obtained with the Agilent 1260 Infinity System, the Ultimate 3000 SD System after method transfer optimization (750  $\mu$ L static mixer and gradient pre-run), Vanquish Flex System after method transfer optimization (sample 100  $\mu$ L loop and 68  $\mu$ L idle volume) with DAD FG, DAD HL with 10 mm flow cell, and DAD HL with 60 mm high sensitivity flow cell. Noise is calculated from the current chromatogram 4.1–4.6 min

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Во время переноса метода анализа на ацетаминофен из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD, а также в систему Vanquish Flex (все с четверным градиентом), прямое совпадение времени удерживания было достигнуто за счет истинных и имитированных корректировок ГРВ с помощью различных инструментов, предоставляемых платформы Thermo Scientific, такие как сменные подогреватели элюента, насосные смесители, кон-

туры проб и регулируемый объем холостого хода автосэмплера.

Другие важные хроматографические результаты, такие как разрешение пары критических пиков, асимметрия пиков, точность высоты пика и относительные площади пиков, легко сохранялись во время переноса. Соотношение сигнал/шум заметно улучшилось во время передачи.

Если чувствительность метода к обнаружению вызывает особую озабоченность, рекомендуется использовать технологию DAD LightPipe для приложений LC-UV.

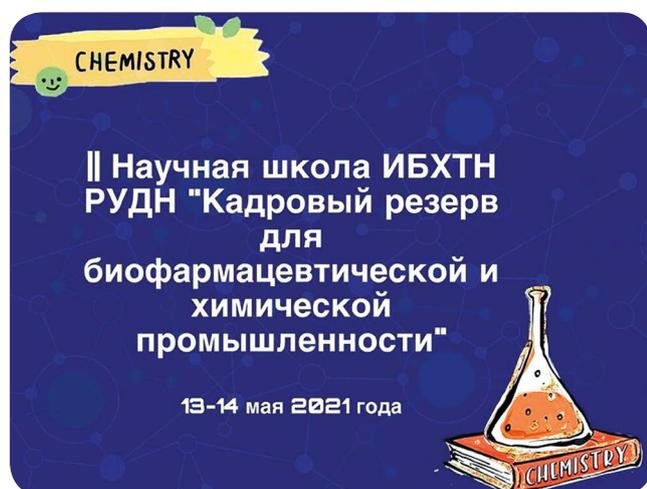
Информационная статья / Informational article

## В Институте биохимической технологии и нанотехнологии (ИБХТН) Российского университета дружбы народов 13–14 мая 2021 года состоялась II научная школа «Кадровый резерв для биофармацевтической и химической промышленности» в онлайн-формате

Научная школа «Кадровый резерв для биофармацевтической и химической промышленности» традиционно проводится в Российском университете дружбы народов с целью ознакомления потенциальных абитуриентов с образовательными программами, реализуемыми в университете. Также задачей научной школы является представление результатов научной работы и обмен мнениями как между выдающимися учеными, так и молодыми учеными – студентами, магистрантами, аспирантами.

## On May 13–14, 2021, at the Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology (IBKhTN) of the Peoples' Friendship University of Russia, the II Scientific School "Personnel Reserve for the Biopharmaceutical and Chemical Industry" Was Held in an Online Format

The scientific school "Personnel reserve for the biopharmaceutical and chemical industry" is traditionally held at the Peoples' Friendship University of Russia in order to familiarize potential applicants with the educational programs implemented at the university. Also, the task of the scientific school is to present the results of scientific work and exchange opinions both between outstanding scientists and young scientists – students, undergraduates, graduate students.



Заседание научной школы открыл директор ИБХТН, доктор химических наук, заслуженный изобретатель РФ, профессор **Ярослав Михайлович Станишевский**, представивший программы магистратуры, реализуемые на базе института. В ИБХТН ежегодно реализуются три программы магистратуры: «Биофармацевтические технологии и управление фармпроизводством» (направление подготовки 33.04.01 «Промышленная фармация»); «Инновационные технологии и нанотехнологии в медицине, фармацевтике и биотехнологии» (направление 28.04.01 «Нанотехнологии и микросистемная техника»); «Био-

химические технологии и нанотехнологии» (направление 04.04.01 «Химия»). Целью программы «Биофармацевтические технологии и управление фармпроизводством» является подготовка специалистов в области биофармацевтической технологии, организации фармацевтического производства, контроля качества и оборота лекарственных средств. Очная форма обучения занимает 2 года, заочная форма обучения – 2,5 года

Магистранты, обучающиеся по этой программе получают знания о жизненном цикле и структуре фармацевтических предприятий, менеджменте и экономической организации фармпроизводства, стратегии инновационного развития предприятий и многое другое.



- РУДН**
- Глобальный
  - Академический
  - Исследовательский
  - Молодежный
  - Спортивный

Обучающихся 33 000+  
Программы высшего образования 472  
Программы дополнительного образования 2100+  
Студенты из 157 стран  
Выпускников 100 000+

**Целью программы «Инновационные технологии и нанотехнологии в медицине, фармацевтике и биотехнологии»** является подготовка специалистов в области нанотехнологий и материалов нано- и микросистемной техники, безопасности инновационной продукции наноиндустрии, применяемой в медицине, фармацевтике и биотехнологии. Срок обучения составляет 2 года, предусмотрена очная форма обучения. В 2021 году предоставляется 4 бюджетных места.

Студенты магистратуры обучаются таким дисциплинам как «Основы фармацевтической технологии и нанотехнологии», «Применение полимеров в биомедицинской технологии и нанотехнологии», «Современные методы контроля качества лекарственных препаратов», «Биотехнология и бионанотехнология» и многим другим.

**Целью программы «Биохимические технологии и нанотехнологии»** является подготовка специалистов в области биохимической технологии и нанохимии, разработки биологически-активных соединений, контроля качества сырья и готовой продукции биофармацевтической отрасли. Обучение проходит в течение 2 лет на очной форме, 2,5 года на очно-заочной форме обучения. В 2021 году выделяется 5 бюджетных мест, для поступающих на очную форму.

В процессе обучения студенты магистратуры приобретают навыки в области медицинских и фармацевтических нанотехнологий, правовых основ интеллектуальной собственности, фитохимии и технологии фитопрепаратов, разработки и регистрации фитопрепаратов и др.

Более подробно о программах магистратуры можно ознакомиться на сайте <http://nano.rudn.ru>.

#### Поступление в магистратуру ИБХТН



В магистратуру принимаются лица, имеющие высшее образование (бакалавр, специалист, магистр), по итогам сдачи вступительных экзаменов на конкурсной основе.

Приглашаем в магистратуру **биотехнологов, химиков, физиков, биологов, генетиков, фармацевтов, технологов, инженеров** и всех желающих, имеющих диплом бакалавра, специалиста или магистра.

Директор ИБХТН отметил, что наставниками студентов магистратуры являются высококвалифицированные преподаватели – доктора и кандидаты наук, работающие как в РУДН, так и в других ведущих ВУЗах и научных институтах страны. Все программы магистратуры являются практико-ориентированными, по окончании обучения выпускники ИБХТН трудоустраиваются в крупные компании и на предприятия, работающие в фармацевтической, химической и биотехнологической отрасли.

Заместитель директора ИБХТН **Анастасия Михайловна Стойнова** рассказала участникам научной

школы о программе аспирантуры «Биотехнология, в том числе бионанотехнологии» по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки». Аспирантура (подготовка кадров высшей квалификации) является третьей ступенью профессионального образования. В аспирантуру принимаются лица, имеющие высшее профессиональное образование (специалист, магистр), по итогам сдачи вступительных экзаменов на конкурсной основе.

В заключении вводной части научной школы выступил **Иван Александрович Василенко**, доктор химических наук, член ВОЗ, профессор ИБХТН РУДН с докладом «Перспективы развития фармацевтической отрасли и обеспечение ее кадрами».

После презентации образовательных программ были проведены пленарные сессии, модератором которых выступила доктор фармацевтических наук, заслуженный изобретатель РФ, профессор **Анна Игоревна Марахова**. В этой части программы доклады представили ведущие российские ученые и их ученики – аспиранты.

В секции «Фитохимия и фитопрепараты» выступил **Владимир Александрович Куркин**, доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», член Европейской академии наук, заслуженный работник высшей школы РФ с презентацией на тему: «Отражение химической классификации лекарственного растительного сырья в Государственной Фармакопее РФ».

**Миниса Абдуллаевна Ханина**, доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой химии ГОУ ВО «Государственный гуманитарно-технологический университет» рассказала о динамике накопления биологически активных веществ и химических элементов в лекарственных растениях. **Анна Игоревна Марахова** д. фарм. н., профессор ИБХТН РУДН представила доклад, посвященный разработке и валидации методики анализа флавоноидов в цветках трехреберника продырявленного.

Также в ходе сессии прозвучали доклады аспирантов на темы: «Способы интенсификации процесса экстракции лекарственного растительного сырья» и «Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника».

Доклады вызвали живой интерес слушателей и продолжились научной дискуссией.

Вторую пленарную сессию «Промышленная фармацевтика» открыл **Игорь Евгеньевич Шохин**, доктор фармацевтических наук, генеральный директор, ООО «Центр фармацевтической аналитики» (ООО «ЦФА») докладом на актуальную тему: «Тест «Растворение» в разработке и регистрации лекарственных средств».

Кандидат медицинских наук, **Жанара Денизовна Сулайманова**, врач-анестезиолог-реаниматолог, Отделение реанимации и интенсивной терапии Российской детской клинической больницы рассказала о современных препаратах, применяемых в анестезиологии и ингаляционных анестетиках».



ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»

Завершили сессию доклады аспирантов на темы: «Разработка чувствительной тест-системы для дифференциации патогенных листерий» и «Актуальные вопросы и задачи процесса нанесения пленочных покрытий».

Третья пленарная сессия «Наноматериалы и нанотехнологии» началась с презентации **Александра Сергеевича Ботина**, кандидата физико-математических наук, доцента ИБХТН, который рассказал о графене и графеносодержащих материалах в медицине, биотехнологии и экологии.

Продолжил научную тематику **Александр Викторович Щегольков**, кандидат технических наук, доцент ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный технический университет» докладом «Синтез и практика применения углеродных нанотрубок». Зам. директора НОЦ «Нанотехнологии» ИБХТН **Александр Алимович Вечер**, кандидат биологических наук рассказал о перспективном проекте для начинающего нанотехнолога.

Участниками пленарных сессий стали более 50 докладчиков и слушателей.

Во второй день конференции был проведен конкурс студенческих научно-исследовательских работ в рамках нескольких тематических сессий: «Фитохимия и фитопрепараты», «Наноматериалы и нанотехнологии», «Достижения современной биологии и биотехнологии», «Научные исследования для химической отрасли» и «Промышленная фармацевтика». В каждой сессии жюри в составе профессоров **А. И. Мараховой**, **Я. М. Станишевского**, доцентов **В. Ю. Жилкиной**, **А. С. Ботина**, **А. А. Вечера** и ассистентов **А. А. Водяшкина** и **А. М. Стойновой** были определены лауреаты.

*Первые места заняли:* **Фоменко Валерия Александровна**, **Колесникова Диана Романовна** (Сеченовский университет), **Земцова Наталья Викторовна** (ТГТУ, Томск), **Сергородцева Антонина Витальевна** (ИБХТН), **Чижигова Анна Игоревна** (ИБХТН).

*Вторые места были присуждены:* **Лукмановой Юлии Айратовне** (Сеченовский университет), **Ковалевой Анастасии Петровне** (ИБХТН), **Кононову Виталию Алексеевичу** (ИБХТН), **Кочетковой Виктории Андреевне** (ИБХТН), **Карсека Софьи Антоновне** (ИБХТН).

*Третьих мест удостоились доклады:* **Ильина Маргарита Борисовна** (Сеченовский университет), **Санчес-Пиментель Жанная Павловна**, **Синицина Валентина Владимировна**, **Бронникова Софья Игоревна**, **Машал Дарья Александровна** (ИБХТН).

Выступали студенты ИБХТН, Сеченовского университета, сотрудники ИБХ РАН, ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, ООО НПФ «Литех», ФНЦ исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М. П. Чумакова, Тамбовского Государственного Технического Университета.

Общее число участников научной школы составило более 140 человек. Всем участникам были вручены сертификаты за подписью проректора по организации приема и довузовской деятельности **Елены Викторовны Мартыненко** и директора ИБХТН **Ярослава Михайловича Станишевского**.

Результатами проведения научной школы стало ознакомление потенциальных абитуриентов с программами магистратуры и аспирантуры ИБХТН, а также обсуждение научных докладов ведущих российских ученых и молодых ученых – аспирантов, студентов магистратур и бакалавриата.

Крупнейшая в Сибири международная выставка оборудования, сырья и услуг для производства фармацевтических препаратов и форум для специалистов фармацевтической отрасли.

# ТЕХНО ФАРМ С И Б И Р Ь

**17-18 марта 2022 г.**

**NOVOSIBIRSK  
EXPO CENTRE**

Организатор: ООО ТехноФарм [www.techno-farm.com](http://www.techno-farm.com)



📱 @tehnopharm\_sib  
[expo@techno-farm.com](mailto:expo@techno-farm.com)

+ 7-913-891-39-39  
(по вопросам участия)

+ 7-913-003-77-75  
(по вопросам рекламных и  
спонсорских возможностей)

+ 7-961-216-99-51  
(регистрация посетителей)



Для бесплатного посещения выставки, пожалуйста, заполните форму на сайте.

**Ждём Вас на выставке!**

[www.technopharm-siberia.com](http://www.technopharm-siberia.com)

Информационная статья / Informational article

## Интервью с организатором выставки-форума «ТехноФарм Сибирь» Екатериной Вастьяновой

Первая международная фармацевтическая выставка-форум «ТехноФарм Сибирь» 2021 стала одним из масштабных событий очного формата в условиях пандемии коронавируса. Выставка-форум состоялась весной 2021 года и собрала более 30 компаний и 700 участников вместе. На мероприятии присутствовали региональные и федеральные игроки, эксперты из научного сообщества и фармацевтического производства, заместитель Министра промышленности, торговли и развития предпринимательства Новосибирской области Васильев Вадим Витальевич. Организатор выставки-форума – компания «ТехноФарм» и непосредственный директор – Екатерина Вастьянова.

## Interview with the Organizer of the Exhibition-forum "TechnoPharm Siberia" Ekaterina Vastyanova

The first International Pharmaceutical Exhibition-Forum "TechnoPharm Siberia" 2021 has become one of the largest face-to-face events in the context of the coronavirus pandemic. The Exhibition-Forum took place in the spring of 2021 and brought together more than 30 companies and 700 participants together. The event was attended by regional and federal players, experts from the scientific community and pharmaceutical production, the Deputy Minister of Industry, Trade and Entrepreneurship Development of the Novosibirsk Region Vadim Vitalievich Vasiliev. The organizer of the exhibition-forum is the TechnoPharm company and the director is Ekaterina Vastyanova.



**Екатерина, расскажите, как удалось провести мероприятие такого масштаба в условиях пандемии коронавируса?**

Сложившаяся ситуация, конечно, несла в себе определенные сложности, выставка-форум изначально планировалась на апрель 2020 года, но тогда ситуация была совсем неопределенная, был объявлен «режим повышенной готовности» и самоизоляция, поэтому дату проведения ТехноФарм Сибирь

пришлось перенести на неопределенный срок. Осенью его снова не удалось провести, однако, тогда уже было сформировано представление о правилах проведения мероприятия. Совместно с правительством Новосибирской области мы обсудили возможность проведения «ТехноФарм Сибирь» и было решено перенести его на весну 2021 года, собственно тогда он и состоялся. На самой площадке были приняты необходимые меры по дезинфекции помещений, со-

блюдению безопасного расстояния, масочного режима и проверки температуры всех участников. Кроме того, мы предлагали страховать наших участников. Проведению Выставки способствовала важность мероприятия как такового, ведь это единственная выставка-форум в Сибири, и хорошая возможность для региональных компаний открыто заявить о себе.

**Что удалось и что не получилось осуществить?**

Мы получили колоссальный отклик от участников, это, наверное, самое приятное в такой работе. Когда видишь, что компании находят друг друга, находят необходимых им производителей товаров и услуг достойного качества среди местных компаний, что помогает вывести их работу на новый уровень, сократить сроки производства, понимаешь, что твоя работа была проведена не зря. Коронавирус наложил свой отпечаток на организацию мероприятия, и потому многие иностранные компании, которые хотели бы поучаствовать, остались «за бортом» из-за невозможности просто пересечь границу, это неприятный момент, но надеюсь, что в следующем году мы преодолеем и этот барьер.

**Чем будет отличаться «ТехноФарм Сибирь» 2022 от прошедшей выставки-форума?**

За 2 года фармацевтическая промышленность России осуществила ощутимый скачок в сторону развития технологий. В сложных условиях пандемии было разработано несколько вакцин, увеличили мощности производители сырья, материалов и оборудования. Обслуживающие отрасли, как упаковка и логистика тоже подтягиваются, без них осуществление фармацевтической деятельности невозможно. Выставка-форум является отражением сложившейся ситуации, она более подробно раскроет действующий вектор развития фармпромышленности в России. Конечно, основной целью проведения «ТехноФарм 2022» является обмен опытом производителей фармацевтической продукции, упор будет сделан на возможности применения стандартов GMP в производстве лекарственных препаратов, БАДов и косметики, особенности маркировки и регистрации лекарственных препаратов в России и на международных рынках.

**Есть ли корреляция между результатами проведенной Выставки и действительностью? Ведь, как часто бывает запрос на производство есть, промышленность готова, но решение о закупке материалов и сырья принимают не те люди, что участвуют в выставках, а потому российское производство «топчется» на месте.**

Конечно российская экономика сталкивается с этим постоянно, но к счастью, в последнее время мы наблюдаем совсем другие тенденции: импортозамещение медленно, но верно двигает производственный сектор экономики России в нужное русло. Кроме того, санкционная политика влияет на производство,

ограничив определенные возможности. Полагаю, что это заставит нас развивать собственное производство – возможности есть, потенциал колоссальный, у нас есть и специалисты, и учёные и необходимость в их работе, а «ТехноФарм» только высветит дополнительно важность именно этого сектора экономики, его развития.

**Как на работу вашей компании повлияла организация и проведение выставки-форума «ТехноФарм 2021»?**

Несомненно, мы видим прирост работы, мы оказываем инжиниринговые услуги, высвобождая время для основной деятельности и организуя правильную работу компаний, и в них нуждаются открывающие организации, компании, которые решают открыть какое-то новое направление и те, кто просто переходит на новые стандарты GMP и реорганизует свою деятельность. Проведение «ТехноФарм 2021» в этом смысле помогло на стадии информированности партнеров, это прекрасная реклама деятельности, кроме того она направлена непосредственно на уже вовлечённую часть целевой аудитории, которой необходимы наши услуги, или услуги любой другой компании, которая участвует в выставке-форуме. Поэтому участие в подобных выставках всегда выгодно всем участникам. Кроме того, сам процесс организации крупного мероприятия был для нас новым, но от того только более интересным. Мы открыли возможности для новых компаний, которые просто не задумывались, например, что можно производить косметику по медицинским стандартам качества, и насколько это поможет им поднять на новый уровень производимую продукцию.

**Какие задачи ставите для второй международной выставки-форума «ТехноФарм Сибирь» 2022?**

Конечно, прежде всего, на «ТехноФарм Сибирь 2022» в центре внимания будет функционирование фармацевтической отрасли в условиях пандемии коронавируса и во время посткризисного восстановления, поэтому важным будет обмен положительным опытом создания новых и функционирования существующих организаций в этот непростой период. Найти и раскрыть новые точки роста и возможности. Так же важной задачей является раскрыть реальные потребности фармацевтической отрасли, найти «слепые пятна» и факторы, стопорящие деятельность, прежде всего местных региональных компаний; помочь решить чью-то проблему, задать верный вектор развития. Мы по-прежнему придерживаемся лозунга «Ни одна задача не останется нерешённой, ни один вопрос не останется не ответственным!» Проведение «ТехноФарм Сибирь 2021» доказало, что подобные мероприятия не просто нужны, они имеют первостепенную важность для развития регионального фармацевтического бизнеса.

ПЛОЩАДКА ОТКРЫТЫХ КОММУНИКАЦИЙ

# OPENBIO

5-8 октября 2021

Наукоград Кольцово, Новосибирская область

Площадка открытых коммуникаций OpenBio – комплекс мероприятий, посвященных коммерциализации идей и развитию бизнеса в сфере наук о жизни:



**ФОРУМ ДЛЯ БИЗНЕСА, НАУКИ, ВЛАСТИ И ИНФРАСТРУКТУРЫ**



**НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ, ВИРУСОЛОГОВ, БИОТЕХНОЛОГОВ, БИОФИЗИКОВ**



**ВЫСТАВКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПАНИЙ**



**НАУКА БЕЗ ГРАНИЦ:  
ДЕТСКИЙ ФОРУМ, ART SCIENCE, ЭСТЕТИКА МИКРОМИРА**

Официальный сайт площадки:

**[www.openbio.ru](http://www.openbio.ru)**

Открытые диалоги бизнеса, науки, инфраструктуры и власти

Эл. почта: [openbio@openbio.ru](mailto:openbio@openbio.ru)

Тел.: +7 (383) 306-19-17

Организатор: АНО «Инновационный центр Кольцово»



Информационная статья / Informational article

## Фишки OpenBio-2021: фудтех, Scopus и противодействие вирусам

С 5 по 8 октября в наукограде Кольцово Новосибирской области состоится международный научный конгресс в сфере биотехнологий, вирусологии и биофармацевтики OpenBio. Традиционно в его рамках пройдут научная конференция и бизнес-форум. Мероприятие организуют в гибридном формате: эксперты, спикеры и гости смогут участвовать онлайн.

### OpenBio-2021 chips: foodtech, Scopus and countering viruses

From October 5 to 8, the international scientific congress in the field of biotechnology, virology and biopharmaceuticals OpenBio will take place in the Koltsovo science city of the Novosibirsk region. Traditionally, a scientific conference and a business forum will be held within its framework. The event will be organized in a hybrid format: experts, speakers and guests can participate online.



В предыдущие годы молодые ученые на конференции выступали с докладами по четырем направлениям: биотехнологии, молекулярной биологии, вирусологии и биофизике. В этом году добавилась междисциплинарная секция «Биоинформатика». Организаторы пригласили для участия в конференции ученых, которые занимаются исследованиями биологических и биохимических систем, используя анализ больших данных, компьютерные, математические и статистические методы. Все доклады научной конференции OpenBio-2021 напечатают в журнале «Молекулярная биология», который включен в перечень рецензируемых научных изданий Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ и индексируется в международной базе данных Scopus.

Во время бизнес-форума состоится экспертная дискуссия «ВИЧ в России: проблемы фарммедобращения и новейшие разработки». Также в повестке вопросы, связанные с распространением ВИЧ-инфекции, закупкой препаратов прошлых поколений, спорными схемами терапии и перспективой получения универсальной вакцины. Итогом дискуссии станет меморандум с рекомендациями, который организаторы OpenBio направят в регулирующие органы.

Еще одна трендовая площадка на бизнес-форуме связана с разработками в области фудтеха и использованием биотехнологий для решения мировой проблемы продовольственной безопасности. На круглом столе обсудят перспективы развития биотеха в пищевой промышленности и сельском хозяйстве, альтернативные и персонализированные решения при создании продуктов питания.

Второй год подряд на бизнес-форуме будут дискутировать о коронавирусных проблемах. Для участия в работе площадки организаторы OpenBio-2021 планируют пригласить разработчиков всех российских вакцин. Модерировать дискуссию будет российский вирусолог, заведующий лабораторией биотехнологии и вирусологии факультета естественных наук НГУ, член-корреспондент РАН Сергей Нетесов.

Более подробную информацию о событии, программу мероприятий и список приглашенных экспертов можно найти на официальном сайте [openbio.ru](http://openbio.ru). Ссылка для подключения к мероприятиям международного научного конгресса – [online.openbio.ru](http://online.openbio.ru). До встречи в офлайне и онлайн!

**Организатор OpenBio-2021** – АНО «Инновационный центр Кольцово» при поддержке правительства Новосибирской области и администрации наукограда Кольцово.

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ



Медиа-партнерство



**Наше издание приглашает к сотрудничеству специалистов и экспертов фармацевтического рынка, задействованных в сфере разработки и производства лекарственных средств, а также производителей сырья, материалов и оборудования, необходимого для оснащения лабораторных комплексов и производственных объектов.**

**В рамках информационного сотрудничества мы предлагаем:**

- Публикации в печатном и электронном журнале
  - Научные статьи
  - Рекламные статьи
  - Рекламные модули
- Баннерная реклама на сайте
- Размещение рекламных баннеров на сайте [pharmjournal.ru](http://pharmjournal.ru)
- Публикации статей, новостей, мероприятий на сайте журнала
- e-mail-маркетинг (в базе 12000+ адресов)
- Участие в качестве спикера/экспонента в конференциях, организуемых нашим изданием

О журнале



**Разделы издания охватывают весь жизненный цикл лекарственного средства:**

- ✓ Поиск и разработка новых лекарственных средств.
- ✓ Научные и практические направления: от разработки и производства исходных фармацевтических ингредиентов, технологий и оборудования до создания стандартных и терапевтически эффективных ЛС.
- ✓ Аналитические методики контроля качества.
- ✓ Подходы к оценке эффективности и безопасности лекарственных средств, проведению доклинических и клинических исследований.
- ✓ Валидация методик, подготовка регистрационного досье, жизненный цикл лекарственного препарата в GxP-окружении.



Включен в перечень ВАК, SCOPUS.

**Научный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» является партнером ключевых мероприятий фармацевтической отрасли:**

PHARMA ASIA  
РОССИЙСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ФОРУМ  
14-15 мая 2019  
www.mosfarpharma.com

Крупнейшее мероприятие для руководителей международных и российских производителей, дистрибуторов и розничных сетей.

600+ делегатов  
100+ докладчиков  
60+ обсуждений

Для компаний старше 10% используется визит код: 1177MRHJ

Спонсор: «Рейвекел Партнер» по электронной почте [info@pharmjournal.ru](mailto:info@pharmjournal.ru) или по телефону +44 2080051233 для обсуждения сотрудничества



«Клинические исследования в России, ЕАЭС, СНГ»  
14-15 мая 2019  
Москва, Украина, Грузия, Армения

Организатор: EPMO Business Capital

КОМПАНИИ ГОСВОДИТ:  
• «Байер» (Германия)  
• «Санофи» (Франция)  
• «АстраЗенека» (Великобритания)  
• «Новартис» (Швейцария)  
• «Синтева» (Россия)  
• «Санофар» (Франция)  
• «Джениери» (Италия)  
• «Санофар» (Франция)  
• «Санофар» (Франция)  
• «Санофар» (Франция)  
• «Санофар» (Франция)  
• «Санофар» (Франция)

СРЕДИ НАШИХ СПОНСОРОВ:  
• «Санофар» (Франция)  
• «Санофар» (Франция)

Максимум 60 делегатов!

- ✓ Фармацевтического форума стран ЕАЭС и СНГ.
- ✓ Российского Фармацевтического Форума.
- ✓ GMP-конференции с международным участием.
- ✓ Конференции «Дженерики и биосимиляры в России и ЕАЭС».
- ✓ Выставки «IPHEB Russia».
- ✓ Международной конференции «Что происходит на фармацевтическом рынке?».
- ✓ Выставки «Аналитика Экспо».
- ✓ Форума Биотехмед.

**По вопросам информационного сотрудничества просьба обращаться по электронной почте [info@pharmjournal.ru](mailto:info@pharmjournal.ru); [pharmjournalru@gmail.com](mailto:pharmjournalru@gmail.com) или по телефону +7 977 781 86 18**



Обзорная статья / Review article

## Современные лекарственные средства (ассортимент) и тенденции в совершенствовании лекарственных форм гепатопротекторных средств (обзор)

Д. А. Петрухина<sup>1\*</sup>, И. В. Плетнева<sup>2</sup>, Б. Б. Сысеев<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГКУ «Дирекция по обеспечению деятельности государственных учреждений здравоохранения Волгоградской области», 400119, Россия, г. Волгоград, ул. Туркменская, д. 6

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России), 400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

<sup>3</sup> ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

\*Контактное лицо: Петрухина Дарья Александровна. E-mail: DAPharmacy@yandex.ru

ORCID: Д. А. Петрухина – <https://orcid.org/0000-0002-3694-0673>; И. В. Плетнева – <https://orcid.org/0000-0003-1014-7439>; Б. Б. Сысеев – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>.

Статья поступила: 05.04.2021

Статья принята в печать: 02.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Заболевания печени при всем многообразии клинических проявлений имеют общие патогенетические звенья на клеточном уровне. Группа гепатопротекторных средств представлена лекарственными препаратами, проявляющими разносторонние механизмы защиты клеток печени от воздействия повреждающих факторов, основными из которых являются мембраностабилизирующее, антиоксидантное, регенеративное, детоксикационное, желчегонное и противовоспалительное действие. Высокая терапевтическая и гепатопротекторная эффективность современных лекарственных препаратов в большей степени обусловлена их метаболическими эффектами, а так же способностью связывать свободные радикалы и активные формы кислорода в клетке.

**Текст.** Цель настоящей работы заключается в формировании аналитического обзора литературных данных, посвященных вопросам ассортимента и концепциям совершенствования лекарственных форм гепатопротекторных средств. По данным анализа и систематизации современных публикаций, посвященных применению гепатопротекторов в терапии заболеваний печени, показана необходимость разработки новых составов и комбинаций биологически активных веществ с проявлением разносторонних механизмов гепатопротекции, а так же совершенствование состава и технологий изготовления имеющихся средств традиционной терапии. Одним из актуальных направлений в настоящее время является использование новых веществ в разработке традиционных и инновационных лекарственных форм. Продолжается поиск биологически активных молекул с антиоксидантной, антирадикальной и мембраностабилизирующей активностью, которые можно рассматривать в качестве эффективных гепатопротекторов. Неотъемлемой задачей фармацевтической разработки является создание биодоступных лекарственных средств, обладающих пролонгированным действием и минимальным проявлением побочных эффектов. Перспективным направлением в фармацевтической технологии является разработка инновационных препаратов направленного транспорта биологически активных молекул к пораженному органу.

**Заключение.** В результате анализа современных данных выявлены приоритетные направления разработки и совершенствования существующих составов, основанные на современных подходах к получению инновационных лекарственных форм. Показана актуальность совершенствования лекарственных форм гепатопротекторов, представленных на фармацевтическом рынке. Особый интерес представляет разработка инновационных систем адресной доставки с эффективными и безопасными гепатопротекторами в различных комбинациях, в том числе и на основе производных коричневых кислот.

**Ключевые слова:** гепатопротекторы, инновационные системы адресной доставки лекарственных веществ, липосомы, циклодекстрины, фенольные соединения

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Д. А. Петрухина, И. В. Плетнева собрали и обработали материалы, написали статью. Б. Б. Сысеев редактировал и анализировал материалы. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Для цитирования:** Петрухина Д. А., Плетнева И. В., Сысеев Б. Б. Современные лекарственные средства (ассортимент) и тенденции в совершенствовании лекарственных форм гепатопротекторных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):38–46. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-38-46>

## Modern Medicines (Assortment) and Trends in the Improvement of Dosage Forms of Hepatoprotective Agents (Review)

Darya A. Petrukhina<sup>1\*</sup>, Irina V. Pletneva<sup>2</sup>, Boris B. Sysuev<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Directorate for ensuring the activities of public health institutions of the Volgograd region, 6, Turkmenskaya str., Volgograd, 400119, Russia

<sup>2</sup> Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russia

<sup>3</sup> I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

\*Corresponding author: Darya A. Petrukhina. E-mail: DAPharmacy@yandex.ru

ORCID: Darya A. Petrukhina – <https://orcid.org/0000-0002-3694-0673>; Irina V. Pletneva – <https://orcid.org/0000-0003-1014-7439>; Boris B. Sysuev – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>.

Received: 05.04.2021

Revised: 02.06.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Liver diseases with all the variety of clinical manifestations have common pathogenetic links at the cellular level. The group of hepatoprotective agents is represented by drugs that exhibit versatile mechanisms for protecting liver cells from the effects of damaging factors, the main of which are membrane-stabilizing, antioxidant, regenerative, detoxifying, choleric and anti-inflammatory effects. The high therapeutic

© Петрухина Д. А., Плетнева И. В., Сысеев Б. Б., 2021

© Petrukhina D. A., Pletneva I. V., Sysuev B. B., 2021

and hepatoprotective effectiveness of modern drugs is largely due to their metabolic effects, as well as their ability to bind free radicals and reactive oxygen species in the cell.

**Text.** The purpose of this work is to form an analytical review of the literature on the assortment and concepts of improving the dosage forms of hepatoprotective agents. According to the analysis and systematization of modern publications devoted to the use of hepatoprotectors in the treatment of liver diseases, it is shown that it is necessary to develop new formulations and combinations of biologically active substances with the manifestation of versatile mechanisms of hepatoprotection, as well as to improve the composition and manufacturing technologies of existing traditional therapies. One of the current trends is the use of new substances in the development of traditional and innovative dosage forms. The search for biologically active molecules with antioxidant, antiradical and membrane-stabilizing activity that can be considered as effective hepatoprotectors continues. An integral task of pharmaceutical development is the creation of bioavailable drugs that have a prolonged effect and minimal side effects. A promising direction in pharmaceutical technology is the development of innovative drugs for the directed transport of biologically active molecules to the affected organ.

**Conclusion.** As a result of the analysis of modern data, priority directions for the development and improvement of existing formulations based on modern approaches to the production of innovative dosage forms are identified. The relevance of improving the dosage forms of hepatoprotectors presented on the pharmaceutical market is shown. Of particular interest is the development of innovative targeted delivery systems with effective and safe hepatoprotectors in various combinations, including those based on cinnamic acid derivatives.

**Keywords:** hepatoprotectors, innovative systems of targeted drug delivery, liposomes, cyclodextrins, phenolic compounds

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Darya A. Petrukhina, Irina V. Pletneva collected and processed materials, wrote an article. Boris B. Sysuev edited and analyzed the materials. All authors participated in the discussion of the results.

**For citation:** Petrukhina D. A., Pletneva I. V., Sysuev B. B. Modern medicines (assortment) and trends in the improvement of dosage forms of hepatoprotective agents. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):38–46. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-38-46>

## ВВЕДЕНИЕ

В современном мире стремительно растет число людей, страдающих заболеваниями печени. Все чаще встречаются поражения печени у лиц с сопутствующей соматической, токсикологической и хирургической патологией [1–4]. Несмотря на различные пусковые механизмы развития данных заболеваний, в комплексной терапии предусмотрено назначение лекарственных средств с цито- или гепатопротекторной активностью. Лекарственные препараты (ЛП), объединенные в данной группе, повышают устойчивость печени к воздействию повреждающих факторов, способствуют восстановлению функционального состояния клеток и повышают их детоксикационные возможности. В группу гепатопротекторов (ГП) входят как монокомпонентные препараты, так и комбинированные, многокомпонентные формы сложного состава. Однако, несмотря на насыщенность рынка ЛП данной группы, невозможно выделить средство универсальной терапии.

Перспективы разработки ЛП, обладающих гепатопротекторной активностью, целесообразно рассматривать в двух направлениях: разработка инновационных лекарственных форм на основе клинически апробированных субстанций и разработка традиционных и/или инновационных лекарственных форм с новыми фармацевтическими ингредиентами.

Данный аналитический обзор литературных данных посвящен вопросам ассортимента и концепциям

совершенствования лекарственных форм гепатопротекторных средств.

Группа ГП представлена ЛП, большинство из которых содержат в составе биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения, а также синтетические и полусинтетические соединения. Незначительная доля приходится на препараты животного происхождения и гомеопатические средства [5]. В последние десятилетия появилось большое количество ГП в виде биологически активных добавок к пище как российского, так и зарубежного производства. Среди представленного ассортимента имеются ЛП моно-, поликомпонентного состава и комбинированные средства.

### **Ассортимент средств, обладающих гепатопротекторной активностью**

С позиции повреждения клеточной оболочки гепатоцитов универсальными ГП возможно считать ЛП, проявляющие репаративные свойства по отношению к клеточным мембранам – препараты на основе фосфолипидов (ФЛ). В настоящее время применение ФЛ является стандартом терапии. В отношении данной группы препаратов проведены многочисленные рандомизированные контролируемые исследования, в большинстве случаев доказывающие эффективность терапии при повреждении клеток печени. ФЛ назначают для восстановления

барьерной функции гепатоцитов, что обусловлено их непосредственным встраиванием в структуру поврежденных мембран клеток [6]. Известно, что до 80–90 % ФЛ клеточных мембран приходится на фосфатидилхолин, поэтому особенно важно учитывать его концентрацию в конкретном ЛП (таблица 1). Фосфатидилхолин представляет собой фосфолипид, наиболее широко распространенный во всех живых клетках и является главным «строительным материалом» мембран клеток и субклеточных органелл. Эффективность фосфолипидов в терапии заболеваний печени подтверждается не только способностью включаться в поврежденные участки мембран,

что улучшает регенерацию печени, но и способностью повышать текучесть и функционирование мембран [7].

Учитывая процентное содержание фосфатидилхолина, можно определить количество активного вещества ФЛ в препарате. Как видно из данных таблицы 1, концентрация эссенциальных ФЛ в ЛП варьирует в широких пределах, однако следует учитывать, что на проявление терапевтического эффекта влияет не только количество действующего вещества, но и его биодоступность, технология получения лекарственной формы, состав действующих и вспомогательных веществ.

Таблица 1. Содержание фосфолипидов в некоторых лекарственных формах

Table 1. Phospholipid content in some dosage forms

Лекарственная форма Dosage form	Производитель Manufacturer	Состав Composition	Содержание фосфатидилхолина, % Phosphatidylcholine content, %
<i>Монокомпонентные средства Monocomponent funds</i>			
Капсулы для внутреннего применения Capsules for internal use	А. Наттерманн энд Сие. ГмбХ, Германия A. Nattermann and Sie. GmbH, Germany	Фосфолипиды соевых бобов, 300 мг Soybean phospholipids, 300 mg	76
	ООО «Атолл», Россия Atoll Ltd, Russia	Липоид PPL 400 – 400 мг; в пересчете на ФЛ из соевого лецитина – 300 мг Lipoid PPL 400 – 400 mg; in terms of PL from soy lecithin – 300 mg	76
	Берлин-Хеми/Менарини Фарма ГмбХ, Германия Berlin-Chemie/Menarini Pharma GmbH, Germany	Липоид PPL 600 – 600 мг; в пересчете на ФЛ из соевого лецитина – 300 мг Lipoid PPL 600 – 600 mg; in terms of PL from soy lecithin – 300 mg	76
Раствор для внутривенного введения solution for intravenous administration	А. Наттерманн энд Сие. ГмбХ, Германия A. Nattermann and Sie. GmbH, Germany	Фосфолипиды соевых бобов, 50 мг/мл – 5 мл Soybean phospholipids, 50 mg/ml – 5 ml	93
<i>Комбинированные средства Combined funds</i>			
Капсулы для внутреннего применения Capsules for internal use	ООО «Кронофарм», Россия Kronopharm Ltd, Russia	Липоид С100 – 200 мг; силитар – 70 мг Lipoid S100 – 200 mg; silymar – 70 mg	94
	ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия Pharmstandard-Leksredstva OJSC, Russia	Липоид С 80, ФЛ – 65 мг; натрия глицирризинат – 35 мг Lipoid S 80, FL – 65 mg; sodium glycyrrhizinate – 35 mg	73–79
		Липоид PPL 400 – 400 мг; в пересчете на ФЛ – 300 мг; натрия глицирризинат – 65 мг Lipoid PPL 400 – 400 mg; in terms of PL – 300 mg; sodium glycyrrhizinate – 65 mg	73–79
	АО «Нижфарм», Россия Nizhpharm JSC, Russia	ФЛ 300 мг; <b>ВИТАМИНЫ</b> В <sub>1</sub> – 6 мг; В <sub>2</sub> – 6 мг; В <sub>6</sub> – 6 мг; В <sub>12</sub> – 6 мкг; РР – 30 мг; Е – 6 мг FL 300 mg; <b>vitamins</b> B1 – 6 mg; B2 – 6 mg; B6 – 6 mg; B12 – 6 mcg; PP – 30 mg; E – 6 mg	29

ЛП, содержащие в своем составе флаволигнаны расторопши, фенолоксилолы и другие БАВ, выделенные из растительного сырья, отличаются схожими механизмами защиты клеток печени и оказывают мембраностабилизирующее, антиоксидантное, регенеративное, детоксикационное, желчегонное и противовоспалительное действие. Флаволигнаны расторопши стимулируют синтез белков и ФЛ в гепатоцитах, что приводит к стабилизации клеточных мембран и уменьшению их проницаемости. Преимущественно детоксицирующим действием обладают ЛП аминокислот и их производные. Детоксикант прямого действия L-орнитин-L-аспартат усиливает метаболизм аммиака в печени, способствует нормализации кислотно-основного состояния организма. Детоксиканты непрямого действия реализуют проявление детоксицирующих свойств через уменьшение образования эндогенных токсикантов или активируют образование эндогенных детоксикантов. ЛП, ускоряющие метаболизм токсических веществ, не используют в настоящее время в качестве ГП. К ЛП разных групп относят урсодезоксихолевую и липоевую кислоты. Урсодезоксихолевая кислота ограничивает энтерогепатическую циркуляцию гидрофобных жирных кислот, предупреждая токсические поражения гепатоцитов, оказывает холеретическое, антиоксидантное действие, эффективна при холестазах различной этиологии, способствует растворению желчных камней. Липоевая кислота участвует в регулировании углеводного, белкового, липидного обмена, оказывает антиоксидантное действие. Обособленную группу составляют ГП животного происхождения. Представители группы – гидролизаты печени крупного рогатого скота. В настоящее время редко используются в клинической практике ввиду высокой аллергенности и низкой доказательной базы [8].

В качестве ЛП с гепатопротекторным действием неспецифического характера следует рассматривать и некоторые метаболические средства, обладающие мембраностабилизирующей и антиоксидантной активностью. Так, применение антиоксидантного средства на основе этилметилгидроксипиридина сукцината (ООО «ЭкоФармИнвест», Россия) в качестве ГП на фоне базисной терапии сахарного диабета 2 типа обеспечивает снижение проявлений цитолиза и холестаза под воздействием повреждающих агентов при неалкогольном жировом гепатозе, опосредованном метаболическим синдромом. Применение мексикора ускоряет нормализацию лабораторных показателей, характеризующих функциональное состояние печени, способствует дополнительному липидснижающему эффекту на фоне применения статинов, снижает инсулинорезистентность, положительно влияет на структурные изменения печени [9].

Тем не менее опираясь на многолетний опыт эффективного применения ЛП данной группы, следует отметить ряд недостатков, которые необходимо учитывать при разработке новых высокоэффективных и безопасных ГП.

Отмечена низкая биодоступность при пероральном приеме эссенциальных фосфолипидов, адеметионина, силибинина, усиление холестаза при приеме эссенциальных фосфолипидов и препаратов расторопши. Длительные курсы лечения для достижения клинико-биохимической ремиссии так же характерны для применения пероральных форм фосфолипидов. В некоторых случаях отсутствуют формы для парентерального введения (препараты урсодезоксихолевой кислоты) [10].

### **Инновационные технологии, используемые при разработке ГП препаратов**

Неотъемлемой задачей фармацевтической разработки является создание биодоступных лекарственных средств, обладающих пролонгированным действием и минимальными побочными эффектами [11]. В настоящее время перспективным направлением в фармацевтической технологии является разработка инновационных препаратов направленного транспорта биологически активных молекул к пораженному органу. Нанотехнологии, базирующиеся на использовании биосовместимых материалов, обладают большим потенциалом для доставки ЛП более специфическим способом: либо пассивно, оптимизируя физико-химические свойства наноносителей ЛП (такие как размер и свойства поверхности), либо активно, используя специфические для органов или тканей системы распознавания, которые позволяют направленно воздействовать на определенные структуры, одновременно минимизируя побочные эффекты терапии [12–16]. Нанотехнологии внесли свой вклад в эффективную доставку ЛП, применяемых в лечении и диагностике заболеваний печени [17–19].

Примером успешного внедрения нанотехнологий, в частности, могут служить липосомальные препараты. Липосомы в классическом варианте представляют собой сферические везикулы, оболочка которых состоит из одного или нескольких бифосфолипидных слоев. За счет такого строения в состав липосом возможно включать носители различной природы: в гидрофильную фазу включать водорастворимые препараты, в гидрофобную помещать вещества липофильной природы. Липосомы схожи по структуре с биологическими мембранами, поэтому биосовместимы с организмом, не токсичны, не вызывают аллергических и антигенных реакций. Оболочка липосом защищает содержимое от преждевременного разрушения в организме, а при конъюгировании с различными лигандами они могут направленно доставить его в целевые ткани организма. Важным преимуществом использования липосом является гибкость технологий их создания, позволяющая варьировать свойства носителей ЛП в зависимости от характера и локализации очага патологии [20]. В зависимости от состава и применения *in vivo* выделяют пять типов липосом: простые липосомы; стерически стабилизированные липосомы; иммунолипосомы; ка-

тионные липосомы; липосомы, чувствительные к физическим и химическим стимулам (температура, свет, изменения значения pH). Простые липосомы состоят из фосфолипидов и холестерина, который стабилизирует липидный бислой и снижает его проницаемость. Липосомы данного типа характеризуются сравнительно коротким временем нахождения в кровотоке и накапливаются в основном в печени и селезенке. С целью пролонгирования времени циркуляции в кровотоке были разработаны стерически стабилизированные липосомы. Данный тип липосом отличается от простых присутствием в фосфолипидном слое молекул полиэтиленгликоля (ПЭГ). Наличие ПЭГ позволяет создать на поверхности везикулы избыточное осмотическое давление, что в результате приводит к невозможности клеток ретикуло-эндотелиальной системы распознавать молекулы и выводить их из кровотока. Создание пэгилированных модификаций позволило обеспечить доставку липосом к органам и тканям организма, но не делала ее достаточно избирательной. С этой целью были разработаны иммунолипосомы, в оболочку которых встроены моноклональные антитела или их фрагменты. Такие липосомы не только могут быть доставлены к органу-мишени, но и специфически связываться с клетками-мишенями. Катионные липосомы образованы молекулами длинноцепочечных алифатических аминов ( $C_{12} - C_{22}$ ), содержащих две или три гидроксильные группы. Их используют для доставки генетического материала в клетку. Липосомы, чувствительные к физическим и химическим стимулам, применяют для локализации действия в определенной ткани-мишени за счет высвобождения ЛВ при изменении температуры, значения pH среды или воздействия УФ-света [21–23].

Российской фармацевтической промышленностью выпускается липосомальный ГП – Фосфоглив®, содержащий в своем составе полиненасыщенный фосфатидилхолин растительного происхождения и натриевую соль глицирризиновой кислоты. Технология получения пероральной и инъекционной форм является оригинальной и заключается в получении лиофилизированного порошка без использования сурфактантов и стабилизаторов, который при растворении в воде образует наноэмульсию фосфолипидных частиц средним диаметром 40–50 нм. Фосфоглив® показал высокую терапевтическую эффективность в лечении лекарственных и алкогольных токсинов, а также вирусных гепатитов [24, 25].

Включение БАВ в липосомы позволяет повысить биодоступность и биосовместимость, снизить терапевтическую дозу и токсичность ЛП. Инкапсуляция БАВ в липосомы рассматривается как эффективный метод улучшения биодоступности гидрофобных соединений. Так, экспериментальные исследования *in vivo*, посвященные оценке биодоступности инкапсулированного в липосомы липофильного антиоксиданта астаксантина, показывают значительное улучшение проявления гепатозащитных свойств композиции относительно свободного астаксантина [26].

Экспериментальные исследования показали возможность адресной доставки биологически активных молекул к различным клеткам печени при внутривенном введении простых или немодифицированных липосом [27]. Так же современные исследования направлены на поиск оптимальных структур гликолипидов, которые будут придавать таргетные свойства липосомам [28].

Таким образом, использование липосомальных форм ГП обосновано при необходимости направленной транспортировки ЛВ к клеткам печени.

Несмотря на очевидные преимущества липосом как систем доставки ЛП, в исследовательской практике возникают трудности, так или иначе связанные с несовершенствами технологической составляющей процесса. Наиболее частыми недостатками липосомальной технологии являются низкая степень включения ЛП, плохая стабильность липосомальных комплексов, преждевременное высвобождение ЛП в кровоток, отсутствие реакции на внешние триггеры, использование токсичных растворителей в технологии липосомальных препаратов, масштабирование и адаптация лабораторных методов в условиях промышленного производства. Сегодня внимание исследователей сконцентрировано на работе по устранению этих недостатков.

В последнее время интерес исследователей привлекают интегрированные системы доставки липосомальных препаратов, включенных в депо на полимерной основе. В качестве временных депо на полимерной основе рассматривают как природные (коллаген, желатин, хитозан, фибрин, альгинат, декстран), так и синтетические (карбопол, поливиниловый спирт) системы доставки липосомальных препаратов [29]. Примером интегрированной системы доставки может служить циклодекстриновый комплекс включения, заключенный в липосому. Специфическая структура циклодекстринового кольца позволяет формировать с ЛП молекулярные комплексы или комплексы включения. Циклодекстрины представляют собой олигомерные циклические соединения, состоящие из шести, семи или восьми остатков глюкозы –  $\alpha$ -,  $\beta$ -, и  $\gamma$ -циклодекстрины. Внешняя поверхность молекулы циклодекстрина гидрофильная, что обуславливает его растворимость в воде, а внутренняя гидрофобная. В процессе образования комплексов включения неполярные молекулы ЛП располагаются внутри полости циклодекстринового кольца. Свойства циклодекстринов позволяют создавать открытые и замкнутые системы [30]. Y.-M. Zhang с соавт. предложили использовать циклодекстриновые комплексы включения известного ГП силибинина с последующим инкапсулированием в липосомы. В результате проведенных исследований авторам удалось солюбилизовать активное вещество, повысить стабильность комплекса, добиться эффективных показателей накопления комплекса «ЛП – циклодекстрин – липосома» в печени мышей. Отмечено, что при высвобождении

ЛП из комплекса последний может улавливать токсические соединения и успешно их эвакуировать [31].

В качестве интересных и перспективных носителей ГП исследователи рассматривают хитозановые наночастицы. С целью пролонгирования высвобождения для пассивной адресной доставки к органу-мишени S. Gupta с соавторами предложил технологию включения силимарина в состав наночастиц хитозана [32]. Хитозан относится к аминополисахаридам животного происхождения с большим количеством свободных аминогрупп в молекуле. Такое строение позволяет ему удерживать БАВ путем водородных взаимодействий. Хитозан нетоксичен, не проявляет антигенных свойств, обладает высокой сорбционной способностью, совместим с большинством лекарственных средств, оказывает антибактериальное и противогрибковое действие, биосовместим с тканями человека, ускоряет процессы регенерации поврежденных кожных покровов, биодеградируемо естественным метаболическим путем.

Полисахариды природного происхождения рассматриваются не только в качестве носителей БАВ в различных комплексах доставки, но и как терапевтические агенты, в частности, обладающие гепатопротекторной активностью. Механизмы гепатопротекции связывают с доказанной антиоксидантной и противовоспалительной активностью соединений, что экспериментально подтверждено усилением энергетической функции гепатоцитов и восстановлением их ультраструктуры. Фукоиданы обладают также детоксицирующими, сорбционными, противовирусными, иммуномодулирующими свойствами. Особый интерес представляет изучение фукоиданов, которые относятся к сложным сульфатированным полисахаридам природного происхождения [33–35].

### **Активные фармакологические субстанции**

Одним из актуальных направлений в настоящее время является использование новых веществ в разработке традиционных и инновационных лекарственных форм. Продолжается поиск биологически активных молекул с антиоксидантной, антирадикальной и мембраностабилизирующей активностью, которые можно рассматривать в качестве эффективных ГП. Фенольные соединения с высокой окислительно-восстановительной активностью широко используются на практике при профилактике и лечении многих заболеваний, протекающих на фоне окислительного стресса. Так, среди фенольных соединений обращают на себя особое внимание производные коричной кислоты и их структурные аналоги [36]. Исследования закономерностей взаимосвязи «структура – фармакологическая активность» в ряду производных коричной кислоты позволили установить признаки, наиболее ответственные за проявление антиоксидантной активности: циннамоильный фрагмент, наличие в положениях 3 и 4 ароматического ядра гидроксид-, метокси-, карбокси- и ацетоксигрупп [37].

В качестве перспективного ГП следует отметить лекарственное средство Циквалон®, молекула которого в своей структуре содержит два «скрытых» циннамоильных фрагмента, которые можно рассматривать как остатки 4-гидрокси-3-метоксикоричной кислоты. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* установлено, что Циквалон® обладает выраженной антирадикальной и антиоксидантной активностью, оказывает гепатопротекторное и противовоспалительное действие. Высокая липофильность молекулы циквалона позволяет ему легко встраиваться в структуру мембраны, где он теоретически может перехватывать липидные радикалы и тормозить пропагацию цепных реакций перекисного окисления липидов. Кроме того, инструментальными методами анализа показана принципиальная возможность циквалона перехватывать супероксидный и гидроксильный радикалы [38]. В результате проведенных исследований доказано, что при использовании циквалона удастся предотвратить цитотоксические, сосудистые и фибропластические механизмы повреждения клеток печени, развивающиеся на фоне хронического эндотоксикоза.

Среди природных соединений – аналогов циквалона по структуре и желчегонной активности наиболее близким является куркумин, один из действующих веществ куркумы (род травянистых растений семейства имбирных (*Zingiberaceae*)). Молекула куркумина, как и циквалона содержит два циннамоильных фрагмента, что обуславливает проявление широкого спектра фармакологической активности. Для куркумина доказана высокая антиоксидантная активность, антиканцерогенные свойства, противомикробное, противодиабетическое и противовоспалительное действие. Куркумин успешно используют для профилактики и лечения заболеваний печени, преимущественно связанных с окислительными повреждениями гепатоцитов. Современные исследования по включению куркумина в липосомы направлены на повышение биодоступности его гидрофобной молекулы [39–42].

Растительные полипренолы являются активными молекулами, которые влияют на путь обмена изопреноидов и могут широко применяться для лечения заболеваний, связанных с вирусными, бактериальными и грибковыми инфекциями, воспалениями и другими иммунными состояниями. На основе полипренолов, выделенных из хвои ели (*Picea albies*), создан ЛП Ропрен® (ОАО «Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга», Россия), представляющий собой растительный аналог эндогенного транспортного липида долихола. ЛП выпускают в виде капель для приема внутрь. В состав капель в качестве действующей субстанции включен 95%-й концентрат полипренолов, полученный по уникальной технологии. Экспериментальные и клинические исследования показали гепатопротекторный, гиполипидемический, антиоксидантный, иммуномодулирующий, противовоспалительный, антифибротический и нейропротекторный эффекты

препарата. Разработанный ЛП показал высокую эффективность в лечении пациентов с различными заболеваниями гепатобилиарной системы, в том числе с неалкогольным стеатогепатитом в анамнезе. Полученные в ходе исследований результаты свидетельствуют о снижении клинической и биохимической активности заболевания, нормализации липидного профиля, снижении индекса лечения фиброза и повышении эластичности печени [43, 44].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные ГП назначают в комплексной терапии заболеваний печени, что обусловлено различными механизмами защиты гепатоцитов от воздействия повреждающих факторов. ЛП данной группы оказывают мембраностабилизирующее, антиоксидантное, регенеративное, детоксикационное, желчегонное и противовоспалительное действия. В результате проведенного аналитического исследования показана актуальность совершенствования лекарственных форм ГП, представленных на фармацевтическом рынке, а так же поиск новых субстанций природного и синтетического происхождения, обладающих выраженным проявлением терапевтического эффекта посредством действия на ключевые механизмы гепатопротекции, низкой токсичностью, биосовместимостью с организмом, биодegradацией. Особый интерес представляет разработка инновационных систем адресной доставки с эффективными и безопасными ГП в различных комбинациях (циклодекстрин – липосома, хитозановые наночастицы, фукоиданы), в том числе и на основе производных коричных кислот.

## ЛИТЕРАТУРА

- Скворцов В. В., Тумаренко А. В., Скворцова Е. М., Журавлева М. С., Мухтаров Т. А. К вопросу о применении гепатопротекторов у больных хроническими диффузными заболеваниями печени. *Медицинский алфавит*. 2015;1(7):41–43.
- Сас Е. И., Гриневич В. Б. Многокомпонентные инфузионные гепатопротекторы при лекарственном поражении. *Медицинский совет*. 2019;3:84–88.
- Харитонов Л. А. Гепатопротекторы в комплексной терапии желчнокаменной болезни у детей. *Эффективная фармакотерапия*. 2015;42:20–24.
- Мехтиев С. Н., Оковитый С. В., Мехтиева О. А. Принципы выбора гепатопротекторов в практике терапевта. *Лечащий врач*. 2016;8:44–53.
- Безопасность лекарственных препаратов. Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <https://grls.gosminzdrav.ru>. Ссылка активна на 18.05.2021.
- Вялов С. С. Поражение печени и сопутствующая патология: рациональная комбинация гепатопротекторов. *РМЖ*. 2013;31:1621–1626.
- Gundermann K., Gundermann S., Drozdziak M., Prasad V. G. M. Essential phospholipids in fatty liver: a scientific update. *Clinical and Experimental Gastroenterology*. 2016;9:105–117. DOI: 10.2147/CEG.S96362.
- Бусалаева Е. И., Тарасова Л. В., Матвеева Т. С. Гепатопротекторы в клинической практике. Алгоритм выбора. *Здравоохранение Чувашии*. 2015;2:56–64.
- Стаценко М. Е., Туркина С. В., Чернова О. А. Гепатопротектор для лечения неалкогольного жирового гепатоза при сахарном диабете 2 типа. Патент РФ № 2537227С1. № 2013136692/15. Заявл. 06.08.2013. Оpubл. 27.12.2014. Бюл. № 36.
- Гальченко О. Е., Морозова В. А., Бабаева А. Р. Современные возможности применения гепатопротекторов в лечении хронических диффузных заболеваний печени. *Лекарственный вестник*. 2015;9(2(58)):7–17.
- Бондарев А. В., Жиякова Е. Т. Использование сорбционных процессов в технологии систем доставки лекарственных веществ. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1):4–12. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-4-12.
- Швец В. И., Лютик А. И. Исследования в области создания эффективных лекарственных препаратов нового поколения включением классических субстанций в наноконтейнеры. *Вестник МИТХТ им. М. В. Ломоносова*. 2014;9(3):11–20.
- Мельникова Е. В., Горячев Д. В., Чапленко А. А., Водякова М. А., Сайфудинова А. Р., Меркулов В. А. Разработка липосомальных форм лекарственных препаратов: методы оценки и показатели качества. *Вестник РГМУ*. 2018;6:35–42. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.092.
- Кузякова Л. М., Умнова О. А. Разработка нового поколения лекарственных препаратов на основе технологии конструирования липосомальных наноконтейнеров. *Российский химический журнал*. 2010;54(6):70–77.
- Дмитриева М. В., Тимофеева Т. А., Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Степанова О. И. Характеристика и оценка стабильности липосомальных препаратов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;3(24):36–44.
- Тазина Е. В., Костин К. В., Оборотова Н. А. Особенности инкапсулирования лекарственных препаратов в липосомы. *Химико-фармацевтический журнал*. 2011;45(8):30–40.
- Reddy L. H., Couvreur P. Nanotechnology for therapy and imaging of liver diseases. *Journal of hepatology*. 2011;55(6):1461–1466. DOI: 10.1016/j.jhep.2011.05.039.
- Suntres Z. E. Liposomal Antioxidants for Protection against Oxidant-Induced Damage. *Journal of Toxicology*. Volume 2011:1–16. DOI: 10.1155/2011/152474.
- Носова А. С., Колоскова О. О., Шиловский И. П., Себякин Ю. Л., Хайтов М. Р. Гликоконъюгаты на основе лактозы со спейсерами различной длины для создания транспортных систем к клеткам печени. *Биомедицинская химия*. 2017;63(5):467–471. DOI: 10.18097/PBMC20176305467.
- Wagner A., Vorauer-Uhl K. Liposome Technology for Industrial Purposes. *Journal of Drug Delivery*. 2011:1–9. DOI: 10.1155/2011/591325.
- Барышников А. Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов. *Вестник РАМН*. 2012;67(3):23–31.
- Bitounis D., Fanciullino R., Iliadis A., Ciccolini J. Optimizing Drugability through Liposomal Formulations: New Approaches to an Old Concept. *ISRN Pharmaceutics*. 2012:1–11. DOI: 10.5402/2012/738432.
- Барышникова М. А., Зангиева М. Т., Барышников А. Ю. Взаимодействие липидных нанокapsул с клеткой. *Российский биотерапевтический журнал*. 2013;12(1):11–15.
- Медведева Н. В., Прозоровский В. Н., Игнатов Д. В., Дружиловская О. С., Кудинов В. А., Касаткина Е. О., Тихонова Е. Г., Ипатов О. М. Лекарственные препараты и транспортные наносистемы на основе растительных фосфолипидов. *Биомедицинская химия*. 2015;61(2):219–230.
- Силивончик Н. Н. Комбинированные препараты эссенциальных фосфолипидов и глицерризинатов в лечении неалкогольной жировой болезни печени. *Здравоохранение*. 2015;10:51–57.
- Chiu Ch.-H., Chang Ch.-Ch., Lin Sh.-T., Chyau Ch.-Ch., Peng R. Improved Hepatoprotective Effect of Liposome-Encapsulated Astaxanthin in Lipopolysaccharide-Induced Acute Hepatotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(7):1128. DOI: 10.3390/ijms17071128.
- Мухамадияров Р. А., Хат М., Халиулин И. Г., Борисов В. В., Кудрявцева Ю. А., Журавлева И. Ю. Сравнительная оценка поглощения и субклеточного распределения липосом в печени крыс в норме и при хронической печеночной недостаточности. *Современные проблемы науки и образования*. 2013;1. Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=8322>. Ссылка активна на 19.05.2021.

28. Носова А. С., Буданова У. А., Себякин Ю. Л. Структурные особенности синтетических гликоконъюгатов и эффективность их взаимодействия с гликопротеиновыми рецепторами на поверхности гепатоцитов. *Тонкие химические технологии*. 2019;14(5):7–20. DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-5-7-20.
29. Mufamadi M. S., Pillay V., Choonara Ya. E., Du Toit L. C., Modi G., Naidoo D., Ndesendo V. M. K. A Review on Composite Liposomal Technologies for Specialized Drug Delivery. *Journal of Drug Delivery*. 2011;1–19. DOI: 10.1155/2011/939851.
30. Кедик С. А., Панов А. В., Тюкова В. С., Золотарева М. С. Циклодекстрины и их применение в фармацевтической промышленности. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;3(16):68–75.
31. Zhang Y.-M., Xu X., Yu Q., Yu H.-J., Liu Y. Drug Displacement Strategy for Treatment of Acute Liver Injury with Cyclodextrin-Liposome Nanoassembly. *iScience*. 2019;15: 223–233. DOI: 10.1016/j.isci.2019.04.029.
32. Singh S. K., Girotra P., Gupta S. Targeting silymarin for improved hepatoprotective activity through chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2014;4(4):156–163. DOI: 10.4103/2230-973X.143113.
33. Денисова Е. В., Бегдай И. В., Андрусенко С. Ф., Супрунчук В. Е., Кораблинова Н. В., Фофанова Д. Ю. Оригинальная биотехнология получения матриц, содержащих маннан и фукоидан, для фармацевтических целей. *Наука. Инновации. Технологии*. 2014;3:157–166.
34. Кузнецова Т. А., Агафонова И. Г., Крохмаль Т. С., Звягинцева Т. Н., Филонова Н. В. Гепатопротекторные свойства фукоидана из бурой водоросли *Fucus Evanesceus*. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2010;4(42):32–35.
35. Бивалькевич Н. В., Караман Ю. К. Экспериментальное обоснование применения фукоидана в качестве гепатопротекторного средства при неалкогольной жировой болезни печени. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2012;1(47):41–43.
36. Симонян А. В., Аванесян А. А., Симонян М. А. Комбинированные лекарственные формы для лечения заболеваний, связанных с нарушениями иммунного статуса. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2015;2(11):218–224.
37. Оганесян Э. Т., Шатохин С. С., Глушко А. А. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной (НО-) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. I. Производные коричной кислоты, халкона и флаванона. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1):53–66. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66.
38. Симонян А. В. Новые аспекты применения в медицинской практике желчегонного средства циквалон. Волгоград: ВолГМУ; 2011. 53 с.
39. Nabavi S. F., Daglia M., Moghaddam A. H., Habtemariam S., Nabavi S. M. Curcumin and Liver Disease: from Chemistry to Medicine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014;13(1): 62–77. DOI: 10.1111/1541-4337.12047.
40. Farzaei M., Zobeiri M., Parvizi F., El-Senduny F., Marmouzi I., Coy-Barrera E., Naseri R., Nabavi S., Rahimi R., Abdollahi M. Curcumin in Liver Diseases: A Systematic Review of the Cellular Mechanisms of Oxidative Stress and Clinical Perspective. *Nutrients*. 2018;10(7):855. DOI: 10.3390/nu10070855.
41. Saadati S., Sadeghi A., Mansour A., Yari Z., Poustchi H., Hedayati M., Hatami B., Hekmatdoost A. Curcumin and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, placebo controlled clinical trial. *BMC Gastroenterology*. 2019;19(1):133. DOI: 10.1186/s12876-019-1055-4.
42. Nahak G., Sahu R. K. Evaluation of antioxidant activity in ethanolic extracts of five curcuma species. *International Research Journal of Pharmacy*. 2011;2(12):243–248.
43. Попова Ю. Р., Лаптева Е. Н., Атлас Е. Е. Опыт применения растительного гепатопротектора ропрен в терапии неалкогольной-жировой болезни печени (НАЖБП) у больных с ожирением. *Успехи современной науки и образования*. 2016;9(3):134–139.
44. Лаптева Е. Н., Султанов В. С., Попова Ю. Р., Атлас Е. Е. Полипрепараты в клинической практике. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2018;2:7–14.

## REFERENCES

1. Skvortsov V. V., Tumarenko A. V., Skvortsova E. M., Zhuravleva M. S., Muhtarov T. A. Using of hepatoprotectors in treatment of chronic diffuse liver diseases. *Meditsinskiy alfavit = Medical alphabet*. 2015;1(7):41–43. (In Russ.)
2. Sas E. I., Grinevich V. B. Multi-component infusion hepatoprotectors for liver damage. *Meditsinsky Sovet*. 2019;3:84–88. (In Russ.)
3. Kharitonova L. A. Hepatoprotectors in a combination therapy of cholelithiasis in children. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2015;42:20–24. (In Russ.)
4. Mekhtiev S. N., Okovityi S. V., Mekhtieva O. A. *Printsipy vybora gepatoprotektorov v praktike terapevta* [Principles of hepatoprotector selection in therapeutic practice]. *Lechaschi Vrach*. 2016;8:44–53. (In Russ.)
5. *Bezopasnost' lekarstvennykh preparatov. Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv* [Drug safety. State Register of Medicines]. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru>. Accessed: 18.05.2021. (In Russ.)
6. Vyalov S. S. *Porazhenie pecheni i soputstvuyushchaya patologiya: ratsional'naya kombinatsiya gepatoprotektorov* [Liver damage and concomitant pathology: a rational combination of hepatoprotectors]. *RMZh = RMJ (Russian Medical Journal)*. 2013;31:1621–1626. (In Russ.)
7. Gundermann K., Gundermann S., Drozdziak M., Prasad V. G. M. Essential phospholipids in fatty liver: a scientific update. *Clinical and Experimental Gastroenterology*. 2016;9:105–117. DOI: 10.2147/CEG. S96362.
8. Busalaeva E. I., Tarasova L. V., Matveeva T. S. Hepatoprotectors in clinical practice. Selection algorithm. *Zdravookhranenie Chuvashii = Health care of Chuvashia* 2015;2:56–64. (In Russ.)
9. Datsenko M. E., Turkina S. V., Chernova O. A. *Gepatoprotektor dlya lecheniya nealkogol'nogo zhirovogo gepatoza pri sakharnom diabete 2 tipa* [Hepatoprotector for the treatment of non-alcoholic fatty hepatosis in type 2 diabetes mellitus]. Patent RUS № 2537227C1 № 2013136692/15. Req. 06.08.2013. Publ. 27.12.2014. Byul. № 36. (In Russ.)
10. Gal'chenko O. E., Morozova V. A., Babaeva A. R. *Sovremennye vozmozhnosti primeneniya gepatoprotektorov v lechenii khronicheskikh diffuznykh zabollevaniy pecheni* [Modern possibilities of using hepatoprotectors in the treatment of chronic diffuse liver diseases]. *Lekarstvennyi vestnik*. 015;9(2(58)):7–17. (In Russ.)
11. Bondarev A. V., Zhilyakova E. T. Use of sorption processes in the technology of drug delivery systems. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy & pharmacology*. 2019;7(1):4–12. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-4-12.
12. Shvets V. I., Lyutik A. I. The research applicable to elaboration of new generation of effective medicinal drugs using encapsulation of classic substances into nanocontainers. *Vestnik MITkHt im. M. V. Lomonosova*. 2014;9(3):11–20. (In Russ.)
13. Melnikova E. V., Goryachev D. V., Chaplenko A. A., Vodyakova M. A., Sayfutdinova A. R., Merkulov V. A. Development of liposomal drug formulations: quality attributes and methods for quality control. *Vestnik RGMU = Bulletin RSMU*. 2018;6:35–42. (In Russ.) DOI: 10.24075/vrgmu.2018.092.
14. Kuzyakova L. M., Umnova O. A. *Razrabotka novogo pokoleniya lekarstvennykh preparatov na osnove tekhnologii konstruirovaniya liposomal'nykh nanokonteynerov* [Development of a new generation of drugs based on the technology of designing liposomal nanocontainers]. *Rossiiskii khimicheskii zhurnal*. 2010;54(6):70–77. (In Russ.)
15. Dmitrieva M. V., Timofeeva T. A., Oborotova N. A., Krasnyuk I. I., Stepanova O. I. Characteristics and stability assessment of liposomal preparations. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2018;3(24):36–44. (In Russ.)
16. Tazina E. V., Kostin K. V., Oborotova N. A. Specific features of drug encapsulation in liposomes. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2011;45(8):30–40. (In Russ.)
17. Reddy L. H., Couvreur P. Nanotechnology for therapy and imaging of liver diseases. *Journal of hepatology*. 2011;55(6):1461–1466. DOI: 10.1016/j.jhep.2011.05.039.

18. Suntres Z. E. Liposomal Antioxidants for Protection against Oxidant-Induced Damage. *Journal of Toxicology*. Volume 2011:1–16. DOI: 10.1155/2011/152474.
19. Nosova A. S., Koloskova O. O., Shilovskiy I. P., Sebyakin Yu. L., Khaitov M. R. Lactose-based glycoconjugates with variable spacers for design of liver-targeted liposomes. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2017;63(5):467–471. (In Russ.) DOI: 10.18097/PBMC20176305467.
20. Wagner A., Vorauer-Uhl K. Liposome Technology for Industrial Purposes. *Journal of Drug Delivery*. 2011:1–9. DOI: 10.1155/2011/591325.
21. Baryshnikov A. Yu. Nanostructured liposomal systems as transport agents for anticancer drugs. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012;67(3):23–31. (In Russ.)
22. Bitounis D., Fanciullino R., Iliadis A., Ciccolini J. Optimizing Druggability through Liposomal Formulations: New Approaches to an Old Concept. *ISRN Pharmaceutics*. 2012:1–11. DOI: 10.5402/2012/738432.
23. Baryshnikova M. A., Zangieva M. T., Baryshnikov A. Yu. Interaction of lipid nanocapsules and cell. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian journal of bioterapy*. 2013;12(1):11–15. (In Russ.)
24. Medvedeva N. V., Prozorovskiy V. N., Ignatov D. V., Druzilovskaya O. S., Kudinov V. A., Kasatkina E. O., Tikhonova E. G., Ipatova O. M. Pharmacological agents and transport nanosystems based on plant phospholipids. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2015;61(2):219–230. (In Russ.)
25. Silivonchik N. N. Essential phospholipid and glycyrrhizinate combined drugs for managing non-alcoholic fatty liver disease. *Zdravookhraneniye = Health care*. 2015;10:51–57. (In Russ.)
26. Chiu Ch.-H., Chang Ch.-Ch., Lin Sh.-T., Chyau Ch.-Ch., Peng R. Improved Hepatoprotective Effect of Liposome-Encapsulated Astaxanthin in Lipopolysaccharide-Induced Acute Hepatotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(7):1128. DOI: 10.3390/ijms17071128.
27. Mukhamadiyarov R. A., Gkhat M., Khaliulin I. G., Borisov V. V., Kudryavtseva Yu. A., Zhuravleva I. Yu. *Sravnitel'naya otsenka pogloshcheniya i subkletchnogo raspredeleniya liposom v pecheni krysa v norme i pri khronicheskoy pechenochnoy nedostatocnosti* [Comparative assesment of liposome absorption and subcellular distribution in rat liver in normal conditions and in chronic hepatic insufficiency]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013;1. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=8322>. Accessed: 19.05.2021. (In Russ.)
28. Nosova A. S., Budanova U. A., Sebyakin Yu. L. Structural features of synthetic glycoconjugates and efficiency of their interaction with glycoprotein receptors on the surface of hepatocytes. *Tonkie Khimicheskie Tekhnologii = Fine Chemical Technologies*. 2019;14(5):7–20. (In Russ.) DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-5-7-20.
29. Mufamadi M. S., Pillay V., Choonara Ya. E., Du Toit L. C., Modi G., Naidoo D., Ndesendo V. M. K. A Review on Composite Liposomal Technologies for Specialized Drug Delivery. *Journal of Drug Delivery*. 2011;1–19. DOI: 10.1155/2011/939851.
30. Kedik S. A., Panov A. V., Tyukova V. S., Zolotareva M. S. Cyclodextrins and their application in pharmaceutical industry. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2016;3(16):68–75. (In Russ.)
31. Zhang Y.-M., Xu X., Yu Q., Yu H.-J., Liu Y. Drug Displacement Strategy for Treatment of Acute Liver Injury with Cyclodextrin-Liposome Nanoassembly. *iScience*. 2019;15: 223–233. DOI: 10.1016/j.isci.2019.04.029.
32. Singh S. K., Girotra P., Gupta S. Targeting silymarin for improved hepatoprotective activity through chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2014;4(4):156–163. DOI: 10.4103/2230-973X.143113.
33. Denisova E. V., Begday I. V., Andrusenko S. F., Suprunchuk V. E., Korablinova N. V., Fofanova D. Yu. Original biotechnology of receiving the matrixes containing mannane and fucoidane for the pharmaceutical purposes. *Nauka. Innovatsii. Tekhnologii*. 2014;3:157–166. (In Russ.)
34. Kuznetsova T. A., Agafonova I. G., Krokhal T. S., Zvyagintseva T. N., Filonova N. V. Hepatoprotective properties of *Fucus Evanescentis* Derived Fucoidan. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*. 2010;4(42):32–35. (In Russ.)
35. Bivalkevich N. V., Karaman Yu. K. Experimental substantiation of fucoidan used as hepatoprotective drug in case of non-alcoholic fatty liver disease. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*. 2012;1(47):41–43. (In Russ.)
36. Simonyan A. V., Avanesyan A. A., Simonyan M. A. Combined drug forms for the treatment of diseases, associated with impaired immune status. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2015;2(11):218–224. (In Russ.)
37. Oganessian E. T., Shatokhin S. S., Glushko A. A. Using quantum-chemical parameters for predicting anti-radical (HO-) activity of related structures containing a cinnamic mold fragment. I. Derivatives of cinnamic acid, chalcone and flavanone. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy & pharmacology*. 2019;7(1):53–66. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66.
38. Simonyan A. V. Novyye aspekty primeneniya v meditsinskoy praktike zhelchegonnogo sredstva tsikvalon [New aspects of the use in medical practice of the choleric agent tsikvalon]. Volgograd: VolgGMU; 2011. 53 p. (In Russ.)
39. Nabavi S. F., Daglia M., Moghaddam A. H., Habtemariam S., Nabavi S. M. Curcumin and Liver Disease: from Chemistry to Medicine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014;13(1): 62–77. DOI: 10.1111/1541-4337.12047.
40. Farzaei M., Zobeiri M., Parvizi F., El-Senduny F., Marmouzi I., Coy-Barrera E., Naseri R., Nabavi S., Rahimi R., Abdollahi M. Curcumin in Liver Diseases: A Systematic Review of the Cellular Mechanisms of Oxidative Stress and Clinical Perspective. *Nutrients*. 2018;10(7):855. DOI: 10.3390/nu10070855.
41. Saadati S., Sadeghi A., Mansour A., Yari Z., Poustchi H., Hedayati M., Hatami B., Hekmatdoost A. Curcumin and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, placebo controlled clinical trial. *BMC Gastroenterology*. 2019;19(1):133. DOI: 10.1186/s12876-019-1055-4.
42. Nahak G., Sahu R. K. Evaluation of antioxidant activity in ethanolic extracts of five curcuma species. *International Research Journal of Pharmacy*. 2011;2(12):243–248.
43. Popova Yu. R., Lapteva E. N., Atlas E. E. The way we use vegetable hepatoprotector ropren in the therapy of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) for patients suffering obesity. *Uspekhi sovremennoy nauki i obrazovaniya*. 2016;9(3):134–139. (In Russ.)
44. Lapteva E. N., Sultanov V. S., Popova Yu. R., Atlas E. E. Polyphenols in clinical practice. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga*. 2018;2:7–14. (In Russ.)

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-47-53>  
УДК 615.322 + 615.456



Оригинальная статья / Research article

## Разработка составов и технологии получения таблеток с экстрактом листьев оливы, стандартизованного по гидрокситирозолу

М. С. Масленникова<sup>1\*</sup>, Н. Л. Соловьёва<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

<sup>2</sup> Институт Фармации им. А. П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

\*Контактное лицо: Масленникова Мария Сергеевна. E-mail: sok.mary.serg@gmail.com

ORCID: М. С. Масленникова – <https://orcid.org/0000-0002-6416-7091>; Н. Л. Соловьёва – <https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>.

Статья поступила: 21.05.2020

Статья принята в печать: 08.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В статье представлены результаты исследования физико-химических свойств сухого экстракта листьев оливы, стандартизованного по гидрокситирозолу, – биологически активному веществу, входящему в химический состав надземных частей оливкового дерева.

**Цель.** Разработать составы для изготовления таблеток с сухим экстрактом листьев оливы и провести стандартизацию методом ОФ-ВЭЖХ по содержанию гидрокситирозола.

**Материалы и методы.** Субстанция сухого экстракта листьев оливы, микрокристаллическая целлюлоза (Avicel® PH-112), Аэросил® (Aeroperl® 300 Pharma), Лудипресс® (Ludipress®), лактоза, крахмал картофельный, натриевая соль карбоксиметилированного крахмала, магния стеарат, прямое прессование, ВЭЖХ.

**Результаты и обсуждение.** Проведены исследования физико-химических свойств сухого экстракта листьев оливы. Выбраны вспомогательные вещества для опытных образцов. Разработаны составы для дальнейшего таблетирования. Проведен комплекс исследований полученных таблеток согласно ГФ XIV на соответствие показателей качества.

**Заключение.** Проведен обзор научных данных о биологических свойствах сухого экстракта листьев оливы, свидетельствующий о перспективе разработки лекарственных препаратов на его основе. Разработаны составы таблеток с сухим экстрактом листьев оливы и исследованы их показатели качества.

**Ключевые слова:** гидрокситирозол, полифенолы, сухой экстракт листьев оливы, вспомогательные вещества, ОФ-ВЭЖХ

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Н. Л. Соловьёва, М. С. Масленникова разработали дизайн исследования, провели исследование, анализировали полученные данные. Н. Л. Соловьёва сделала обзор публикаций по теме статьи. М. С. Масленникова написала текст рукописи.

**Для цитирования:** Масленникова М. С., Соловьёва Н. Л. Разработка составов и технологии получения таблеток с экстрактом листьев оливы, стандартизованного по гидрокситирозолу. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):47–53. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-47-53>

## Development of Compositions and Technologies for Producing Tablets with Hydroxythyrozol-standardized Extract of Olive Leaves

Maria S. Maslennikova<sup>1\*</sup>, Natalia L. Solovyova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14, Ustinskiy proezd, Moscow, 109240, Russia

<sup>2</sup> Institute of Pharmacy. A. P. Nelyubina I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

\*Corresponding author: Maria S. Maslennikova. E-mail: sok.mary.serg@gmail.com

ORCID: Maria S. Maslennikova – <https://orcid.org/0000-0002-6416-7091>; Natalia L. Solovyova – <https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>.

Received: 21.05.2020

Revised: 08.06.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** The article presents the results of a study of the physicochemical properties of dry extract of olive leaves, standardized by hydroxythyrozol – a biologically active substance that is part of the chemical composition of aerial parts of the olive tree.

**Aim.** The purpose of the study is to develop tablet Formulations containing dry extract of olive leaves and to standardize by hydroxythyrozol by reversed-phase-HPLC method on the main substance content.

**Materials and methods.** Substance of dry extract of olive leaves, microcrystalline cellulose (Avicel® PH-112), Aerosil® (Aeroperl® 300 Pharma), Ludipress® (Ludipress®), lactose, potato starch, sodium salt of carboxymethyl starch, magnesium stearate, direct pressing, HPLC.

**Results and discussion.** Studies of the physicochemical properties of dry extract of olive leaves have been carried out. Selected excipients for the study of tabletable masses. Formulations for further tableting have been developed. A complex of studies of the obtained tablets was carried out according to Russian Pharmacopoeia XIV for compliance with quality indicators.

© Масленникова М. С., Соловьёва Н. Л., 2021

© Maslennikova M. S., Solovyova N. L., 2021

**Conclusion.** The biological properties of dry extract of olive leaves are have been studied, indicating the prospect of developing drugs based on it. Formulations of tablets with dry extract of olive leaves have been developed and their quality indicators have been investigated.

**Keywords:** hydroxytyrosol, polyphenols, dry extract of olive leaves, pharmaceutical technology, excipients, RP-HPLC

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Natalia L. Solovyova, Maria S. Maslennikova developed the design of the study, conducted the study, analyzed the data obtained. Natalia L. Solovyova made a review of publications on the topic of the article. Maria S. Maslennikova wrote the text of the manuscript.

**For citation:** Maslennikova M. S., Solovyova N. L. Development of compositions and technologies for producing tablets with hydroxytyrosol-standardized extract of olive leaves. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration.* 2021;10(3):47–53. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-47-53>

## ВВЕДЕНИЕ

Семейство Маслиновые (*Oleaceae*) насчитывает около 30 родов лиственных деревьев и кустарников, в том числе род Маслина (*Olea*), одним из основных представителей которого является Маслина европейская (*Olea europaea*) [1, 2].

Олива европейская является богатым источником различных биологически активных веществ. Плод оливы на 50 % состоит из воды, 1,6 % белка, 22 % жирных кислот, 19 % углеводов, 5,8 % целлюлозы, около 1,5 % минеральных веществ [2]. Остальными компонентами плода оливы являются пектины, органические кислоты и гликозиды фенольных соединений [1, 3]. Но помимо плодов, из которых делают масло, в традиционной медицине используют и другие части растения.

Листья и плоды используют в виде настоев, экстрактов и отваров, обладающих широким спектром действия: противоопухолевым, кардиопротекторным, нейропротекторным, жаропонижающим [4], мочегонным, антисептическим [5], антидиабетическим [6], антибактериальным [7]; используют для лечения подагры [8], геморроя и ревматизма [9], бронхиальной астмы [10]. Масло плодов обладает слабительным эффектом [11], используют наружно как средство профилактики против выпадения волос [12]. Смесь из оливкового масла и лимонного сока применяют при желчекаменной болезни [13].

Основными полифенольными соединениями оливкового масла являются олеорупеин, апигенин, лютеолин, пиноресинол и его производные, тирозол, 4-гидроксibenзойная кислота, феруловая кислота, кумаровая кислота и другие [1, 14, 15]. Особый интерес представляет полифенол из группы фенолоспиртов – гидрокситирозол (рисунок 1).

Гидрокситирозол обладает широким спектром биологической активности и представляет интерес для фармацевтической, пищевой, косметической промышленности. Как и большинство полифенолов обладает сильной антиоксидантной активностью [15].

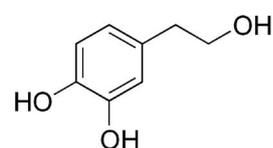


Рисунок 1. 4-(2-гидроксиэтил)-1,2-бензенидиол (гидрокситирозол)

Figure 1. 4-(2-Hydroxyethyl)-1,2-benzenediol (Hydroxytyrosol)

Содержание гидрокситирозола в масле и плодах зависит от сорта оливы, спелости и технологии приготовления масла [16]. Количество гидрокситирозола варьирует от 20 до 84 мг/л. В оливковом масле он находится в свободном состоянии, реже в виде соли ацетата [17].

Гидрокситирозол является метаболитом олеорупеина, который придаёт горький привкус оливковому маслу. Его содержание уменьшается по мере созревания плода и переходит переходит в негликозилированную форму [18]. Агликон олеорупеина посредством ферментативного гидролиза в конечном итоге превращается в гидрокситирозол, что является одним из показателей зрелости оливы [3].

Одним из видов субстанций, используемых для производства биологически активных добавок к пище и лекарств на растительной основе, являются сухие экстракты. Потребность в таком виде субстанций вызвана удобством транспортировки и хранения, а главное стабильности биологически активных веществ при правильном выборе условий получения и упаковки. В высушенном экстракте листьев оливы сохраняется 90 % флавоноидов и антиоксидантная активность [19, 20].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для работы использовался сухой экстракт листьев оливы (elaVida™, DSM) в виде субстанции, стандартизованный по гидрокситирозолу (не менее 15 %

основного вещества). Представляет собой порошок кремового цвета без запаха.

В ходе исследований и разработки твердой лекарственной формы с гидрокситирозолом были использованы следующие реактивы: вода очищенная по ФС.2.2.0020.15, полученная на установке обратного осмоса УВОИ-«МФ» 1812С6 (АО «НПК Медиана-Фильтр», Россия); кислота хлористоводородная концентрированная (ГОСТ 3118-77), о.с.ч. (ООО «Кемикал Лайн», Россия); натрия гидроксид (Ph.Eur., BP, USP), х.ч. (CAS: 1310-73-2, Sigma-Aldrich, Германия); спирт этиловый 95 % (ТУ 91-03-0566401-93, ГОСТ Р 51723-2001, ФС.2.1.0036.15), о.с.ч. (ООО «Кемикал Лайн», Россия).

Были проведены следующие исследования сухого экстракта листьев оливы согласно ГФ XIV РФ [21]:

- растворимость (согласно ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость») [22];
- кислотность (согласно ОФС.1.1.0006.15 «Фармацевтические субстанции») [23]. Исследование проводилось с помощью рН-метра РВ-11 (Sartorius, Германия);
- влажность (определяли методом высушивания согласно ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья») [24]. Исследование проводилось на аппарате A&D MS-70 Moisture Analyzer (Япония).

Для создания масс для таблетирования использовались следующие вспомогательные вещества: лактоза  $\geq 98\%$  (CAS: 63-42-3, Sigma-Aldrich, США); крахмал картофельный, х.ч. (CAS: 9005-25-8, Sigma-Aldrich, США); натриевая соль карбоксиметилированного крахмала  $\geq 98\%$  (CAS: 112346-82-4, Yung Zip Chemical Ind. Co., Ltd., Тайвань); микрокристаллическая целлюлоза (Avicel® PH-112),  $\geq 98\%$  (CAS: 9004-34-6 FMC BioPolymer, США); магнезия стеарат  $\geq 90\%$  (CAS: 557-04-0 Sigma-Aldrich, США); Аэросил® (Aeroperl® 300 Pharma), х.ч. (ООО НПО «ФармВИЛАР», Россия); Лудипресс® (Ludipress®), х.ч. (CAS: 5989-81-1 + 9003-39-8, BASF, Германия).

Оценка качества полученных таблетированных масс проводилась согласно требованиям ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» ГФ XIV [24]: исследования показателей сыпучести, насыпной плотности и угла естественного откоса проводились на аппарате ERWEKA GTL (ERWEKA GmbH, Германия).

Модельные таблетки изготавливали методом прямого прессования на аппарате ERWEKA EP-1 (ERWEKA GmbH, Германия).

Технологические свойства таблеток, содержащих сухой экстракт листьев оливы, исследовали согласно требованиям, указанным в ОФС 1.4.1.0015.15 «Таблетки» [25] ГФ XIV РФ [21]. Сравнительный анализ проводили согласно нормам, указанным в соответствующем документе.

- описание (оценку внешнего вида таблеток) осуществляли визуально;
- прочность на истирание определяли согласно ОФС.1.4.2.0004.15 «Истираемость таблеток» [26]. Использовался аппарат ERWEKA TAR 220 (ERWEKA GmbH, Германия);

- распадаемость таблеток исследовали согласно ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» [27]. Использовался аппарат ERWEKA ZT 221 (ERWEKA GmbH, Германия). Прибор «Качающаяся корзинка». Температура среды растворения ( $37 \pm 0,5$ ) °C;
- прочность на раздавливание оценивали согласно ОФС.1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание» [28]. Использовался аппарат ERWEKA TBH 225 D (ERWEKA GmbH, Германия);
- однородность дозирования проводили согласно ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования» [29]. Применялась высокоэффективная жидкостная хроматография на обращенно-фазовом жидкостном хроматографе Hitachi Chromaster (Hitachi High Technologies, Япония) с УФ-детектированием (длина волны 280 нм).

Условия хроматографирования [30]:

Колонка Nucleodur C18 Gravity (Macherey-Nagel, Германия) 5 мкм, 250 × 4,6 мм. Скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 20,0 мкл. Температура термостата колонки 40 °C. Подвижная фаза (ПФ) – метанол:вода (80:20). В изократическом режиме. Время проведения анализа – 15 минут. Стандарт: субстанция-порошок, содержание 3-гидрокситирозола не менее 98,0 % (серия H4291-25MG, годен до 01.2021 г., Sigma-Aldrich, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе разработки таблеток с сухим экстрактом листьев оливы были исследованы физико-технологические свойства сухого экстракта листьев оливы. Результаты растворимости представлены в таблице 1.

**Таблица 1. Растворимость сухого экстракта листьев оливы в воде, органических растворителях и этаноле**

**Table 1. Solubility dry olive leaf extract in water, organic solvents and ethyl alcohol**

Растворитель Solvent	Растворимость 1,0 г в 1,0 мл Solubility 1.0 g in 1.0 ml	
Вода Water	10 (легко растворим) 10 (easily soluble)	
Кислота соляная Hydraulic acid	> 100 (мало растворим) > 100 (slightly soluble)	
Щёлочь (0,1 н NaOH) Alkali (0,1 n NaOH)	> 100 (мало растворим), раствор лимонно-жёлтого цвета, темнеющий при стоянии на воздухе > 100 (slightly soluble), lemon-yellow solution, darkens when exposed to air	
Спирт, % Alcohol, %	30	5 (легко растворим) 5 (easily soluble)
	50	32 (умеренно растворим) 32 (sparingly soluble)
	70	> 100 (мало растворим) > 100 (slightly soluble)

**Определение pH.** Водородный показатель равен 5,0. Масса навески сухого экстракта листьев оливы составила 45 мг. Объем растворителя (воды) – 200 мл.

**Определение влажности.** Потеря массы при высушивании составила 5,2 %.

**Определение содержания действующего вещества.** Навеску (1,00 г) сухого экстракта листьев оливы растворили в 10 мл этанола 30 %. Содержание гидрокситирозола определяли методом ОФ-ВЭЖХ (см. п. «Условия хроматографирования»). Содержание гидрокситирозола в исследованной субстанции составило 99,38 %, что соответствует спецификации производителя.

На основании полученных результатов исследований физико-технологических свойств сухого экстракта листьев оливы можно сделать вывод, что выбор вспомогательных веществ следует делать среди тех, которые используются для изготовления таблеток методом прямого прессования.

Таким образом, на основании проведенных исследований были разработаны составы для таблетирования, представленные в таблице 2.

В таблице 3 представлены результаты исследований физико-технологических свойств разработанных таблеточных масс.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о хорошей сыпучести полученных таблеточных масс согласно таблице 2, представленной в ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков». Следовательно, выбор способа таблетирования сводится к изготовлению таблеток методом прямого прессования.

Таблетки были изготовлены на ручном прессе при давлении 60 кг/см<sup>2</sup>, что составляет около 0,006 МПа. Выбор такого давления связан с достижением наиболее оптимальной прочности таблеток и временем распадаемости [31].

Технологические свойства модельных таблеток представлены в таблице 4.

**Таблица 2. Составы для таблетирования**

**Table 2. Formulations for tableting**

№ состава Composition number	Компоненты составов Components of the formulations	%/табл. %/tab.
1	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лактоза Lactose	49,5
	Крахмал картофельный Potato starch	4
	Стеарат магния Magnesium stearate	1,25
	Аэросил Aerosil	0,25
2	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лактоза Lactose	37,5
	МКЦ Microcrystalline cellulose	12
	Крахмал картофельный Potato starch	4
	Стеарат магния Magnesium stearate	1,25
	Аэросил Aerosil	0,25
3	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лудипресс Ludipress	53
	Натрия гликолята крахмал Sodium glycolate starch	1
	Стеарат магния Magnesium stearate	1
4	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лактоза Lactose	40
	МКЦ Microcrystalline cellulose	13
	Стеарат магния Magnesium stearate	1
	Аэросил Aerosil	1

**Примечание.** Содержание гидрокситирозола в таблетке не менее 6,75 %.

**Note.** The content of hydroxytyrosol in the tablet is not less than 6.75 %.

**Таблица 3. Результаты исследований физико-технологических свойств таблеточных масс с сухим экстрактом листьев оливы**

**Table 3. The results of studies of the physical and technological properties of the tablet masses with dry olive leaf extract**

Показатели Indicators	№ состава Composition number				Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves
	1	2	3	4	
Масса, г Weight, g	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Сыпучесть, г/сек. * Free flow, g/sec.	4,8–5,0	4,2–4,6	4,7–5,0	3,8–4,2	5,3–6,5
Угол естественного откоса, градус* Angle of repose, degree*	31	31	31,5	31	28,7
Насыпной объем (до/после, мл)* Bulk volume (before/after, ml)*	51/49	63/60	58/53	31/27	58/49

**Примечание.** \* Количество повторностей  $n = 5$ .

**Note.** \* Number of replicates  $n = 5$ .

**Таблица 4. Технологические свойства модельных составов таблеток и однородность дозирования сухого экстракта листьев оливы**

**Table 4. Technological properties of model tablet formulations and uniformity of dosing of dry olive leaf extract**

Показатели Indicators	№ состава Composition number			
	1	2	3	4
Описание Description	Таблетки круглой формы, белого цвета, без оболочки. Поверхность гладкая, блестящая, однородная, без риски Round tablets, white, without shell. The surface is smooth, shiny, uniform, without risks			
Средняя масса таблетки, мг Average tablet weight, mg	199,0	195,0	200,0	197,0
Диаметр, мм Diameter, mm	9,09	9,05	9,07	9,09
Прочность на истирание, % <sup>1</sup> Abrasion strength, % <sup>1</sup>	99,4	98,5	99,0	99,0
Распадаемость, мин <sup>2</sup> Disintegration, min <sup>2</sup>	18,9	26,0	4,5	22,1
Прочность на раздавливание, Н <sup>3</sup> Crushing strength, N <sup>3</sup>	74	74	74	80
Однородность дозирования, % <sup>4</sup> Dosing uniformity, % <sup>4</sup>	–	–	13,54	–

**Примечание.** <sup>1</sup> Потеря в массе не должна превышать 3 % согласно ОФС.1.4.2.0004.15 «Истираемость таблеток».

<sup>2</sup> % от введенного в состав сухого экстракта листьев оливы, погрешность метода определения составляет 10 % испытания проводили согласно ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул».

<sup>3</sup> Минимальная прочность для таблеток данного диаметра должна составлять не менее 30 Н согласно ОФС.1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание».

<sup>4</sup> В таблице приведено содержание (%) гидрокси酪розола. Испытания проводились согласно ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования».

**Note.** <sup>1</sup> Loss in mass should not exceed 3 % according to OFS.1.4.2.0004.15 "Abrasion of tablets".

<sup>2</sup> % of the added to the dry extract of olive leaves, the error of the method of determination is 10 %. The tests were carried out according to OFS.1.4.2.0013.15 "Disintegration of tablets and capsules".

<sup>3</sup> The minimum strength for tablets of a given diameter should be at least 30 N according to OFS.1.4.2.0011.15 "Crushing strength of tablets".

<sup>4</sup> The table shows the content (%) of hydroxytyrosol. The tests were carried out in accordance with OFS.1.4.2.0008.15 "Uniformity of dosage".

Согласно результатам технологических свойств, приведенных в таблице 4, составы № 1, 2, 4 не прошли испытания по показателю «Распадаемость» (в таблице знак «–»), поэтому однородность дозирования в них не проверялась.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для производства таблеток, содержащих 45 % сухого экстракта листьев оливы подобраны вспомогательные вещества. Технологические свойства выбранных вспомогательных веществ (лактоза, крахмал картофельный, натриевая соль карбоксиметилированной

го крахмала, микрокристаллическая целлюлоза, магния стеарат, Аэросил®, Лудипресс®) обеспечивают получение таблеток методом прямого прессования. Показатели качества проводились согласно ГФ XIV. Полученные результаты исследований таблеток, изготовленных из состава № 3, содержащего в качестве вспомогательных веществ Лудипресс®, магния стеарат, натриевую соль карбоксиметилированного крахмала, полностью удовлетворяют требования Государственной фармакопеи XIV.

Разработанный состав № 3 может быть рекомендован к регистрации в качестве биологически активной добавки к пище, являющейся источником гидрокситырозола – содержание основного вещества составляет не менее 13,5 мг/табл. [30, 32]. Согласно требованиям ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» данный продукт необходимо проверить на соответствие санитарно-химических и санитарно-биологических показателей согласно требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», разработать упаковку согласно требованиям ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» и макет этикетки согласно требованиям 022/2011 «Пищевая маркировка».

## ЛИТЕРАТУРА

- Boscou D. Olive Oil. Chemistry and Technology. 2<sup>nd</sup> edition. Urbana: Academic Press and AOCS Press; 2006. 282 p.
- Montealegre C., García M. C., del Río C., Marina M. L., García-Ruiz C. Separation of olive proteins by capillary gel electrophoresis. *Talanta*. 2012;97:420–424. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.04.055.
- Imran M., Nadeem M., Gilani S. A., Khan S., Sajid M. W., Amir R. M. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. *Journal of Food Science*. 2018;83(7):1781–1791. DOI: 10.1111/1750-3841.14198.
- Marković A. K., Torić J., Barbarić M., Brala C. J. Hydroxytyrosol, Tyrosol and Derivatives and Their Potential Effects on Human Health. *Molecules*. 2019;24(10):2001. DOI: 10.3390/molecules24102001.
- Gorzynik-Debicka M., Przychodzen P., Cappello F., Kuban-Jankowska A., Gammazza A. M., Knap N., Wozniak M., Gorska-Ponikowska M. Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(3):686. DOI: 10.3390/ijms19030686.
- Ahamad J., Uthirapathy S., Ameen M. S. M., Anwer E. T., Husain F. H. S., Mir S. R. Chemical Composition and In vitro Antidiabetic Effects of *Olea europaea* Linn. (*Olive*). *Current Bioactive Compounds*. 2020;16(8):1157–1163. DOI: 10.2174/1573407215666191210124636.
- Wei J., Wang S., Pei D., Qu L., Li Y., Chen J., Di D., Gao K. Antibacterial Activity of Hydroxytyrosol Acetate from Olive Leaves (*Olea Europaea* L.). *Natural Product Research*. 2018;32(16):1967–1970. DOI: 10.1080/14786419.2017.1356830.
- Flemmig J., Kuchta K., Arnhold J., Rauwald H. W. *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*. 2011;18(7):561–566. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.10.021.
- Diab M. A., Ibrahim A. K., Hadad G. Review article on chemical constituents and biological activity of *Olea europaea*. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2020;4(2):36–45. DOI: 10.21608/rpbs.2019.19541.1048.
- Lawrendiadis G. Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. *Planta Medica*. 1961;9(2):164–169. DOI: 10.1055/s-0028-1100338.
- Yokoi A., Kamata N. The usefulness of olive oil enema in children with severe chronic constipation. *Journal of Pediatric Surgery*. 2021. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2021.03.024.

12. Gorini I., Iorio S., Ciliberti R., Licata M., Armocida G. Olive oil in pharmacological and cosmetic traditions. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2019;18(5):1575–1579. DOI: 10.1111/jocd.12838.
13. Sheth A., Mitaliya K.D., Joshi S. The Herbs of Ayurveda. Leeds: Shet; 2005.
14. Тутельян В. А., Киселева Т. Л., Кочеткова А. А., Мазо В. К., Саркисян В. А., Глазкова И. В., Воробьева В. М., Сидорова Ю. В., Воробьева И. С., Зорин С. Н., Шепелин В. А., Киселева М. А., Смирнова Е. А., Бессонов В. В., Сокуренок М. С., Жилинская Н. В., Семин М. О. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия. М.: Библио-Глобус; 2016. 422 с. DOI: 10.18334/9785990909755.
15. Bertelli M., Kiani A. K., Paolacci S., Manara E., Kurti D., Dhuli K., Bushati V., Miertus J., Pangallo D., Baglivo M., Beccari T., Michelini S. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *Journal of Biotechnology*. 2020;309:29–33. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.12.016.
16. Persia F. A., Mariani M. L., Fogal T. H., Penissi A. B. Hydroxytyrosol and oleuropein of olive oil inhibit mast cell degranulation induced by immune and non-immune pathways. *Phytomedicine*. 2014;21(11):1400–1405. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.05.010.
17. Visioli F., Galli C., Bornet F., Mattei A., Patelli R., Galli G., Caruso D. Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Lett*. 2000;468(2–3):159–60. DOI: 10.1016/S0014-5793(00)01216-3.
18. Fernández-Bolaños J. G., López Ó., López-García M. Á., Marset A. In: *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. London: IntechOpen; 2012. 375–396 p. DOI: 10.5772/30743.
19. Şahin S., Elhussein E., Bilgin M., Lorenzo J. M., Barba F. J., Roohinejad S. Effect of drying method on oleuropein, total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity of olive (*Olea europaea*) leaf. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018;42(5):e13604. DOI: 10.1111/jfpp.13604.
20. Ahmad-Qasem M. H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Cárcel J. A., Garcia-Perez J. V. Influence of air temperature on drying kinetics and antioxidant potential of olive pomace. *Journal of Food Engineering*. 2013;119(3):516–524. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.06.027.
21. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 07.12.2020.
22. ОФС.1.2.1.0005.15. Растворимость. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-2-1-0005-15-rastvorimost>. Ссылка активна на 07.12.2020.
23. ОФС.1.1.0006.15. Фармацевтические субстанции. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/ofs-1-1-0006-15-farmatsevticheskie-subsstantzii/> Ссылка активна на 07.12.2020.
24. ОФС.1.5.3.0007.15. Определение влажности лекарственного растительного сырья. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-5-3-0007-15-opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya/> Ссылка активна на 07.12.2020.
25. ОФС.1.4.2.0016.15. Степень сыпучести порошков. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0016-15-stepen-syruchestiporoshkov/> Ссылка активна на 07.12.2020.
26. ОФС 1.4.1.0015.15 Таблетки. Доступно по: <http://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-1-0015-15-tabletki/> Ссылка активна на 07.12.2020.
27. ОФС.1.4.2.0013.15. Распадаемость таблеток и капсул. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0013-15-raspadaemost-tabletok-i-kapsul/> Ссылка активна на 07.12.2020.
28. ОФС.1.4.2.0011.15. Прочность таблеток на раздавливание. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0011-15-prochnost-tabletok-na-razdavlivanie/> Ссылка активна на 07.12.2020.
29. ОФС.1.4.2.0008.15. Однородность дозирования. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0008-15-odnorodnost-dozirovaniya/> Ссылка активна на 07.12.2020.
30. Рылина Е. В. Определение индикаторных фенольных соединений нефлавоноидной природы в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ. Дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2010. Доступно по: <http://www.dislib.ru/farmaceutika/332152-1-opredelenie-indikatornih-fenolnih-soedineniy-neflavonoidnoy-prirodi-lekarstvennom-pishevom-rastitelnom-syre-metodom-vezhh.php>. Ссылка активна на 07.12.2020.
31. Емшанова С. В. Методологические подходы к выбору вспомогательных веществ для получения таблетированных препаратов методом прямого прессования. *Химико-фармацевтический журнал*. 2008;42(2):38–43. DOI: 10.30906/0023-1134-2008-42-2-38-43.
32. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/902249109>. Ссылка активна на 07.12.2020.

## REFERENCES

1. Boscou D. Olive Oil. Chemistry and Technology. 2<sup>nd</sup> edition. Urbana: Academic Press and AOCS Press; 2006. 282 p.
2. Montealegre C., García M. C., del Río C., Marina M. L., García-Ruiz C. Separation of olive proteins by capillary gel electrophoresis. *Talanta*. 2012;97:420–424. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.04.055.
3. Imran M., Nadeem M., Gilani S. A., Khan S., Sajid M. W., Amir R. M. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. *Journal of Food Science*. 2018;83(7):1781–1791. DOI: 10.1111/1750-3841.14198.
4. Marković A. K., Torić J., Barbarić M., Brala C. J. Hydroxytyrosol, Tyrosol and Derivatives and Their Potential Effects on Human Health. *Molecules*. 2019;24(10):2001. DOI: 10.3390/molecules24102001.
5. Gorzynik-Debicka M., Przychodzen P., Cappello F., Kuban-Jankowska A., Gammazza A. M., Knap N., Wozniak M., Gorska-Ponikowska M. Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(3):686. DOI: 10.3390/ijms19030686.
6. Ahamad J., Uthirapathy S., Ameen M. S. M., Anwer E. T., Husain F. H. S., Mir S. R. Chemical Composition and In vitro Antidiabetic Effects of *Olea europaea* Linn. (*Olive*). *Current Bioactive Compounds*. 2020;16(8):1157–1163. DOI: 10.2174/1573407215666191210124636.
7. Wei J., Wang S., Pei D., Qu L., Li Y., Chen J., Di D., Gao K. Antibacterial Activity of Hydroxytyrosol Acetate from Olive Leaves (*Olea europaea* L.). *Natural Product Research*. 2018;32(16):1967–1970. DOI: 10.1080/14786419.2017.1356830.
8. Flemmig J., Kuchta K., Arnhold J., Rauwald H. W. *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*. 2011;18(7):561–566. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.10.021.
9. Diab M. A., Ibrahim A. K., Hadad G. Review article on chemical constituents and biological activity of *Olea europaea*. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2020;4(2):36–45. DOI: 10.21608/rpbs.2019.19541.1048.
10. Lawrendiadis G. Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. *Planta Medica*. 1961;9(2):164–169. DOI: 10.1055/s-0028-1100338.
11. Yokoi A., Kamata N. The usefulness of olive oil enema in children with severe chronic constipation. *Journal of Pediatric Surgery*. 2021. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2021.03.024.
12. Gorini I., Iorio S., Ciliberti R., Licata M., Armocida G. Olive oil in pharmacological and cosmetic traditions. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2019;18(5):1575–1579. DOI: 10.1111/jocd.12838.
13. Sheth A., Mitaliya K.D., Joshi S. The Herbs of Ayurveda. Leeds: Shet; 2005.
14. Tutel'yan V. A., Kiseleva T. L., Kochetkova A. A., Mazo V. K., Sarkisyan V. A., Glazkova I. V., Vorob'eva V. M., Sidorova Yu. V., Vorob'eva I. S., Zorin S. N., Shepelin V. A., Kiseleva M. A., Sмирнова Е. А., Bessonov V. V., Sokurenko M. S., Zhilinskaya N. V., Semin M. O. *Rastitel'nye istochniki fitonutrientov dlya spetsializirovannykh pishchevykh produktov antidiabeticheskogo deystviya* [Plant sources of phytonutrients for food antidiabetic action]. Moscow: Biblio-Globus; 2016. 421 p. (In Russ.) DOI: 10.18334/9785990909755.
15. Bertelli M., Kiani A. K., Paolacci S., Manara E., Kurti D., Dhuli K., Bushati V., Miertus J., Pangallo D., Baglivo M., Beccari T., Michelini S. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *Journal of Biotechnology*. 2020;309:29–33. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.12.016.
16. Persia F. A., Mariani M. L., Fogal T. H., Penissi A. B. Hydroxytyrosol and oleuropein of olive oil inhibit mast cell degranulation induced by immune and non-immune pathways. *Phytomedicine*. 2014;21(11):1400–1405. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.05.010.

17. Visioli F., Galli C., Bornet F., Mattei A., Patelli R., Galli G., Caruso D. Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Lett.* 2000;468(2-3):159-60. DOI: 10.1016/S0014-5793(00)01216-3.
18. Fernández-Bolaños J. G., López Ó., López-García M. Á., Marsset A. Biological Properties of Hydroxytyrosol and Its Derivatives. In: *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. London: IntechOpen; 2012. 375-396 p. DOI: 10.5772/30743.
19. Şahin S., Elhussein E., Bilgin M., Lorenzo J. M., Barba F. J., Roohinejad S. Effect of drying method on oleuropein, total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity of olive (*Olea europaea*) leaf. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018;42(5):e13604. DOI: 10.1111/jfpp.13604.
20. Ahmad-Qasem M. H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Cárcel J. A., Garcia-Perez J. V. Influence of air temperature on drying kinetics and antioxidant potential of olive pomace. *Journal of Food Engineering*. 2013;119(3):516-524. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.06.027.
21. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniya*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV Edition]. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
22. *OFS.1.2.1.0005.15. Rastvorimost'* [OFS.1.2.1.0005.15. Solubility]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-0005-15-rastvorimost>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
23. *OFS.1.1.0006.15. Farmatsevticheskie substansii* [OFS.1.1.0006.15. Pharmaceutical substances]. Available at: <https://pharmatsopoeia.ru/state-pharmacopoeia-ahiiionline-gf-13-online/ofs-1-1-0006-15-pharmatsevticheskie-substansii/> Accessed: 12.07.2020. (In Russ.)
24. *OFS.1.5.3.0007.15. Opredelenie vlazhnosti lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya* [OFS.1.5.3.0007.15. Determination of the moisture content of medicinal plant materials]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-5-3-0007-15-opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syr'ya/> Accessed: 12.07.2020. (In Russ.)
25. *OFS.1.4.2.0016.15. Stepen' sypuchesti poroshkov* [OFS.1.4.2.0016.15. The degree of flowability of powders]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0016-15-stepen-sypuchesti-poroshkov/> Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
26. *OFS 1.4.1.0015.15. Tabletki* [OFS 1.4.1.0015.15. Tablets]. Available at: <http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-1-0015-15-tabletki/> Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
27. *OFS.1.4.2.0013.15. Raspadaemost' tabletok i kapsul* [OFS.1.4.2.0013.15. Disintegration of tablets and capsules]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0013-15-raspadaemost-tabletok-i-kapsul/> Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
28. *OFS.1.4.2.0011.15. Prochnost' tabletok na razdavlivanie* [OFS.1.4.2.0011.15. Crushing strength of tablets]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0011-15-prochnost-tabletok-na-razdavlivanie/> Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
29. *OFS.1.4.2.0008.15. Odnorodnost' dozirovaniya* [OFS.1.4.2.0008.15. Dosing uniformity]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0008-15-odnorodnost-dozirovaniya/> Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
30. Rylina E. V. *Opredelenie indikatornykh fenol'nykh soedineniy neflavonoidnoy prirody v lekarstvennom i pishchevom rastitel'nom syr'e metodom VEZhKh* [Determination of indicator phenolic compounds of non-flavonoid nature in medicinal and edible plant materials by HPLC] [dissertation]. Moscow; 2010. Available at: <http://www.dislib.ru/farmaceutika/332152-1-opredelenie-indikatornih-fenolnih-soedineniy-neflavonoidnoy-prirodi-lekarstvennom-pischevom-rastitelnom-sire-metodom-vezhh.php>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
31. Emshanova S. V. Methodological approaches to selecting auxiliary substances for the production of tabletized pharmaceutical preparations by direct pressing method. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2008;42(2):38-43. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2008-42-2-38-43.
32. *Edinye sanitarno-epidemiologicheskie i gigienicheskie trebovaniya k produkcii (tovaram), podlezhashchim sanitarno-epidemiologicheskomu nadzoru (kontrolyu)* [Uniform sanitary and epidemiological and hygienic requirements for products (goods) subject to sanitary and epidemiological supervision (control)]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/902249109>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)

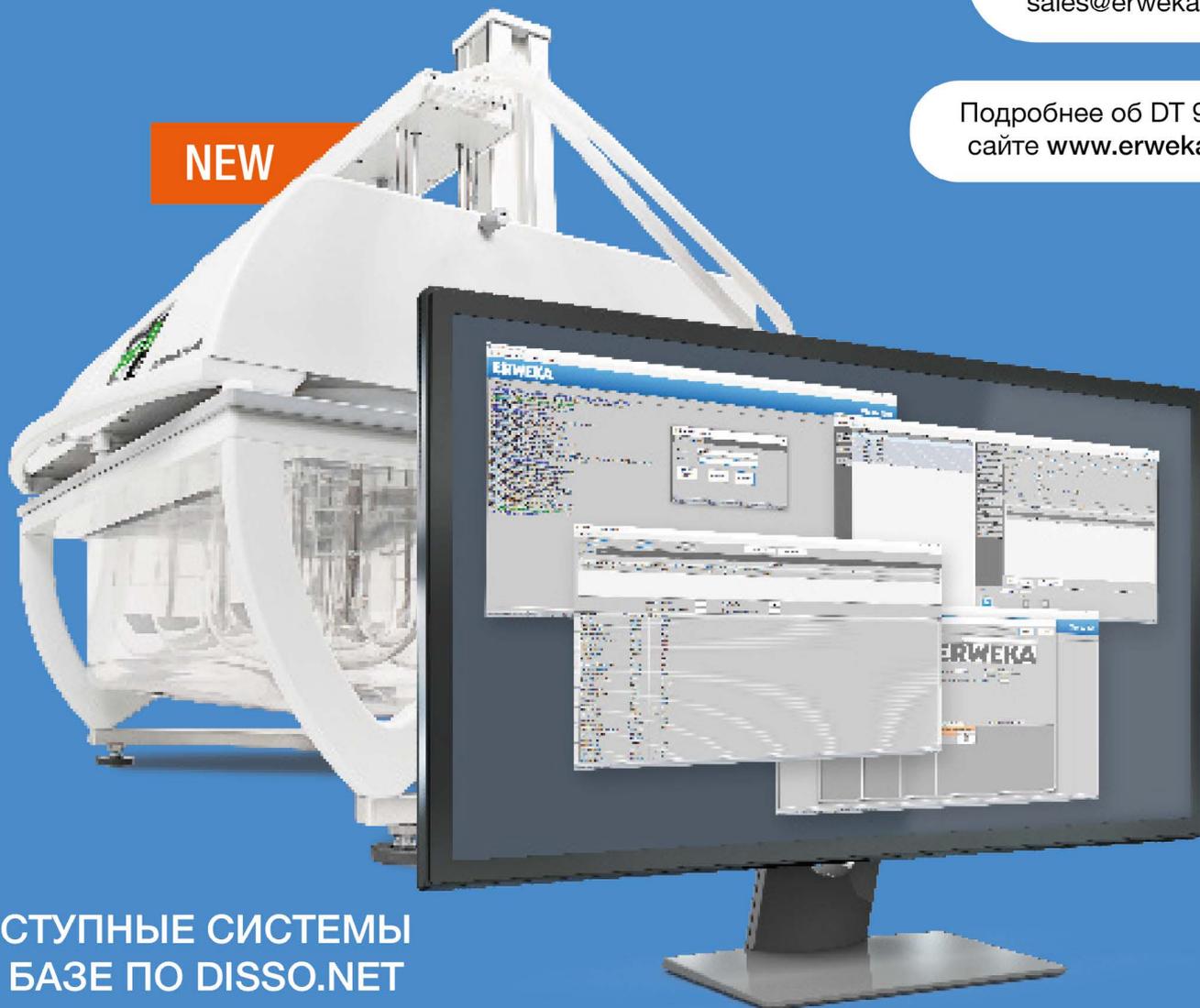
# Новые системы растворения

на базе DT 950 и ПО Disso.NET

Демонстрация  
по запросу на  
[sales@erweka.ru](mailto:sales@erweka.ru)

Подробнее об DT 950 на  
сайте [www.erweka.ru](http://www.erweka.ru)

NEW



## ДОСТУПНЫЕ СИСТЕМЫ НА БАЗЕ ПО DISSO.NET

- Офлайн система
- Онлайн система
- Он/офлайн система с UV-Vis
- Он/офлайн система с HPLC



Аналитические  
методы

100%

Соответствие  
USP/EP/ГФ РФ



Полный контроль  
ПО Disso.NET

ООО „ЭРВЕКА“

115114 Москва  
Летниковская 16-103

E-Mail: [sales@erweka.ru](mailto:sales@erweka.ru)  
Тел.: +7 499 110 90 60

# ERWEKA

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-55-69>  
УДК 615.014:615.214.22:615.453.6:616-002.5



Оригинальная статья / Research article

## Разработка гастроретентивной лекарственной формы нового перспективного противотуберкулезного лекарственного средства макозинов

В. Г. Нестеренко<sup>1</sup>, Р. Н. Болгарин<sup>2</sup>, Б. А. Рудой<sup>2\*</sup>, Д. Х. Салахетдинов<sup>3</sup>,  
Ю. Г. Казаишвили<sup>2</sup>, В. С. Щербакова<sup>2</sup>, Н. А. Никитина<sup>2</sup>, Ю. В. Медведев<sup>4,5</sup>, Е. Н. Фишер<sup>4,5</sup>,  
Е. А. Малашенко<sup>5</sup>, И. Е. Шохин<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России), 123098, Россия, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

<sup>2</sup> ООО «НИАРМЕДИК ФАРМА», 125252, Россия, г. Москва, ул. Авиаконструктора Микояна, д. 12

<sup>3</sup> ООО «НоваМедика ИнноТех», 109316, Россия, г. Москва, Волгоградский пр-т, д. 42, к. 5, пом/ком 1/606

<sup>4</sup> ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»), 117246, Россия, г. Москва, Научный пр., д. 20, стр. 3

<sup>5</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

\* Контактное лицо: Рудой Борис Анатольевич. E-mail: Boris.Rudoy@nearmedic.ru

ORCID: В. Г. Нестеренко – <https://orcid.org/0000-0001-5623-2466>; Р. Н. Болгарин – <https://orcid.org/0000-0001-8679-4857>; Б. А. Рудой – <https://orcid.org/0000-0003-4421-1777>; Д. Х. Салахетдинов – <https://orcid.org/0000-0001-5451-0039>; Ю. Г. Казаишвили – <https://orcid.org/0000-0003-0826-4177>;

В. С. Щербакова – <https://orcid.org/0000-0002-7251-8744>; Н. А. Никитина – <https://orcid.org/0000-0002-0444-5934>; Ю. В. Медведев – <https://orcid.org/0000-0001-6720-4954>; Е. Н. Фишер – <https://orcid.org/0000-0002-6456-7669>; Е. А. Малашенко – <https://orcid.org/0000-0002-4183-7822>; И. Е. Шохин – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Статья поступила: 26.05.2020

Статья принята в печать: 29.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В связи с увеличением частоты выявления случаев туберкулеза, вызванных штаммами микобактерий, устойчивых не только к традиционным, но и недавно введенными в клинический оборот противотуберкулезным средствам актуальной является задача поиска и разработки новых лекарственных средств, способных эффективно подавлять мультирезистентные МЛУ и ШЛУ – штаммы *M. tuberculosis*. Одним из наиболее перспективных классов такого рода соединений являются трифтор-производные бензотиазионов, и, в частности, соединение PBTZ169 (МНН макозинов). Однако макозинов обладает существенными особенностями физико-химических свойств, которые затрудняют разработку на его основе лекарственных форм для перорального применения. Он относится к классу IV по BCS и характеризуется низкой растворимостью, низкой липофильностью, выраженной зависимостью растворения от pH среды, очень низкой биодоступностью при приеме внутрь.

**Цель.** Обосновать целевой профиль, критические показатели качества и разработать прототип пероральной лекарственной формы с модифицированным высвобождением макозинона, позволяющей в максимальной степени реализовать его фармакологическую активность.

**Материалы и методы.** На основе фармацевтической субстанции макозинона гидрохлорида и различных вспомогательных веществ нарабатывали экспериментальные таблетки с дозировкой макозинона 500 мг. Оценивали влияние состава сред и добавляемых вспомогательных веществ на растворимость макозинона в различных биорелевантных средах, степень набухания в жидкости и степень мукоадгезии экспериментальных таблеток к слизистой желудка свиньи. Для оценки кинетики высвобождения активного вещества использовали метод ВЭЖХ.

**Результаты и обсуждение.** С учетом особенностей свойств макозинона обоснована целесообразность создания его гастроретентивных лекарственных форм с замедленным высвобождением активного вещества, механизм задержки которых в верхних отделах желудочно-кишечного тракта обеспечивается за счет набухания таблеток и повышенной адгезии к слизистой желудка. Экспериментально испытаны различные образцы таблеток, в которых модификация высвобождения активного вещества и степень набухания и мукоадгезии варьировали за счет введения в состав формуляций различных вспомогательных веществ, в том числе известных набухающих и биоадгезивных матричных агентов.

**Заключение.** Наиболее перспективными для последующих фармакокинетических исследований признаны образцы высокодозированных (500 мг) набухающих и мукоадгезивных таблеток, созданных по технологии двухстадийной грануляции с включением в состав первичных гранул смеси макозинона и гидроксипропил-бета-циклодекстрина и последующим внесением в межгранульное пространство комбинаций растворимого и нерастворимого гидрофильных набухающих и мукоадгезивных матричных агентов (ГПМЦ, ГЭЦ, ПЭО).

**Ключевые слова:** туберкулез, макозинов, гастроретентивная таблетка, модифицированное высвобождение, мукоадгезия, циклодекстрин

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** В. Г. Нестеренко, Б. А. Рудой, Р. Н. Болгарин, Н. А. Никитина обосновали актуальность работы. Б. А. Рудой осуществлял научное руководство исследованием. Д. Х. Салахетдинов разрабатывал составы и нарабатывал экспериментальные таблетки. Ю. Г. Казаишвили, В. С. Щербакова проводили исследования свойств таблеток. И. Е. Шохин, Ю. В. Медведев, Е. Н. Фишер, Е. А. Малашенко исследовали растворение образцов. Б. А. Рудой, Д. Х. Салахетдинов, Ю. Г. Казаишвили подготовили текст статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Для цитирования:** Нестеренко В. Г., Болгарин Р. Н., Рудой Б. А., Салахетдинов Д. Х., Казаишвили Ю. Г., Щербакова В. С., Никитина Н. А., Медведев Ю. В., Фишер Е. Н., Малашенко Е. А., Шохин И. Е. Разработка гастроретентивной лекарственной формы нового перспективно-го противотуберкулезного лекарственного средства макозинов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):55–69. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-55-69>

© Нестеренко В. Г., Болгарин Р. Н., Рудой Б. А., Салахетдинов Д. Х., Казаишвили Ю. Г., Щербакова В. С., Никитина Н. А., Медведев Ю. В., Фишер Е. Н., Малашенко Е. А., Шохин И. Е., 2021

© Nesterenko V. G., Bolgarin R. N., Rudoy B. A., Salakhedinov D. K., Kazaiashvili Yu. G., Scherbakova V. S., Nikitina N. A., Medvedev Yu. V., Fisher E. N., Malashenko E. A., Shohin I. E., 2021

## Development of a Gastro-retentive Dosage Form of a New Promising Anti-tuberculosis Drug Macozinone

Vladimir G. Nesterenko<sup>1</sup>, Roman N. Bolgarin<sup>2</sup>, Boris A. Rudoy<sup>2\*</sup>, Damir K. Salakhmetdinov<sup>3</sup>, Yuri G. Kazaishvili<sup>2</sup>, Victoria S. Scherbakova<sup>2</sup>, Natalia A. Nikitina<sup>2</sup>, Yuri V. Medvedev<sup>4,5</sup>, Elizaveta N. Fisher<sup>4,5</sup>, Evgeniya A. Malashenko<sup>5</sup>, Igor E. Shohin<sup>4</sup>

<sup>1</sup> N. F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology & Microbiology, 18, Gamalei str., Moscow, 123098, Russia

<sup>2</sup> LLC "NEARMEDIC PHARMA", 12, Aviakonstruktora Mikoyana str., Moscow, 125252, Russia

<sup>3</sup> LLC "NovaMedica Innotech", room 1/606, building 5, building 5, 42, Volgogradskiy prospect, Moscow, 109316, Russia

<sup>4</sup> LLC "CPHA", 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia

<sup>5</sup> I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

\*Corresponding author: Boris A. Rudoy. E-mail: Boris.Rudoy@nearmedic.ru

ORCID: Vladimir G. Nesterenko – <https://orcid.org/0000-0001-5623-2466>; Roman N. Bolgarin – <https://orcid.org/0000-0001-8679-4857>; Boris A. Rudoy – <https://orcid.org/0000-0003-4421-1777>;

Damir K. Salakhmetdinov – <https://orcid.org/0000-0001-5451-0039>; Yuri G. Kazaishvili – <https://orcid.org/0000-0003-0826-4177>;

Victoria S. Scherbakova – <https://orcid.org/0000-0002-7251-8744>; Natalia A. Nikitina – <https://orcid.org/0000-0002-0444-5934>;

Yuri V. Medvedev – <https://orcid.org/0000-0001-6720-4954>; Elizaveta N. Fisher – <https://orcid.org/0000-0002-6456-7669>;

Evgeniya A. Malashenko – <https://orcid.org/0000-0002-4183-7822>; Igor E. Shohin – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Received: 26.05.2020 Revised: 29.06.2021 Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Due to increase in the frequency of detecting cases of tuberculosis caused by strains of mycobacteria with resistance not only to traditional, but also recently introduced into clinical circulation anti-tuberculosis drugs, it is urgent to search for and develop new drugs that can be effective against multidrug-resistant (MDR-TB) and extensively drug resistant (XDR-TB) strains. One of the most promising classes of such compounds are fluorine derivatives of benzothiazinones, and particularly compound PBTZ169 (INN macozinone). This antibiotic has a high specificity against mycobacteria tuberculosis (*M. tuberculosis*), inhibiting one of the key enzymes of cell wall synthesis. However, macozinone as an active pharmaceutical ingredient has significant features of physical and chemical properties that hinder the development of oral dosage forms based on it. It is classified as class IV by BCS and is characterized by a very low solubility and lipophilicity, a pronounced dependence of dissolution rate on the pH of the medium, and very low bioavailability when taken orally.

**Aim.** To substantiate the target profile, critical quality attributes and to develop a prototype of an oral dosage form with modified release of macozinone, allowing to maximize its pharmacological activity.

**Materials and methods.** Using pharmaceutical substance macozinone hydrochloride and various excipients, experimental tablets with a dosage of 500 mg macozinone were developed. The influence of the composition of the media and the added excipients on the solubility of macozinone in various biorelevant media, the degree of swelling in the liquid and the degree of mucoadhesion of the experimental tablets to the mucus of the pig stomach were evaluated. The HPLC method was used to evaluate the kinetics of the release of the active substance.

**Results and discussion.** In this work, the expediency of creating macozinone-containing gastro-retentive dosage forms with a slow release of the active substance, the delay mechanism of which is provided by swelling and increased adhesion to the gastric mucosa, has been substantiated. Various tablet samples were experimentally tested in which the modification of the release of the active substance and the degree of swelling and mucoadhesion were varied by introducing various excipients into the formulations, including known swelling and bioadhesive matrix agents.

**Conclusion.** According to the results of the experiments, samples of high-dose (500 mg) swellable and mucoadhesive tablets created by the technology of two-stage granulation with the inclusion of macozinone – hydroxypropyl-beta-cyclodextrin mixtures in the primary granules and introduction of combinations of soluble and insoluble hydrophilic matrix agents into the intergranular space were recognized as the most promising for subsequent pharmacokinetic studies.

**Keywords:** tuberculosis, macozinone, gastro-retentive tablet, modified release, mucoadhesion, cyclodextrin

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Vladimir G. Nesterenko, Boris A. Rudoy, Roman N. Bolgarin, Natalia A. Nikitina substantiated the actuality of the work. Boris A. Rudoy carried out scientific management of the entire research. Damir K. Salakhmetdinov developed the compositions and produced experimental tablets. Yuri G. Kazaishvili, Victoria S. Scherbakova conducted research on the properties of tablets. Igor E. Shohin, Yuri V. Medvedev, Elizaveta N. Fisher, Evgeniya A. Malashenko investigated the dissolution of samples. Boris A. Rudoy, Damir K. Salakhmetdinov, Yuri G. Kazaishvili prepared the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

**For citation:** Nesterenko V. G., Bolgarin R. N., Rudoy B. A., Salakhmetdinov D. K., Kazaishvili Yu. G., Scherbakova V. S., Nikitina N. A., Medvedev Yu. V., Fisher E. N., Malashenko E. A., Shohin I. E. Development of a gastro-retentive dosage form of a new promising anti-tuberculosis drug macozinone. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):55–69. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-55-69>

### АББРЕВИАТУРА

КИ – клиническое исследование; МЛУ – множественная лекарственная устойчивость; ШЛУ – широкая лекарственная устойчивость; ГПМЦ – гидроксипропилцеллюлоза; ГПЦД – гидроксипропил-бета-циклодекстрин; ГЭЦ – гидроксипропилцеллюлоза; ПЭО – полиэтиленоксид; МКЦ – микрокристаллическая целлюлоза; ПАВ – поверхностно-активные вещества; ЦД – циклодекстрин.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема повышения эффективности лечения туберкулеза и других микобактериозов приобрела особую актуальность в связи с увеличением распространенности резистентности штаммов возбудителя к известным лекарственным препаратам. По данным ВОЗ в 2019 году зарегистрировано около полумиллиона новых случаев с ри-

фампицин-резистентной формой туберкулеза, 78 % из которых имели множественную лекарственную устойчивость (МЛУ). При этом РФ входит в число трех стран (наряду с Индией и Китаем) с наибольшим распространением устойчивых к антибиотикам форм туберкулезной инфекции [1, 2]. В последние годы в разных регионах мира обнаруживается все больше случаев туберкулеза, вызванного штаммами микобактерий, приобретшими устойчивость к недавно введенным в клиническую практику препаратам – беквамину и деламаниду [3–6]. В связи с этим поиск противотуберкулезных препаратов с новыми механизмами действия является актуальной и приоритетной задачей в области создания эффективных антибиотиков [7–9].

К настоящему времени научными исследованиями на доклиническом и клиническом уровне показано, что для лечения туберкулеза перспективным является новый класс химических соединений – 2-аминозамещенные-1,3-бензотиазин-4-оны. Соединения данного класса имеют уникальный и специфичный для микобактерий механизм ингибирования роста и размножения микроорганизма – подавление активности фермента декапренил-фосфорибоза-2'-эпимеразы 15 (DprE1), необходимой для синтеза компонента клеточной стенки микобактерий. Представитель этого класса – 2-[4-(цикло-5-гексилметил)пиперазин-1-ил]-8-нитро-6-(трифторметил)-4Н-1,3-бензотиазин-4-он (PBTZ169, МНН макозинон) [10, 11] – является одним из наиболее изученных кандидатов для разработки противотуберкулезного лекарственного средства с широким спектром действия [12–15]. Поэтому актуальной является задача разработки эффективной лекарственной формы этого соединения.

Известно, что противотуберкулезные препараты первого и второго ряда в настоящее время представляют собой исключительно пероральные твердые формы (таблетки, капсулы) [2, 16].

В то же время макозинон как химическое соединение обладает существенными особенностями, которые затрудняют разработку на его основе эффективного лекарственного препарата для приема внутрь. Он практически не растворим в воде и одновременно характеризуется низкой липофильностью. Макозинон является слабым основанием ( $pK_a = 5,9$ ) с выраженной зависимостью растворимости от значений pH: имеет исходно очень низкую растворимость в воде при pH 1-2, которая резко снижается при снижении кислотности, при pH > 5 вещество теряет растворимость в воде и кристаллизуется, что препятствует его транспорту через слизистую кишечника.

По результатам испытания *in vitro* (в системе клеток Caco-2) макозинон отнесен к лекарственным с низкой проницаемостью [17, 18]. Низкая системная биодоступность макозинона (по разным оценкам от 1 до 8 %), отмеченная при проведении доклинических и клинических исследований с использованием пероральных лекарственных форм с немедленным высвобождением активного вещества (капсулы или суспензии) явилось причиной того, что ведение максимальных дозировок препарата (вплоть

до 640–1280 мг) не обеспечивали надежного достижения целевого уровня эффективной терапевтической концентрации макозинона в плазме крови [18, 19].

С учетом этих данных макозинон отнесен к фармакологически активным веществам IV класса по общепринятой классификации VCS (плохо растворимые, мало проникающие).

**Целью работы** явилось обоснование целевого профиля, критических показателей качества и разработка прототипа пероральной лекарственной формы с модифицированным высвобождением макозинона, позволяющей в максимальной степени реализовать его фармакологическую активность.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

Фармацевтическая субстанция макозинона гидрохлорида серия 030918 (производства ООО «БИОН», Россия).

Стандартный образец (PCO) макозинона гидрохлорида серия 300-51 (ООО «БИОН», Россия).

Образцы сравнения при испытании мукоадгезивной способности – «Gralise» (габапентин) набухающие таблетки, 600 мг (Almatica Pharma, США); «Фромилит» УНО (кларитромицин) таблетки, покрытые оболочкой, 400 мг (KRKA, Словения).

**Вспомогательные вещества:** МКЦ (МСС) – (микрористаллическая целлюлоза) тип 101 (JRS Pharma, Германия); ГПБЦД (HPBCD) – (2-гидроксипропил-β-циклодекстрин, гидроксипропилбетадекс) (Roquette, Франция); ГПМЦ (HPMC) – (гидроксипропилметилцеллюлоза) гипромеллоза K100M тип 2208 (Colorcon / DOW, США); ГЭЦ (HEC) – (гидроксиэтилцеллюлоза) гиэтеллоза 250 ННХ (Ashland, США); карбопол 71G, 974P (Lubrizol, США / BASF, Германия); КМЦ (СМС) – кармеллоза натрия СМС 7 HF PF (Ashland, США); кремния диоксид коллоидный (Аэросил® 200) (Wacker, Германия); кроскармеллоза (JRS Pharma, Германия); кросповидон XL-10 (Ashland, США); магния стеарат ST-v (Nitika, Индия); ПЭГ (PEG) – макрогол 6000, 8000 (Croda, Великобритания); натрия стеарил-фумарат (JRS Pharma, Германия); повидон К25, К30, К90 (BASF, Германия); полисорбат-80 (Croda, Великобритания); ПЭО (PEO) – полиэтиленоксид WSR 303 (Colorcon / DOW, США).

Готовые сухие смеси для приготовления биорелевантных сред FaSSIF / FeSSIF / FaSSGF (Biorelevant.com, Великобритания).

### Оборудование

- анализатор влажности AND MX-50 (A&D, Япония);
- анализатор текстуры (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Великобритания);
- весы лабораторные Vibra HT-224RCE (Vibra, Япония);
- вибросито CISA RP 200N (CISA, Испания);
- миксер-гранулятор лабораторный с верхнеприводной мешалкой, перемешивающее устройство EUROSTAR 20 high sped digital (IKA, Германия);

- система ВЭЖХ Agilent 1100 (Agilent Technologies, США);
- таблетпресс Futorque X-1 (NORTEC Industrial Solutions, Польша);
- тестер истираемости ERWEKA TAR 220 (ERWEKA GmbH, Германия);
- тестер прочности ERWEKA TBH 425 TD (ERWEKA GmbH, Германия);
- тестер растворения RC-6D (SaintyCo Group, Китай);
- шкаф сушильный Memmert UF110 (Mettler, Германия).

## Методы исследования

**Оценка совместимости вспомогательных веществ с активным действующим веществом.** Для оценки пригодности вспомогательных веществ для использования в составе разрабатываемых таблеток смеси равных количеств фармсубстанции с каждым из выбранных вспомогательных веществ помещали в стеклянные пробирки, которые хранили в контролируемых условиях (климатическая камера) при температуре 70 °С и относительной влажности 80 %. В исходных смесях и образцах, хранившихся в течение 7 и 14 суток, методом ВЭЖХ контролировали подлинность (сохранение формы и размера пика макозина), количественное содержание активного вещества и наличие примесей. Кроме того, возможные изменения физических параметров порошков смесей контролировали визуально, оценивая цвет и сохранение однородности (отсутствие видимых агрегатов).

**Получение порошков гранулятов с включением циклодекстрина.** Сухие смеси веществ готовили путем интенсивного перемешивания в лабораторном миксере в течение 5 минут сухих порошков фармацевтической субстанции и гидроксипропил-бета-циклодекстрина в мольных соотношениях 1:0,5 (6,54 г макозина в пересчете на основание + 10 г ГПЦД); 1:1 (3,26 г макозина + 10 г ГПЦД); 1:2 (1,63 г макозина + 10 г ГПЦД).

С использованием приготовленных смесей готовили гранулированные порошки методом влажной грануляции с добавлением небольшого объема (соотношение смесь:увлажнитель – 2,5:1) воды очищенной и грануляцией в условиях высокого усилия сдвига. Полученные грануляты высушивали в сушильном шкафу при температуре 50–55 °С до остаточной влажности 1–2 %.

**Изготовление экспериментальных таблеток с модифицированным высвобождением макозина.** Для достижения основных целевых параметров качества (способности к набуханию и мукоадгезии) и регулирования степени и кинетики высвобождения активного вещества из таблеток в состав экспериментальных таблеток включали известные вспомогательные вещества, образующие гидрофильные матрицы и одновременно обладающие мукоадгезивными свойствами. При этом для изготовления экспериментальных таблеток использовали три технологических подхода, различающиеся по принципам включения матричных компонентов в состав таблеток.

**Вариант 1.** Для получения таблеток, в которых матричные агенты включены непосредственно в состав гранул, осуществляли интенсивное механическое смешивание сухих порошков фармсубстанции и вспомогательных веществ с последующим добавлением увлажнителя и получения гранул с использованием миксера-гранулятора. Перемешивали в течение 2 минут до образования мелкого рассыпчатого гранулята (контроль визуальный).

Учитывая очень низкую растворимость макозина в воде и неудовлетворительные технологические характеристики субстанции макозина гидрохлорида (крайне низкую сыпучесть, плохую смачиваемость, повышенную коагезию частиц) в отдельных вариантах этой технологии в состав увлажняющей жидкости вносили, соответственно, изопропиловый спирт (состав F1, увлажнитель – 7%-й раствор повидона К-30 в изопропанол) или этанол (состав F3, увлажняющая смесь вода:этиловый спирт в соотношении 30:70 с введением ½ количества повидона К-90 и полисорбат-80).

Гранулят высушивали в сушильном шкафу до остаточной влажности не выше 3 % и калибровали через сито с размером ячеек 0,710 мм.

Для приготовления таблетсмеси в смеситель вносили прокальброванный гранулят, гранулы опудривали лубрикантом (магния стеарат или натрия стеарилфумарат), перемешивая до однородного состояния в течение 5 минут (контроль визуальный).

**Вариант 2.** В варианте технологии, при котором матричные агенты включали как в состав гранул, так и в межгранульное пространство, гранулы готовили, как в случае варианта 1, а добавляемые поверх гранул матричные агенты вводили в смесь в виде сухих порошков, перемешивая 4–5 минут с последующим опудриванием гранул лубрикантом.

**Вариант 3.** В этом варианте технологии был применен прием отдельного приготовления компонентов таблетсмеси. В этом случае вначале нарабатывали «первичные» гранулы на основе макозина гидрохлорида с добавлением гидроксипропил-бета-циклодекстрина путем кратковременного (не более 1 минуты) интенсивного перемешивания сухих порошков с последующим этапом влажной грануляции в воде очищенной (соотношение смесь:увлажнитель – 2,5:1). Гранулы высушивали в сушильном шкафу до остаточной влажности не более 2 % и калибровали через сито с размером ячеек 0,5 мм. На втором этапе осуществляли получение «вторичных» гранул, перемешивая в грануляторе сухие порошки «первичных» гранул с другими выбранными для конкретного состава вспомогательными веществами, с последующим внесением в систему раствора увлажнителя (водный раствор полисорбата-80) и кратковременным (не более 2–3 минут) перемешиванием до образования мелкого рассыпчатого гранулята. «Вторичный» гранулят высушивали до остаточной влажности не выше 2 % и калибровали через сито с размером ячеек 0,71 мм. На этапе приготовления таблетсмеси приготовленные «вторичные» гранулы опудривали лубрикантом.

Испытанные экспериментальные составы таблеток приведены в таблице 2.

Для получения таблеток использовали лабораторный ротационный таблетпресс с матрицей размером 20 × 10 мм, позволяющий получать капсуловидные таблетки («облонг») заданного размера. Усилие прессования регулировали для обеспечения заданной прочности таблеток на разлом (в диапазоне от 180 до 220 Н).

Изготовленные таблетки контролировали также по параметрам: геометрические размеры, масса, прочность на излом в соответствии с ГФ XIV.

Набухающую способность таблеток оценивали по изменению геометрических размеров (рисунок 1), а также по изменению их массы после помещения в корзинки (аппарата USP I), которые были погружены в среду 0,01 н HCl с температурой 37,0 ± 0,5 °С.

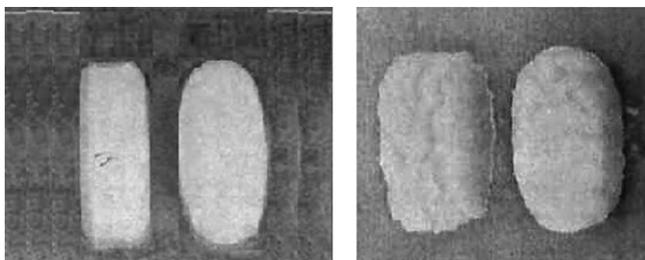


Рисунок 1. Эффект набухания и частичной эрозии таблетки

Figure 1. Swelling and partial erosion of the tablets

Индекс набухания ( $SI$ ) рассчитывали по формуле

$$SI = \left( \frac{W_h - W_i}{W_i} \right) \cdot 100,$$

где  $W_h$  – масса таблетки после набухания в среде (0,01 н HCl);  $W_i$  – исходная масса таблетки.

При оценке совместимости фармацевтических ингредиентов, степени растворения и степени высвобождения активного вещества для количественного определения макозинона в растворах использовали валидированную методику ВЭЖХ с использованием РСО макозинона гидрохлорида. При этом отобранные из сосудов со средами растворения аликвоты разводили метанолом до расчетных конечных концентраций, обрабатывали ультразвуком и фильтровали через тефлоновый мембранный фильтр 0,22 мкм.

#### Условия испытания:

- Оборудование для ВЭЖХ – Agilent 1100 (Agilent Technologies, США).
- Колонка YMC-Triat C18 250 × 4,6 мм; 5 μm.
- Подвижная фаза: буферный раствор pH 4,0 – ацетонитрил (30:70).
- Скорость потока: 1 мл/мин.
- Температура колонки: 25 °С.
- Детектор: УФ 254 нм.
- Объем инъекции: 10 мкл.

- Время хроматографирования: 30 мин.
- Типичное время удерживания макозинона: около 14–16 мин.

Оценку степени растворения фармсубстанции, смесей и гранулятов смесей макозинона гидрохлорида и ЦД осуществляли в условиях:

- Аппарат: магнитная мешалка.
- Скорость вращения: 150 об/мин.
- Время перемешивания: 60 минут.
- Объем среды: 250 мл.
- Температура среды: 37 ± 0,5 °С.
- Среда растворения: 0,01 н. HCl с добавлением 0,001 % бензетония хлорида; ацетатный буферный раствор (pH 5,0); среда FaSSiF (pH 5,0); среда FeSSiF (pH 6,5).

Имитирующие состояние среды желудочно-кишечного тракта «натощак» (FaSSiF) и «после еды» (FeSSiF) растворы готовили из коммерчески поставляемых концентратов в соответствии с инструкцией изготовителя (значение pH среды FaSSiF доводили с помощью кислоты хлористоводородной до 5,0, что в большей степени соответствует кислотности содержимого верхних отделов 12-перстной кишки).

Оценку степени высвобождения активного вещества при испытании таблеток с модифицированным высвобождением осуществляли в условиях:

- Тестер растворения: аппарат типа II «лопастная мешалка».
- Скорость вращения: 50 об/мин.
- Объем среды: 500 мл.
- Температура среды: 37 ± 0,5 °С.
- Среда растворения: 0,01 М HCl с добавлением 0,001 М бензетония хлорида.

Пробы объемом 300 мл отбирали через 1, 2, 3, 4, 6 ч, после отбора объем жидкости в сосудах восполняли эквивалентным количеством среды. Пробы фильтровали через мембранный фильтр, хранили при комнатной температуре в защищенном от света месте не более 8 часов. Концентрацию макозинона в отобранных пробах определяли методом ВЭЖХ.

В каждой временной точке количество высвободившегося из таблетки макозинона ( $M_i$ ) и кумулятивное его накопление ( $\omega_i$ ) в % от содержания в таблетке рассчитывали по формулам:

$$M_i = 500C_i + 300 \sum_{j=1}^{j=i-1} C_j,$$

$$\omega_i = M_i/D,$$

где  $i$  – точка (время) отбора пробы (= 1, 2, 3...6 час); 300 – объем отобранной пробы;  $C_i$  – концентрация макозинона (мг/л) в отобранной пробе (по результатам количественного определения методом ВЭЖХ контроля);  $D$  – содержание макозинона в таблетке (мг) (= 500).

В экспериментах по оценке мукоадгезивной способности таблеток использовали свежие (не позднее 24 ч после извлечения, заморозка не допуска-

лась) промытые физраствором свиные желудки (ООО «Агроферма», Россия).

Испытание степени мукоадгезии образцов таблеток к слизистой оболочке свиного желудка проводили с использованием анализатора текстуры (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Великобритания) с датчиком нагрузки 50 Н [20]. Лоскут слизистой пилорического отдела размером 25 × 25 мм отделяли от мышечного слоя желудка, фиксировали на предметном стекле с помощью цианакрилатного клея. Таблетку исследуемого препарата (образца) прикрепляли к цилиндрическому зонду с помощью двусторонней липкой ленты. После смачивания слизистой физраствором зонд с тензодатчиком и закрепленной таблеткой опускался до момента контакта со слизистой со скоростью 0,5 мм/с, прижатие таблетки к слизистой осуществляли грузом массой 100 г в течение 300 с, а затем зонд поднимался в исходное положение со скоростью 0,5 мм/с. Показания прибора, регистрируемые в автоматическом режиме, использовали для построения кривых «напряжения – деформация» с использованием ПО прибора. При этом рассчитывались параметры силы (в Н), напряжения отрыва и работы разрыва адгезивного слоя ( $W_{адг.}$ ).

Дополнительно оценку мукоадгезивных свойств таблеток оценивали методом смыва (wash-off) (см., например, [21]) с использованием стандартного тестера растворения II типа (лопастная мешалка). Фрагменты слизистой оболочки размером 25 × 25 мм приклеивали к прямоугольным металлическим пластинам цианакрилатным клеем. На слегка увлажненную физраствором слизистую помещали таблетку и прижимал с усилием 0,01 Н в течение 300 с. Пластины с прикрепленным исследуемым образцом с помощью зажимов фиксировали к лопастям мешалки, погружали в среду испытания (750 мл 0,1 н соляной кислоты,  $37 \pm 0,5$  °С) и при скорости вращения мешалки 25 об/мин контролировали момент отрыва таблетки от слизистой (рисунок 2).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Обоснование целевого профиля качества препарата

В связи с отмеченными особенностями свойств макозинона перспективной его лекарственной формой для обеспечения необходимого терапевтического эффекта представляется форма с достаточно высокой дозировкой, обеспечивающая замедленное во времени высвобождение активного вещества преимущественно в верхних отделах желудочно-кишечного тракта (желудок, верхний отдел тонкого кишечника). В наибольшей степени этим требованиям отвечает гастроретентивная (задерживающаяся в желудке) лекарственная форма высокодозированной таблетки [22, 23].

При разработке требований к составу лекарственной формы целесообразным являлось испытание в рамках фармацевтической разработки тех или



Рисунок 2. Контроль набухания и степени мукоадгезии таблеток методом гидродинамического смыва (wash-off)

Figure 2. Control of swelling rate and duration of mucoadhesion of the tablets in dissolution type II apparatus

иных способов повышения показателей растворимости фармацевтической субстанции. Поэтому как для включения в состав сред для испытаний растворимости, так и для включения в состав формуляций следовало испытать некоторые известные солибилизаторы и смачивающие агенты (ПАВ, спирты, Твин, ПЭГ, циклодекстрины).

Необходимо было также предусмотреть возможность замедления процесса высвобождения активного вещества из высокодозированной формы во избежание достижения пределов его растворимости и кристаллизации в ограниченном объеме среды. При этом с учетом выявленных особенностей фармакокинетики макозинона у человека, характеризующейся короткими периодами достижения максимальной концентрации в плазме крови ( $T_{max} = 60-90$  мин) и полувыведения ( $T_{1/2} = 6-8$  час) [18], степень пролонгации высвобождения активного вещества целесообразно было увеличить до не менее чем 3–4 периодов  $T_{max}$  (т. е. не менее чем до 6–8 часов).

Из известных приемов достижения гастроретентивного эффекта [22] для плохо растворимого макозинона с учетом необходимой высокой дозировки в единице лекарственной формы наиболее пригодными были признаны варианты лекарственных форм, способные к набуханию и мукоадгезии.

Для набухающих систем доставки основными параметрами, обеспечивающими необходимую задержку в желудке, являются их геометрические размеры и форма. Считается, что минимальный геометрический размер таблетки по наибольшему измерению должен составлять около 2 см, а оптимальной для задержки изделия является форма типа эллипсоида (капсулоподобная) [24–26].

Кроме того, в отличие от флотирующих гастроретентивных систем придание лекарственной форме способности к мукоадгезии позволяет снизить вероятность ее преждевременной «принудительной» эвакуации во время наиболее интенсивной III фазы миграционного моторного комплекса, а также у пациентов с ускоренной моторикой желудка или в период после поступления в желудок пищи [27, 28].

Для обоснования целевых значений мукоадгезивной способности разрабатываемой лекарственной формы предварительно экспериментально после отработки соответствующих методик оценивали мукоадгезивные свойства трех одинаковых по форме (капсуловидные таблетки) и размерам (аналогичных размерам экспериментальных таблеток) образцов сравнения: гастроретентивной набухающей – флотирующей таблетки «Gralise», содержащей в своем составе биоадгезивные агенты ГПМЦ и ПЭО, таблетки препарата «Фромилд», покрытой оболочкой с высоким содержанием другого мукоадгезивного агента – карбоксиметилцеллюлозы, а также изготовленного в лаборатории на основе имеющего гидрофобные свойства эпоксидного состава имитатора (муляжа) таблетки такого же размера и формы. По результатам испытания этих образцов (таблица 1) были выбраны целевые показатели адгезивной способности разрабатываемых таблеток: усилие на отрыв – не менее 1,0 Н (соответствующая работа разрушения адгезивного соединения – не менее 5 Дж/м<sup>2</sup>), и длительность фиксации таблетки на поверхности слизистой в условиях «смыва» не менее 300 мин.

Таблица 1. Параметры биоадгезии образцов сравнения

Table 1. Mucoadhesion characteristics of model tablets

Параметры Characteristic	Исследуемые образцы Samples		
	Муляж (эпоксидная смола) Epoxy model	«Фромилд» "Fromilide"	«Gralise»
Сила отрыва, Н Detachment force, N	0,21	0,84	0,337
W адгезии, Дж/м <sup>2</sup> Work of adhesion, J/m <sup>2</sup>	0,73	3,71	1,12
T адгезии, мин Duration of adhesion, min	< 1	> 300	> 300

**Примечание.** \* Приведено среднее значение из трех определений.

**Note.** \* The average value of three measurements.

Одним из ключевых требований к параметрам разрабатываемой лекарственной формы является достижение необходимой скорости высвобождения активного вещества. При этом концентрация растворенного вещества в желудочном и кишечном соке не

должна существенно превышать зарегистрированный для макозинона верхний предел растворимости. Проведенные расчеты, базирующиеся на выбранных целевых параметрах времени задержки эвакуации лекарственной формы в желудке (не менее 6 часов), дозировки макозинона в таблетке (500 мг), максимальной растворимости макозинона в кислой среде желудка (не выше 200 мкг/мл), известных средних показателей скорости эвакуации жидкого содержимого из желудка, а также зарегистрированной в ходе КИ скорости всасывания (константы абсорбции) макозинона, показали, что приемлемая скорость высвобождения активного вещества из таблетки в кислой среде желудка должна находиться в диапазоне 30–40 мг/час.

На основании этих расчетов была построена ориентировочная целевая кривая высвобождения макозинона из лекарственной формы в желудке (рисунок 3), с учетом которой были выбраны реперные временные точки контроля при проведении испытания *in vitro* по разработанной методике – 1, 3 и 6 часов и определены допустимые границы варьирования параметра кумулятивного высвобождения активного вещества в каждой точке (см. таблицу 3). В связи с крайне низкой растворимостью макозинона методика контроля высвобождения макозинона в случае использования стандартного аппарата типа II (лопастная мешалка) должна была быть модифицирована таким образом, чтобы за период растворения между точками отбора проб не происходило достижения пределов растворимости активного вещества.

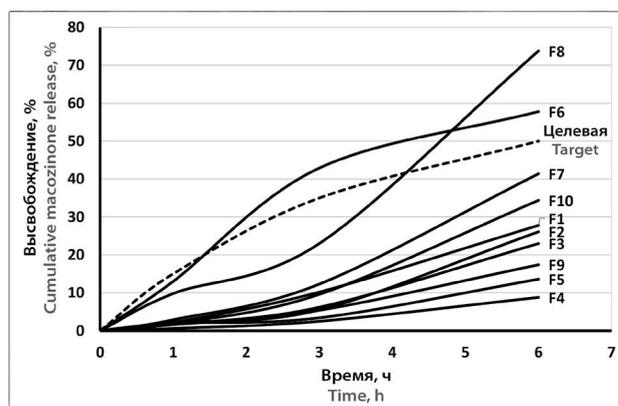


Рисунок 3. Кумулятивные кривые высвобождения активного вещества из экспериментальных таблеток

Figure 3. Cumulative curves of macozinone release from the experimental tablets

С учетом вышеизложенного в качестве критических показателей качества разрабатываемой лекарственной формы – гастроретентивной таблетки с дозировкой по активному веществу 500 мг – выбрали: геометрические размеры (начальные и после набухания в среде растворения) и форму (капсуловидную), степень (индекс) набухания, степень мукоадгезии (к сли-

зистой желудка свиньи), степень и скорость высвобождения активного вещества в тесте растворения (в реперных временных точках 1, 3, 6 часов). Установленные значения критических параметров качества приведены в таблице 4.

Кроме того, в процессе разработки контролировали также усилие прессования и прочность получаемых таблеток (испытания на излом).

### Совместимость компонентов для экспериментальных составов

Исследование всех вариантов подвергнутых стресс-воздействию парных смесей, составленных из фармацевтической субстанции (гидрохлорида макозинона), и каждого из выбранных для создания экспериментальных таблеток вспомогательного вещества методом ВЭЖХ не выявило изменений ВЭЖХ-характеристик самого активного вещества, так же как не обнаружено накопления дополнительных к основным веществам примесей – продуктов взаимодействия компонентов. Этот факт в значительной мере может объясняться высокой химической и гидролитической стабильностью практически нерастворимой в воде субстанции макозинона гидрохлорида.

### Оценка растворения ФС макозинона и его комплексов с ЦД

Результаты исследования растворения фармацевтической субстанции макозинона гидрохлорида (таблица 2) подтверждают правомерность отнесения ее к классу практически нерастворимых в воде веществ.

Наблюдающаяся выраженная зависимость степени растворения макозинона гидрохлорида от значений pH среды, проявляющаяся как для самой субстанции, так и ее комплексов с циклодекстрином, в том числе и в биорелевантных средах, свидетельствует о том, что для этого лекарственного средства характерно узкое окно биодоступности, и основное количество поступившего через рот лекарственного средства всасывается в желудке и верхнем отделе тонкого кишечника. Отмеченное заметное повышение растворимости макозинона в среде FaSSIF при значении pH 6,5 в сравнении с ацетатным буфером и имитатором кишечного сока в состоянии натощак (FaSSIF, pH 5,0), может быть связано с наличием в среде FeSSIF дополнительных эмульгаторов в виде солей желчных кислот.

Очевидно, именно этими свойствами макозинона, а также полученными ранее данными о низкой его проницаемости через клеточные барьеры [17, 18] объясняется зарегистрированные при проведении клинических исследований I фазы особенности фармакокинетики – быстрое (через 1–1,5 час) достижение максимума концентрации в плазме крови, очень короткий период полувыведения (менее 8 час) и увеличение относительной биодоступности препарата, вводимого на фоне приема пищи [19].

**Таблица 2. Степень растворимости макозинона и его гранулятов с гидроксипропил-бета-циклодекстрином в различных средах (%)**

**Table 2. Relative solubility of macozinone and macozinone-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin granules in different mediums (%)**

Препарат* Sample*	0,01 н HCl pH 1,2** 0,01 M HCl, pH 1,2**	Ацетатный буфер pH 5,0 Acetic buffer solution pH 5,0	FaSSIF pH 5,0	FeSSIF pH 6,5
Макозинон HCl Macozinone HCl	100***	1,9	0,8	35
Гранулят макозинон HCl + ГПЦД (2:1) Granules of Macozinone HCl + HPCD (2:1)	138	3,1	1,1	48
Гранулят макозинон HCl + ГПЦД (1:1) Granules of Macozinone HCl + HPCD (1:1)	116	7,1	1,1	31
Гранулят макозинон HCl + ГПЦД (1:2) Granules of Macozinone HCl + HPCD (1:2)	120	2,9	0,9	39

**Примечание.** \* Для гранулятов указано мольное соотношение компонентов.

\*\* Среда содержит 0,001 % бензетония хлорида.

\*\*\* За 100 % принята растворимость макозинона гидрохлорида в 0,01 н HCl pH 1,2 (в условиях проведенного эксперимента конечная концентрация макозинона составила 0,33 мг/мл).

**Note.** \* For granulates designated molar ratio of components.

\*\* Medium contain 0,001 % benzetonium chloride.

\*\*\* The value of solubility of Macozinone HCl in 0,01 M HCl, pH 1,2 is accepted as 100 %.

Как видно из результатов, дополнительное повышение растворимости макозинона, особенно выраженное в слабо кислой среде, достигается при испытании его в виде гранулированных порошков смесей с гидроксипропил-бета-циклодекстрином. Известно, что механизмы действия циклодекстринов на растворение плохо растворимых веществ могут быть различными. Наиболее полно в литературе описан феномен образования комплексов включения (клатратов) амфифильных по природе циклодекстринов с гидрофобными липофильными молекулами. Такие комплексы могут быть получены самыми разными способами – путем интенсивного смешивания или перетирания сухих порошков, перемешиванием в растворах, на границах раздела фаз, соосаждением, лиофилизацией смесей и др. [29]. Как правило, наиболее эффективно образование подобных комплексов происходит при сопоставимых мольных соотношениях ЦД и вещества «гостя», что затрудняет использование такого подхода для высокодозированных препаратов. Тем не менее в процессе смешивания с веществами с выраженными гидрофобными свойствами некоторое их количество может образовывать истинные комплексы включения при сохра-

нении избытка кристаллической формы. То есть такие системы представляют собой комбинированные смеси кристаллов и клатратных образований.

Следует иметь в виду, что помимо реализации механизма формирования истинных комплексов включения растворимость гидрофобных молекул в присутствии циклодекстринов может повышаться также за счет иных типов физико-химических взаимодействий, например стабилизации таких молекул в растворах в результате нековалентного взаимодействия с циклическими олигосахаридами [30], а также снижения склонности гидрофобных молекул к агрегации и осаждению из растворов. В последнем случае взаимодействие олигосахаридов и гидрофобных молекул лекарства позволяет достигать стабильных «перенасыщающих» концентраций плохо растворимых лекарственных веществ в биологических жидкостях [31].

С учетом полученных данных в качестве одной из задач при конструировании лекарственной формы являлось использование приемов и компонентов таблеток, способствующих повышению растворимости, проницаемости и снижению зависимости растворения вещества от изменения pH биологических сред. Одним из возможных способов решения этой задачи является создание высокодозированной гастроретентивной формы с модифицированным высвобождением активного вещества, в том числе в варианте с включением в ее состав гидрофильных циклодекстринов.

### **Наработка и оценка свойств экспериментальных таблеток**

Составы наработанных экспериментальных таблеток и результаты оценки их свойств приведены в таблицах 3, 4 и на рисунке 3.

Как видно из таблицы 4 и на рисунке 3 на время контроля 6 часов наиболее близкими к заданным параметрам высвобождения активного вещества были таблетки составов F6, F7, F10, однако два последних имели излишне замедленную кинетику высвобождения макозинона. В то же время, первоначально рассматривавшийся в качестве потенциального прототипа состав F1, который по принципам используемой технологии (водно-спиртовая одноэтапная грануляция) аналогичен использованной при создании описанной в литературе набухающей и мукоадгезивной таблетки ацикловира [32], обладал наиболее высокой набухающей и адгезивной способностью, однако при испытаниях было зарегистрировано расщепление таблетки по продольной оси в процессе набухания. Попытка коррекции этих недостатков за счет введения дополнительного количества связующего и замены мукоадгезивных компонентов (состав F3) привела к излишне выраженному снижению показателя высвобождения активного вещества.

Таблетки, изготовленные по варианту 2 технологии с введением мукоадгезивных матричных агентов как в состав гранул, так и в межгранульное пространство (составы F4, F5) имели достаточно высокие показатели мукоадгезии, но характеризовались низкой скоростью высвобождения активного вещества.

Таблетки состава F6, полученные по технологии двухэтапного изготовления гранул, в которой «первичные» гранулы приготовлены путем смешивания фармсубстанции и гидроксипропил-бета-циклодекстрина (в соотношении 2:1 по массе) в условиях незначительного увлажнения водой, в наибольшей степени соответствовали совокупности целевых параметров (см. рисунки 1–3). В этом варианте технологии реализован этап введения матричных набухающих и высоко мукоадгезивных полимеров в виде сухих порошков в межгранульное пространство. Одним из этих матричных компонентов является нерастворимый в воде карбопол, а второй представляет собой водорастворимый полимер – гидроксипропилцеллюлозу (F6). Известно, что для плохо растворимых веществ их высвобождение из лекарственных форм матричного типа определяется, в основном, скоростью эрозии матрицы [22, 23]. В таблетках составов F6, F7, F8 матричные агенты в процессе набухания образуют своего рода вязкую адгезивную постепенно эродирующую оболочку вокруг гранул, содержащих активное вещество. Подобранные сочетание нерастворимого и растворимого полимеров обеспечивает необходимую скорость разрушения матрицы. Кроме того, следует иметь в виду, что способность к набуханию у карбополов существенно возрастает при увеличении значений показателя pH среды свыше 5,5–6, что в условиях *in vivo* имеет место по мере перемещения таблетки в нижние отделы желудка и в 12-перстную кишку. Следует также отметить, что при использовании в качестве матричного агента вместо ГЭЦ высокомолекулярного ПЭО (состав F7) отмечено замедление высвобождения активного вещества из таблеток в первые часы после помещения в среду растворения с последующим увеличением показателя практически до минимальных целевых значений через 6 часов. Эти данные свидетельствуют, что путем варьирования количественных соотношений и типа вводимых между гранулами матричных агентов, в принципе, имеется возможность более точно приближаться к целевым параметрам разрабатываемых таблеток макозинона с модифицированным высвобождением активного вещества.

Отметим также, что в случае замены, в рамках реализации той же технологии, вводимых межгранульно матричных агентов на комбинацию из двух водорастворимых мукоадгезивных полимеров – ПЭО + ГПМЦ (состав F8), – степень эрозии лекарственной формы и, соответственно, высвобождение активного вещества становятся избыточными.

Таблица 3. Экспериментальные формуляции при разработке таблетки с модифицированным высвобождением макозинона (массовая доля в % в таблетке)  
Table 3. Experimental formulations of the tablets with modified release of mascozine (mass %)

Наименование компонента Name of the component	Функция Function	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
Макозинон HCl Mascozine HCl	Фармацевтическая субстанция Pharmaceutical substance	49,09	49,09	49,09	49,09	49,09	49,09	49,09	49,09	49,09	49,09
<i>Получение «первичных гранул» Primary granules (wet granulation)</i>											
Гидроксипропил-бета-циклодекстрин, HPBCD Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, HPBCD	Комплексообразователь / Солюбилизатор / Энхансер проницаемости Complexing / solubilizing agent / Permeability enhancer	-	-	-	-	-	24,91	24,91	24,91	-	-
Кросповидон XL10 Crosspovidone XL10	Наполнитель / дезинтегрант Filler / disintegration agent	-	-	-	-	-	-	-	-	24,91	-
МКЦ 101 Microcrystalline cellulose 101	Наполнитель / дезинтегрант Filler / disintegration agent	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32,90
<i>Грануляция («вторичные гранулы») Secondary granules (wet granulation)</i>											
МКЦ 101 Microcrystalline cellulose 101	Наполнитель / дезинтегрант Filler / disintegration agent	34,51	24,91	24,91	13,41	24,91	-	-	-	-	-
Полисорбат-80 Polysorbate-80	Солюбилизатор Solubilizing agent	-	1,00	1,00	-	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Повидон K90 Povidone K90	Связующее Binder	-	6,00	6,00	-	-	-	-	-	-	6,00
Повидон K30 Povidone K30	Связующее Binder	3,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Повидон K25 Povidone K25	Связующее Binder	-	-	-	6,00	-	-	-	-	-	-
ПЭГ-6000 PEG-6000	Солюбилизатор / пластификатор Solubilizing agent / plasticizer	-	-	-	-	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	-
ПЭГ-8000 (сухой) PEG-8000 (dry)	Солюбилизатор / пластификатор Solubilizing agent / plasticizer	-	-	-	15,00	-	-	-	-	-	-
Кармеллоза натрия (натрия КМЦ) Carmellose sodium (Na-CMC)	Мукоадгезив / дезинтегрант Solubilizing agent / plasticizer	-	6,00	6,00	-	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	-
Carbopol® 974P	Матричный агент / мукоадгезив Mucoadhesive / disintegration agent	9,00	-	-	-	5,00	-	-	-	-	-
ПЭО (Polyox WSR 303) PEO (Polyox WSR 303)	Матричный агент / мукоадгезив Mucoadhesive / disintegration agent	3,00	-	-	5,00	-	-	-	-	-	-
ГПМЦ K100M HPMC K100M	Матричный агент / мукоадгезив Mucoadhesive / disintegration agent	-	12,00	12,00	-	-	-	-	-	-	-

Окончание таблицы 3

Наименование компонента Name of the component	Функция Function	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
Сухое смешивание, опудривание Dry mixing/dusting											
ПЭО (Polyox WSR 303) PEO (Polyox WSR 303)	Матричный агент / мукоадгезив Matrix / mucoadhesive gent	-	-	-	-	10,00	-	5,00	10,00	5,00	10,00
ГПМЦ К15М HPMC K15M	Матричный агент / мукоадгезив Matrix / mucoadhesive gent	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-
Карбопол (Carbopol® 71G NF) Carbopol® 71G NF	Матричный агент / мукоадгезив Matrix / mucoadhesive gent	-	-	-	10,00	-	-	10,00	-	10,00	-
Карбопол (Carbopol® 974P) Carbopol® 974P	Матричный агент / мукоадгезив Matrix / mucoadhesive gent	-	-	-	-	-	5,00	-	-	-	-
Гидроксиэтилцеллюлоза ГЭЦ 250 ННХ Hydroxyethylcellulose HEC 250 ННХ	Матричный агент / мукоадгезив Matrix / mucoadhesive gent	-	-	-	-	-	10,00	-	-	-	-
Аэросил® 200 Aerosil® 200	Глидant Glidant	0,50	-	-	1,00	-	-	-	-	-	-
Магния стеарат Magnesium stearate	Лубрикант Lubricant	0,80	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00
Натрия стеарил фумарат Sodium stearyl fumarate	Лубрикант Lubricant	-	1,00	1,0	0,50	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	-
Средняя масса таблетки, мг Av mass of tablet, mg		1103	1109	1109	1102	1107	1115	1106	1103	1107	1101

Таблица 4. Свойства экспериментальных таблеток  
Table 4. Properties of the experimental tablets

Показатели Characteristic	Целевые значения Target value	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
Размер таблетки (исходный) (длина × ширина), мм Size, (L × W), mm	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10	20 × 10
Высота таблетки, мм Height, mm	-	7,01	6,88	6,54	6,41	6,86	6,38	6,54	6,24	6,77	6,51
Размер таблетки после набухания (длина × ширина), мм Size after swelling (L × W), mm	(> 22) × (> 12)	Расщепилась через 4 часа Splitting after 4 h	24 × 13	25 × 13	22 × 12	24 × 13	24 × 14	23 × 13	24 × 13 утрата формы 24 × 13 loss of form	24 × 15	21 × 11
Индекс набухания, % Swelling index, %	> 80	Неприменимо	105,1	114,8	71,9	101,4	99,3	104,3	124,9	135,9	39,3
Прочность на излом, Н Hardness, N	180–220	205	188	245	219	145	218	209	217	200	225
Высвобождение активного вещества через 1 час, $\omega_{31r}$ , % Cumulative Macozinone release (after 1 h), $\omega_{31r}$ , %	10–15	2,2	2,1	1,7	0,6	2,0	13,0	2,9	9,8	1,6	1,9
Высвобождение активного вещества через 3 часа (кумулятивно), $\omega_{33r}$ , % Cumulative Macozinone release (after 3 h), $\omega_{33r}$ , %	20–40	10,2	5,5	6,2	2,5	3,4	42,9	12,3	23,0	5,4	9,6
Высвобождение активного вещества через 6 часов (кумулятивно), $\omega_{36r}$ , % Cumulative Macozinone release (after 6 h), $\omega_{36r}$ , %	50–60	27,8	26,1	23,0	8,8	13,6	57,8	41,4	73,8	17,4	34,4
$W_{адг.}$ (работа разрушения адгезивного соединения), Дж/м <sup>2</sup> $W_{адг.}$ (work of destruction of adhesive junction), J/m <sup>2</sup>	> 5	13,2	7,0	4,5	5,7	9,2	6,7	6,6	5,6	н/о*	2,2
$T_{адг.мин}$ (тест «смывания»), мин Duration of adhesion (wash-off test), min	> 300	н/о*	> 300	н/о*	н/о	н/о*	> 300	> 300	н/о*	н/о*	н/о**

**Примечание.** \* Определение показателя не проводили в связи с неудовлетворительными значениями параметров высвобождения активного вещества.

\*\* Определение показателя не проводили в связи с неудовлетворительными значениями параметра мукоадгезии по силе отрыва.

**Note.** \* The determination was not carried out due to unsatisfactory values of the parameters of the release of the active substance.

\*\* The determination was not carried out due to the unsatisfactory values of the detachment force parameter of mucoadhesion.

При попытке заменить растворимый циклодекстрин в составе «первичных» гранул на нерастворимый разобщитель капиллярного типа кросповидон, используемый в фармацевтических композициях, в том числе для стабилизации и повышения растворимости склонных к агрегации порошков гидрофобных лекарственных веществ [33, 34] (состав F9), степень набухания таблетки значительно возросла, но при этом существенно снижалась скорость высвобождения активного вещества. При замене циклодекстрина на нерастворимый разобщитель МКЦ, который также способен стабилизировать кристаллические системы и улучшать растворимость субстанций [35–37] (состав F10), высвобождение активного вещества было более высоким, но при этом таблетка теряла способность к набуханию и мукоадгезии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты оценки свойств различных по составу и способам изготовления вариантов таблеток показали, что наиболее близкими к заданным целевым значениям критических параметров качества создаваемой гастроретентивной таблетки макозинона являются образцы, в состав которых входят предварительно отдельно приготовленные гранулы на основе порошков фармсубстанции и гидроксипропил-бета-циклодекстрина. Такие гранулы обеспечивали существенное более высокую растворимость макозинона во всех испытанных средах, что позволяет прогнозировать более высокую биодоступность активного вещества. При этом оценивая пригодность разработанных лекарственных форм для повышения биодоступности активного вещества и обеспечения заданного терапевтического эффекта, следует также учитывать, что помимо положительного влияния на растворимость гидрофобных веществ для циклодекстринов известна способность индуцировать повышение проницаемости биологических барьеров для гидрофобных молекул. Этот эффект связывают, в частности, с их способностью влиять на структуру биологических барьеров (фосфолипидных мембран, муцина). Циклодекстрины (как и некоторые другие моно- и дисахариды) проявляют свойства хаотропных агентов при воздействии на высоковязкие системы, описана также их способность повышать проницаемость биологических мембран за счет экстрагирования из мембран некоторых липофильных или амфифильных компонентов, в частности холестерина [38–40].

С учетом полученных данных в качестве потенциального прототипа гастроретентивной таблетки для дальнейших исследований биодоступности наиболее перспективной является набухающая и мукоадгезивная таблетка, полученная по разработанной технологии двухстадийной грануляции, содержащая в составе «первичных» гранул комплекс фармсубстанции макозинона гидрохлорида и циклодекстрина, с по-

следующим межгранульным введением комбинации растворимого и нерастворимого полимерных высоко биоадгезивных и набухающих матричных агентов (состав F6).

## ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. "Global tuberculosis report 2020: executive summary". Geneva; 2020.
2. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019.
3. Polsfuss S., Hofmann-Thiel S., Merker M., Krieger D., Niemann S., Rüssmann H., Schönfeld N., Hoffmann H., Kranzer K. Emergence of low-level delamanid and bedaquiline resistance during extremely drug-resistant tuberculosis treatment. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;69(7):1229–1231. DOI: 10.1093/cid/ciz074.
4. Schena E., Nedialkova L., Borroni E., Battaglia S., Cabibbe A. M., Niemann S., Utpatel C., Merker M., Trovato A., Hofmann-Thiel S., Hoffmann H., Cirillo D. M. Delamanid susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis using the resazurin microtitre assay and the BACTEC™ MGIT™ 960 system. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016;71(6):1532–1539. DOI: 10.1093/jac/dkw044.
5. Hoffmann H., Kohl T. A., Hofmann-Thiel S., Merker M., Beckert P., Jatou K., Nedialkova L., Sahalchik E., Rothe T., Keller P. M., Niemann S. Delamanid and bedaquiline resistance in Mycobacterium tuberculosis ancestral Beijing genotype causing extensively drug-resistant tuberculosis in a Tibetan refugee. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2016;193(3):337–340. DOI: 10.1164/rccm.201502-0372LE.
6. Battaglia S., Spitaleri A., Cabibbe A. M., Meehan C. J., Utpatel C., Ismail N., Tahseen S., Skrahina A., Alikhanova N., Kamal S. M. M., Barbova A., Niemann S., Groenheit R., Dean A. S., Zignol M., Rigouts L., Cirillo D. M. Characterization of genomic variants associated with resistance to bedaquiline and delamanid in naive Mycobacterium tuberculosis clinical strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020;58(11):e01304–e01320. DOI: 10.1128/JCM.01304-20.
7. Balganeshe T. S., Alzari P. M., Cole S. T. Rising standards for tuberculosis drug development. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2008;29(11):576–581. DOI: 10.1016/j.tips.2008.08.001.
8. Tiberi S., Muñoz-Torrico M., Duarte R., Dalcolmo M., D'Ambrosio L., Migliori G.-B. New drugs and perspectives for new anti-tuberculosis regimens. *Pulmonology*. 2018;24(2):86–98. DOI: 10.1016/j.rppnen.2017.10.009.
9. Kumar D., Negi B., Rawat D. S. The anti-tuberculosis agents under development and the challenges ahead. *Future Medicinal Chemistry*. 2015;7(15):1981–2003. DOI: 10.4155/fmc.15.128.
10. Makarov V., Lechartier B., Zhang M., Neres J., Sar A. M., Raadsen S. A., Hartkoorn R. C., Ryabova O. B., Vocat A., Decosterd L. A., Widmer N., Buclin T., Bitter W., Andries K., Pojer F., Dyson P. J., Cole S. T. Towards a new combination therapy for tuberculosis with next generation benzothiazinones. *EMBO Molecular Medicine*. 2014;6(3):372–383. DOI: 10.1002/emmm.201303575.
11. Shi J., Lu J., Wen S., Zong Z., Huo F., Luo J., Liang Q., Li Y., Huang H., Pang Y. In vitro activity of PBTZ169 against multiple Mycobacterium species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2018;62(11):e01314–e01318. DOI: 10.1128/AAC.01314-18.
12. Gao C., Peng C., Shi Y., You X., Ran K., Xiong L., Ye T.-H., Zhang L., Wang N., Zhu Y., Liu K., Zuo W., Yu L., Wei Y. Benzothiazinethione is a potent preclinical candidate for the treatment of drug-resistant tuberculosis. *Scientific Reports*. 2016;6(1). DOI: 10.1038/srep29717.
13. Singh R., Dwivedi S. P., Gaharwar U. S., Meena R., Rajamani P., Prasad T. Recent updates on drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Applied Microbiology*. 2020;128(6):1547–1567. DOI: 10.1111/jam.14478.
14. Черноусова Л. Н., Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Ларионова Е. Е., Андреевская И. Ю., Шевкун Н. А. Активность in vitro лекарственного кандидата PBTZ169, гидрохлорид, в отношении клинических штаммов Mycobacterium tuberculosis с широкой лекарственной устойчивостью. *Туберкулез и болезни легких*. 2016;94(9):73–79. DOI: 10.21292/2075-1230-2016-94-9-73-79

15. Черноусова Л. Н., Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Ларионова Е. Е., Иващенко О. И., Новоселова Е. А., Шевкун Н. А. Лекарственно-устойчивый туберкулез: перспективы ускоренной диагностики и химиотерапии. *Бактериология*. 2017;2(1):25–34. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-25-34.
16. McIlleron H., Chirehwa M. T. Current research toward optimizing dosing of first-line antituberculosis treatment. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2019;17(1):27–38. DOI: 10.1080/14787210.2019.1555031.
17. Wang T., Tang Y., Yang Y., An Q., Sang Z., Yang T., Liu P., Zhang T., Deng Y., Luo Y. Discovery of novel anti-tuberculosis agents with pyrrolo[1,2-a]quinoxaline-based scaffold. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2018;28(11):2084–2090. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.04.043.
18. Хохлов А. Л., Марьяндышев А. О., Щербаква В. С., Озерова И. В., Казаишвили Ю. Г., Игумнова О. В., Болгарина А. А., Рудой Б. А. Влияние физико-химических свойств на фармакокинетические параметры нового представителя бензотиазинонов – противотуберкулезного препарата макозинон. *Терапевтический архив*. 2020;92(12):165–171. DOI: 10.26442/00403660.2020.12.200482.
19. Марьяндышев А. О., Хохлов А. Л., Смердин С. В., Щербаква В. С., Игумнова О. В., Озерова И. В., Болгарина А. А., Никитина Н. А. Основные результаты клинических исследований эффективности, безопасности и фармакокинетики перспективного противотуберкулезного препарата макозинон (PBTZ169). *Терапевтический архив*. 2020;92(3):61–72. DOI: 10.26442/00403660.2020.03.000621.
20. Carvalho F. C., Bruschi M. L., Evangelista R. C., Gremião M. P. D. Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;46(1):1–17. DOI: 10.1590/S1984-82502010000100002.
21. Reddy M. V., Vijayavani Ch. S., Rao V. U. M. Formulation and evaluation of gabapentin mucoadhesive gastro retentive tablets. *Int J Pharm Anal. Res.* 2012;2(4):151–163.
22. Tripathi J., Thapa P., Maharjan R., Jeong S. H. Current state and future perspectives on gastroretentive drug delivery systems. *Pharmaceutics*. 2019;11(4). DOI: 10.3390/pharmaceutics11040193.
23. Mandal U. K., Chatterjee B., Senjoti F. G. Gastro-retentive drug delivery systems and their in vivo success: a recent update. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2016;11(5):575–584 DOI: 10.1016/j.ajps.2016.04.007.
24. Khosla R., Davis S. S. The effect of tablet size on the gastric emptying of non-disintegrating tablets. *International Journal of Pharmaceutics*. 1990;62(2–3):R9–R11.
25. Berner B., Louie-Helm J. Tablet shapes to enhance gastric retention of swellable controlled-release oral dosage forms. United States patent US6488962B1. 2002 Dec. 3.
26. Dehghan M., Kha F. Gastroretentive drug delivery systems: a patent perspective. *International Journal of Health Research*. 2009;2(1). DOI: 10.4314/ijhr.v2i1.55385.
27. Pal P., Sharma V., Singh L. A review on floating type gastroretentive drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy*. 2012;3(4):37–43.
28. Zate S. U., Kothawade P. I., Mahale G. H., Kapse K. P., Anantwar S. P. Gastro retentive bioadhesive drug delivery system: A review. *Int J Pharm Res.* 2010;2:1227-1235.
29. Rasheed A. Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review. *Scientia Pharmaceutica*. 2008;76(4):567–598. DOI: 10.3797/scipharm.0808-05.
30. Popielec A., Loftsson T. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;531(2):532–542. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.009.
31. Brewster M.E., Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59(7):645–666. DOI: 10.1016/j.addr.2007.05.012.
32. Sankar R., Jain S.K. Development and characterization of gastroretentive sustained-release formulation by combination of swelling and mucoadhesive approach: a mechanistic study. *Drug Design, Development and Therapy*. 2013;7:1455–1469. DOI: 10.2147/DDDT.S52890.
33. Balasubramaniam J., Bee T. Influence of superdisintegrants on the rate of drug dissolution from oral solid dosage forms. *Pharmaceutical Industry*. 2010;4(21):91–99.
34. Saharan V., Kukkar V., Kataria M., Gera M., Choudhury P. Dissolution enhancement of drugs. Part I: technologies and effect of carriers. *International Journal of Health Research*. 2010;2(2):107–124. DOI: 10.4314/ijhr.v2i2.55401.
35. Spence J.K., Bhattachar S.N., Wesley J.A., Martin P.J., Babu S.R. Increased dissolution rate and bioavailability through micronization with microcrystalline cellulose. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2005;10(4):451–60. DOI: 10.1080/10837450500299636.
36. Khan A., Iqbal Z., Niaz N. Evaluation of the effect of co-grinding on dissolution rate of poor water soluble drug (clarithromycin). *MOJ Drug Design Development & Therapy*. 2018;2(4):232–237. DOI: 10.15406/mojddt.2018.02.00052.
37. Trache D., Hussin M. H., Chuin C. T. H., Sabar S., Fazita M. R. N., Taiwo O. F. A., Hassan T. M., Haafiz M. K. M. Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;93:789–804. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056.
38. Måsson M., Loftsson T., Måsson G., Stefánsson E. Cyclodextrins as permeation enhancers: some theoretical evaluations and in vitro testing. *Journal of Controlled Release*. 1999;59(1):107–118. DOI: 10.1016/S0168-3659(98)00182-5.
39. Loftsson T., Vogensen S.B., Brewster M.E., Konráðsdóttir F. Effects of cyclodextrins on drug delivery through biological membranes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007;96(10):2532–2546. DOI: 10.1002/jps.20992.
40. Nakanishi K., Nadai T., Masada M., Miyajima K. Effect of cyclodextrins on biological membrane. II. Mechanism of enhancement on the intestinal absorption of non-absorbable drug by cyclodextrins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1992;40(5):1252–1256. DOI: 10.1248/cpb.40.1252.

## REFERENCES

1. World Health Organization. "Global tuberculosis report 2020: executive summary". Geneva; 2020.
2. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019.
3. Polsfuss S., Hofmann-Thiel S., Merker M., Krieger D., Niemann S., Rüssmann H., Schönfeld N., Hoffmann H., Kranzer K. Emergence of low-level delamanid and bedaquiline resistance during extremely drug-resistant tuberculosis treatment. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;69(7):1229–1231. DOI: 10.1093/cid/ciz074.
4. Schena E., Nedialkova L., Borroni E., Battaglia S., Cabibbe A. M., Niemann S., Utpatel C., Merker M., Trovato A., Hofmann-Thiel S., Hoffmann H., Cirillo D. M. Delamanid susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis using the resazurin microtitre assay and the BACTEC™ MGIT™ 960 system. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016;71(6):1532–1539. DOI: 10.1093/jac/dkw044.
5. Hoffmann H., Kohl T. A., Hofmann-Thiel S., Merker M., Beckert P., Jaton K., Nedialkova L., Sahalchik E., Rothe T., Keller P. M., Niemann S. Delamanid and bedaquiline resistance in Mycobacterium tuberculosis ancestral Beijing genotype causing extensively drug-resistant tuberculosis in a Tibetan refugee. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2016;193(3):337–340. DOI: 10.1164/rccm.201502-0372LE.
6. Battaglia S., Spitaleri A., Cabibbe A. M., Meehan C. J., Utpatel C., Ismail N., Tahseen S., Skrahina A., Alikhanova N., Kamal S. M. M., Barbova A., Niemann S., Groenheit R., Dean A. S., Zignol M., Rigouts L., Cirillo D. M. Characterization of genomic variants associated with resistance to bedaquiline and delamanid in naive Mycobacterium tuberculosis clinical strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020;58(11):e01304–e01320. DOI: 10.1128/JCM.01304-20.
7. Balganeshe T. S., Alzari P. M., Cole S. T. Rising standards for tuberculosis drug development. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2008;29(11):576–581. DOI: 10.1016/j.tips.2008.08.001.
8. Tiberi S., Muñoz-Torrico M., Duarte R., Dalcolmo M., D'Ambrosio L., Migliori G.-B. New drugs and perspectives for new anti-tuberculosis regimens. *Pulmonology*. 2018;24(2):86–98. DOI: 10.1016/j.rppnen.2017.10.009.

9. Kumar D., Negi B., Rawat D. S. The anti-tuberculosis agents under development and the challenges ahead. *Future Medicinal Chemistry*. 2015;7(15):1981–2003. DOI: 10.4155/fmc.15.128.
10. Makarov V., Lechartier B., Zhang M., Neres J., Sar A. M., Raadsen S. A., Hartkoorn R. C., Ryabova O. B., Vocat A., Decosterd L. A., Widmer N., Buclin T., Bitter W., Andries K., Pojer F., Dyson P. J., Cole S. T. Towards a new combination therapy for tuberculosis with next generation benzothiazinones. *EMBO Molecular Medicine*. 2014;6(3):372–383. DOI: 10.1002/emmm.201303575.
11. Shi J., Lu J., Wen S., Zong Z., Huo F., Luo J., Liang Q., Li Y., Huang H., Pang Y. In vitro activity of PBTZ169 against multiple Mycobacterium species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2018;62(11):e01314–e01318. DOI: 10.1128/AAC.01314-18.
12. Gao C., Peng C., Shi Y., You X., Ran K., Xiong L., Ye T.-H., Zhang L., Wang N., Zhu Y., Liu K., Zuo W., Yu L., Wei Y. Benzothiazinethione is a potent preclinical candidate for the treatment of drug-resistant tuberculosis. *Scientific Reports*. 2016;6(1). DOI: 10.1038/srep29717.
13. Singh R., Dwivedi S. P., Gaharwar U. S., Meena R., Rajamani P., Prasad T. Recent updates on drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Applied Microbiology*. 2020;128(6):1547–1567. DOI: 10.1111/jam.14478.
14. Chernousova L. N., Andreevskaya S. N., Smirnova T. G., Larionova E. E., Andrievskaya I. Yu., Shevkun N. A. In vitro action of the drug candidate of PBTZ169, hydrochloride action in respect of clinical strains of Mycobacterium tuberculosis with extensive drug resistance. *Tuberkuljoz i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*. 2016;94(9):73–79. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2016-94-9-73-79.
15. Chernousova L. N., Andreevskaya S. N., Smirnova T. G., Larionova E. E., Ivakhnenko O. I., Novoselova E. A., Shevkun N. A. Drug-resistant tuberculosis: the prospects for accelerated diagnostics and chemotherapy. *Bakteriologiya = Bacteriology*. 2017;2(1):25–34. (In Russ.) DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-25-34.
16. McIlerron H., Chirehwa M. T. Current research toward optimizing dosing of first-line antituberculosis treatment. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2019;17(1):27–38. DOI: 10.1080/14787210.2019.1555031.
17. Wang T., Tang Y., Yang Y., An Q., Sang Z., Yang T., Liu P., Zhang T., Deng Y., Luo Y. Discovery of novel anti-tuberculosis agents with pyrrolo[1,2-a]quinoxaline-based scaffold. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2018;28(11):2084–2090. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.04.043.
18. Khokhlov A. L., Mariandyshv A. O., Shcherbakova V. S., Ozerova I. V., Kazaishvili Yu. G., Igumnova O. V., Bolgarina A. A., Rudoy B. A. Effect of physicochemical properties on the pharmacokinetic parameters of the new representative of benzothiazinones antituberculosis drug macozinone. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic archive*. 2020;92(12):165–171. (In Russ.) DOI: 10.26442/00403660.2020.12.200482.
19. Mariandyshv A. O., Khokhlov A. L., Smerdin S. V., Shcherbakova V. S., Igumnova O. V., Ozerova I. V., Bolgarina A. A., Nikitina N. A. The main results of clinical trials of the efficacy, safety and pharmacokinetics of the perspective anti-tuberculosis drug macozinone (PBTZ169). *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic archive*. 2020;92(3):61–72. (In Russ.) DOI: 10.26442/00403660.2020.03.000621.
20. Carvalho F. C., Bruschi M. L., Evangelista R. C., Gremião M. P. D. Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;46(1):1–17. DOI: 10.1590/S1984-82502010000100002.
21. Reddy M. V., Vijayavani Ch. S., Rao V. U. M. Formulation and evaluation of gabapentin mucoadhesive gastro retentive tablets. *Int J Pharm Anal. Res.* 2012;2(4):151–163.
22. Tripathi J., Thapa P., Maharjan R., Jeong S. H. Current state and future perspectives on gastroretentive drug delivery systems. *Pharmaceutics*. 2019;11(4). DOI: 10.3390/pharmaceutics11040193.
23. Mandal U. K., Chatterjee B., Senjoti F. G. Gastro-retentive drug delivery systems and their in vivo success: a recent update. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2016;11(5):575–584 DOI: 10.1016/j.ajps.2016.04.007.
24. Khosla R., Davis S. S. The effect of tablet size on the gastric emptying of non-disintegrating tablets. *International journal of pharmaceutics*. 1990;62(2–3):R9–R11.
25. Berner B., Louie-Helm J. Tablet shapes to enhance gastric retention of swellable controlled-release oral dosage forms. United States patent US6488962B1. 2002 Dec. 3.
26. Dehghan M., Kha F. Gastroretentive drug delivery systems: a patent perspective. *International Journal of Health Research*. 2009;2(1). DOI: 10.4314/ijhr.v2i1.55385.
27. Pal P., Sharma V., Singh L. A review on floating type gastroretentive drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy*. 2012;3(4):37–43.
28. Zate S. U., Kothawade P. I., Mahale G. H., Kapse K. P., Anantwar S. P. Gastro retentive bioadhesive drug delivery system: A review. *Int J Pharm Res.* 2010;2:1227-1235.
29. Rasheed A. Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review. *Scientia Pharmaceutica*. 2008;76(4):567–598. DOI: 10.3797/scipharm.0808-05.
30. Popielec A., Loftsson T. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;531(2):532–542. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.009.
31. Brewster M. E., Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59(7):645–666. DOI: 10.1016/j.addr.2007.05.012.
32. Sankar R., Jain S. K. Development and characterization of gastroretentive sustained-release formulation by combination of swelling and mucoadhesive approach: a mechanistic study. *Drug Design, Development and Therapy*. 2013;7:1455–1469. DOI: 10.2147/DDDT.S52890.
33. Balasubramaniam J., Bee T. Influence of superdisintegrants on the rate of drug dissolution from oral solid dosage forms. *Pharmaceutical Industry*. 2010;4(21):91–99.
34. Saharan V., Kukkar V., Kataria M., Gera M., Choudhury P. Dissolution enhancement of drugs. Part I: technologies and effect of carriers. *International Journal of Health Research*. 2010;2(2):107–124. DOI: 10.4314/ijhr.v2i2.55401.
35. Spence J. K., Bhattachar S. N., Wesley J. A., Martin P. J., Babu S. R. Increased dissolution rate and bioavailability through comiconization with microcrystalline cellulose. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2005;10(4):451–60. DOI: 10.1080/10837450500299636.
36. Khan A., Iqbal Z., Niaz N. Evaluation of the effect of co-grinding on dissolution rate of poor water soluble drug (clarithromycin). *MOJ Drug Design Development & Therapy*. 2018;2(4):232–237. DOI: 10.15406/mojddt.2018.02.00052.
37. Trache D., Hussin M. H., Chuin C. T. H., Sabar S., Fazita M. R. N., Taiwo O. F. A., Hassan T. M., Haafiz M. K. M. Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;93:789–804. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056.
38. Måsson M., Loftsson T., Måsson G., Stefánsson E. Cyclodextrins as permeation enhancers: some theoretical evaluations and in vitro testing. *Journal of Controlled Release*. 1999;59(1):107–118. DOI: 10.1016/S0168-3659(98)00182-5.
39. Loftsson T., Vogensen S. B., Brewster M. E., Konráðsdóttir F. Effects of cyclodextrins on drug delivery through biological membranes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007;96(10):2532–2546. DOI: 10.1002/jps.20992.
40. Nakanishi K., Nadai T., Masada M., Miyajima K. Effect of cyclodextrins on biological membrane. II. Mechanism of enhancement on the intestinal absorption of non-absorbable drug by cyclodextrins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1992;40(5):1252–1256. DOI: 10.1248/cpb.40.1252.



Оригинальная статья / Research article

## Разработка способа анализа офлоксацина в комплексном препарате «Офлоксазоль»

Т. А. Кобелева<sup>1\*</sup>, А. И. Сичко<sup>1</sup>, А. И. Замаева<sup>1</sup>, Н. С. Бессонова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России), 625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54

\*Контактное лицо: Кобелева Татьяна Алексеевна. E-mail: kobeleva@tyumsmu.ru

ORCID: Т. А. Кобелева – <https://orcid.org/0000-0003-1004-8721>; А. И. Сичко – <https://orcid.org/0000-0002-2200-7807>; А. И. Замаева – <https://orcid.org/0000-0002-8527-2966>; Н.С. Бессонова – <https://orcid.org/0000-0002-5014-0736>.

Статья поступила: 26.02.2021

Статья принята в печать: 29.03.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Создание новых эффективных антибактериальных препаратов для лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний является актуальной задачей современной фармации. Активное применение в терапии гнойной инфекции находят химиотерапевтические средства из класса фторхинолонов, к которым относится офлоксацин.

**Цель.** Разработка способа количественного определения офлоксацина в комплексном препарате «Офлоксазоль».

**Материалы и методы.** Для проведения анализа использовали субстанцию офлоксацина, титансодержащий гель «Тизоль», растворы офлоксацина на 95%-м этаноле, кислоты хлористоводородной 0,01 моль/л, мазь под условным наименованием «Офлоксазоль», содержащую 0,5 % препарата в геле «Тизоль». Исследование проводили методом спектрофотометрии в ближней УФ-области.

**Результаты и обсуждение.** При изучении спектров поглощения установлено, что для количественного спектрофотометрического анализа офлоксацина рационально использовать область длин волн 275–320 нм ( $\lambda_{\text{max}} = 294$  нм). Статистическая обработка результатов анализа показала, что относительная погрешность количественного определения не превышает  $\pm 1,66$  %. Чувствительность определения офлоксацина равна 0,245 мкг/мл при  $A(\text{min}) = 0,02$ . Разработанная методика валидирована. Подтверждена ее специфичность, линейность, правильность и прецизионность. По градуировочному графику определено содержание офлоксацина в мягкой лекарственной форме, оно находится в пределах 0,0483–0,0562 г, что соответствует допустимым отклонениям.

**Заключение.** Проведенные исследования позволили разработать и предложить способ количественного определения офлоксацина в мази «Офлоксазоль», полученной на титансодержащей основе. Способ позволяет проводить оценку качества изготовления лекарственной формы, в том числе устанавливать содержание препарата с ошибкой, не превышающей нормативные отклонения.

**Ключевые слова:** офлоксацин, гель «Тизоль», мазь, спектрофотометрия, количественный анализ

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Т. А. Кобелева, А. И. Сичко изучили оптические характеристики и выбрали оптимальные условия проведения спектрофотометрического анализа офлоксацина в мази. Н. С. Бессонова, А. И. Замаева разработали методику количественного определения офлоксацина в лекарственной форме на основе геля «Тизоль» и провели её валидацию. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Для цитирования:** Кобелева Т. А., Сичко А. И., Замаева А. И., Бессонова Н. С. Разработка способа анализа офлоксацина в комплексном препарате «Офлоксазоль». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):70–75. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-70-75>

## Development of a Method of Analysis of Ofloxacin in the Complex Preparation "Ofloxazol"

Tatyana A. Kobeleva<sup>1\*</sup>, Alik I. Sichko<sup>1</sup>, Anna I. Zamaraeva<sup>1</sup>, Natalya S. Bessonova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tyumen State Medical University, 54, Odesskaya str., Tyumen, 625023, Russia

\*Corresponding author: Tatyana A. Kobeleva. E-mail: kobeleva@tyumsmu.ru

ORCID: Tatyana A. Kobeleva – <https://orcid.org/0000-0003-1004-8721>; Alik I. Sichko – <https://orcid.org/0000-0002-2200-7807>; Anna I. Zamaraeva – <https://orcid.org/0000-0002-8527-2966>; Natalya S. Bessonova – <https://orcid.org/0000-0002-5014-0736>.

Received: 26.02.2021

Revised: 29.03.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** The creation of new effective antibacterial drugs for the treatment and prevention of purulent-inflammatory diseases is an urgent task of modern pharmacy. Active use in the treatment of purulent infection is found by chemotherapeutic agents from the class of fluoroquinolones, which include ofloxacin.

**Aim.** Development of a method for the quantitative determination of ofloxacin in the complex preparation "Ofloxazol".

**Materials and methods.** For the analysis, the substance ofloxacin, titanium-containing gel "Tizol", solutions of ofloxacin on 95 % ethanol, hydrochloric acid 0.01 mol/l, ointment under the conditional name "Ofloxazol" containing 0.5 % of the drug in the gel "Tizol" were used. The study was carried out by near-UV spectrophotometry.

**Results and discussion.** When studying the absorption spectra, it was found that for the quantitative spectrophotometric analysis of ofloxacin, it is rational to use the wavelength range of 275–320 nm ( $\lambda_{\text{max}} = 294$  nm). Statistical processing of the analysis results showed that the relative error of quantitative determination does not exceed  $\pm 1.66$  %. The sensitivity of the determination of ofloxacin is 0.245 mcg/ml at  $A(\text{min}) = 0.02$ . The

© Кобелева Т. А., Сичко А. И., Замаева А. И., Бессонова Н. С., 2021

© Kobeleva T. A., Sichko A. I., Zamaraeva A. I., Bessonova N. S., 2021

developed method is validated. Its specificity, linearity, correctness and precision are confirmed. According to the calibration schedule, the content of ofloxacin in the soft dosage form is determined, it is in the range of 0.0483–0.0562 g, which corresponds to the permissible deviations.

**Conclusion.** The conducted studies allowed us to develop and propose a method for the quantitative determination of ofloxacin in the ointment "Ofloxazol", obtained on a titanium-containing basis. The method allows you to evaluate the quality of manufacturing the dosage form, including setting the content of the drug with an error that does not exceed the standard deviations.

**Keywords:** ofloxacin, Tizol gel, ointment, spectrophotometry, quantitative analysis

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Tatyana A. Kobeleva, Alik I. Sichko studied the optical characteristics and selected the optimal conditions for the spectrophotometric analysis of ofloxacin in the ointment. Natalya S. Bessonova, Anna I. Zamaraeva developed a method for the quantitative determination of ofloxacin in the dosage form based on the "Tizol" gel and performed its validation. All the authors took part in the discussion of the results and writing the text of the article.

**For citation:** Kobeleva T. A., Sichko A. I., Zamaraeva A. I., Bessonova N. S. Development of a method of analysis of ofloxacin in the complex preparation "Ofloxazol". *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):70–75. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-70-75>

## ВВЕДЕНИЕ

Лечение и профилактика гнойно-воспалительных заболеваний во многом зависит от эффективности применяемых лекарственных средств. *Офлоксацин* – синтетическое антибактериальное средство из класса фторхинолонов. Лекарственный препарат активен по отношению к грамотрицательным и грамположительным бактериям. Проявляя антимикробное действие, офлоксацин используется при тяжелых заболеваниях дыхательных, мочевыводящих путей, при инфекциях ЛОР-органов и глаз [1, 2].

Мягкая лекарственная форма, состоящая из 0,05 г офлоксацина и геля «Тизоль» до 10 г под условным наименованием «Офлоксазоль», может найти применение в дерматологической и стоматологической практиках, в терапии офтальмологических и гинекологических заболеваний. Титансодержащий гель «Тизоль» будет доставлять лекарственный препарат в патологический очаг и как биологически активное вещество совместно с офлоксацином оказывать бактерицидное, анальгетическое, противовоспалительное, антисептическое пролонгированное действия [3].

**Целью нашей работы** является предложение способа количественного определения офлоксацина в комплексном препарате «Офлоксазоль» с использованием спектрофотометрии, которая уже применяется в анализе мягких лекарственных форм на титансодержащей основе [4, 5].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе применяли субстанцию офлоксацина, соответствующую по качеству нормативной документации. Объектом исследования была мягкая лекарственная форма «Офлоксазоль», содержащая 0,5 % офлоксацина в геле «Тизоль». Экспериментальную работу проводили с применением спектрофотометра СФ-2000 (ЗАО «ОКБ Спектр», г. Санкт-Петербург, Россия),  $l = 1$  см.

Чувствительность анализа оценивали через открываемый минимум в мкг/мл по формуле:

$$C(\min) = \frac{A(\min)}{b}, \quad (1)$$

где  $b$  – угловой коэффициент градуировочной прямой.

При спектрофотометрическом определении офлоксацина концентрацию его находили по градуировочному графику. Для построения графика готовили 0,02%-й раствор препарата в этаноле. Далее к переменному количеству миллилитров (от 0,2 до 1,2 мл) приготовленного раствора добавляли этанол до общего объема 25 мл и измеряли оптические плотности растворов при длине волны 294 нм. По полученным данным строили градуировочную прямую в координатах  $A - C$ , мкг/мл. Для получения достоверных результатов провели восемь параллельных опытов, анализируя этанольный раствор офлоксацина с содержанием 6,4 мкг/мл. Массовую долю офлоксацина в процентах рассчитывали по формуле:

$$W = \frac{C(x) \cdot V(\text{исх}) \cdot V_2 \cdot 100}{10^6 \cdot a(\text{офл}) \cdot V_1}, \quad (2)$$

где  $C(x)$  – концентрация офлоксацина, рассчитанная по уравнению градуировочного графика, мкг/мл;  $V(\text{исх})$  – объем этилового спирта, 100 мл;  $V_1, V_2$  – фактор разбавления, 0,8 мл и 25 мл;  $a(\text{офл})$  – навеска офлоксацина, 0,02 г.

Для разработки способа количественного определения офлоксацина в мази «Офлоксазоль» готовили модельную смесь с учетом растворимости лекарственного препарата в этаноле (офлоксацина 0,05 г, этанола 200 мл). Методика исследования следующая: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 4 мл модельного раствора и этанолом доводят объем жидкости в колбе до метки. Далее 4 мл полученного раствора переносят в мерную колбу емкостью 25 мл,

этиловым спиртом доводят объем в колбе до метки и измеряют оптическую плотность смеси при длине волны 294 нм. Массу лекарственного препарата в модельном растворе находят по формуле:

$$m(\text{офл}) = \frac{C(x) \cdot V(\text{исх}) \cdot V_2 \cdot V_3}{10^6 \cdot V \cdot V_1}, \quad (3)$$

где  $m(\text{офл})$  – масса офлоксацина, г;  $V(\text{исх})$  – объем модельного раствора, 200 мл;  $V$  – объем модельного раствора, взятый на анализ, 4 мл;  $V_1, V_2, V_3$  – кратность разбавления, 4, 25 и 25 мл соответственно.

Количественное определение офлоксацина в мягкой лекарственной форме осуществляли следующим образом: к точной навеске мази (около 100 мг) прибавляли 1 мл 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты и этанола до общего объема 50 мл. Полученную дисперсную систему фильтровали через бумажный фильтр. К 6 мл фильтрата прибавляли этиловый спирт до общего объема 10 мл и проводили измерение светопоглощения смеси при  $\lambda = 294$  нм по отношению к этанольному экстракту из геля «Тизоль», полученному аналогично исследованию офлоксацина. Концентрацию препарата в пробе (мкг/мл) находили по уравнению градуировочного графика, а содержание его в мази рассчитывали по формулам:

$$m(\text{офл}) = \frac{C(x) \cdot V(\text{исх}) \cdot V_2 \cdot B}{10^6 \cdot a(\text{мази}) \cdot V_1}, \quad (4)$$

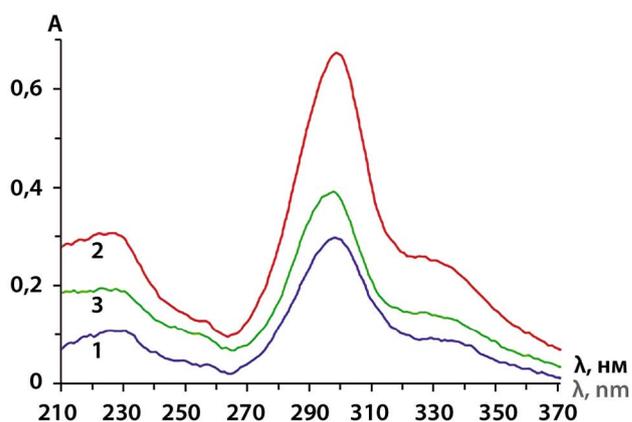
$$W = \frac{C(x) \cdot V(\text{исх}) \cdot 100 \cdot V_2}{10^6 \cdot a(\text{мази}) \cdot V_1}, \quad (5)$$

где  $a(\text{мази})$  – навеска мази, взятая на анализ, г;  $B$  – масса лекарственной формы, 10,0 г;  $V_1, V_2$  – фактор разбавления, 6 и 10 мл соответственно;  $V(\text{исх})$  – объем этилового спирта, содержащий навеску мази, 50 мл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении УФ-спектров установили, что для количественного спектрофотометрического определения офлоксацина в лекарственной форме «Офлоксазоль» рационально использовать полосы поглощения в пределах длин волн 288–298 нм (рисунок 1).

Исходя из структуры основы можно предположить образование соли за счет химических связей титана(IV) с карбоксильной группой в лекарственном препарате. При изучении этанольного раствора офлоксацина из мази установлено, что УФ-спектр поглощения его аналогичен спектру чистого лекарственного препарата в данной среде ( $\lambda = 294$  нм). Предполагаемые химические связи в мази не будут сказываться на  $\lambda_{\text{max}}$ .



**Рисунок 1.** Зависимость поглощения этанольного раствора офлоксацина от длины волны. Влияние геля «Тизоль» на УФ-спектр:

1 – концентрация офлоксацина  $1,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л; 2 – концентрация офлоксацина  $2,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л; геля «Тизоль»  $1,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 3 – этанольная вытяжка офлоксацина из мази,  $C = 1,3 \cdot 10^{-5}$  моль/л

**Figure 1.** The dependence of the absorption of the ethanol solution of ofloxacin on the wavelength. Effect of Tizol gel on the UV spectrum:

1 – ofloxacin concentration  $1.0 \cdot 10^{-5}$  mol/l; 2 – ofloxacin concentration  $2.0 \cdot 10^{-5}$  mol/l; Tizol gel  $1.0 \cdot 10^{-4}$  mol/l; 3 – ofloxacin ethanol extract from ointment,  $C = 1.3 \cdot 10^{-5}$  mol/l

Анализ специфичности проводили с помощью раствора «плацебо» согласно методике количественного определения. На полученных спектрах не наблюдалось пиков, характерных для стандартного раствора офлоксацина.

Линейность методики в аналитической области проверяли экспериментально измерением оптической плотности и концентрации офлоксацина (1,6; 3,2; 4,8; 6,4; 8,0; 9,6 мкг/мл), используя результаты не менее пяти параллельных опытов. На основании экспериментальных данных провели регрессионный анализ (таблица 1) и оценку статистической незначимости свободного члена линейной зависимости (таблица 2). Линейность считали приемлемой при значениях коэффициента корреляции  $|r| \geq 0,99$ .

**Таблица 1.** Вычисление коэффициентов регрессии

**Table 1.** Calculating regression coefficients

$x_i$ , мкг/мл $x_i$ , mcg/ml	$y_i$	$x_i \cdot y_i$	$x_i^2$	$y_i^2$	$b$	$C$ , мкг/мл $C$ , mcg/ml
1,6	0,13	0,208	2,56	0,017	0,0817	0,245
3,2	0,29	0,928	10,24	0,084		
4,8	0,39	1,872	23,04	0,152		
6,4	0,52	3,328	40,96	0,270		
8,0	0,65	5,200	64,00	0,423		
9,6	0,78	7,488	92,16	0,608		
33,6	2,76	19,024	232,96	1,554		

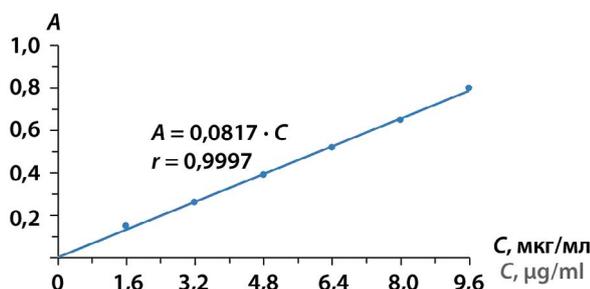
**Таблица 2.** Оценка статистической незначимости свободного члена линейной зависимости

**Table 2.** Estimation of the statistical significance of the free term of the linear dependence

$y = bx + a$	$r$	$ a  \leq t(P; f) \cdot S_a$ при $P = 95\%$ $ a  \leq t(P; f) \cdot S_a$ at $P = 95\%$	$y = bx$
$y = 0,0871x + 0,014$	0,9997	$0,014 < 0,039$	$y = 0,0817x$

В ходе исследования установили, что чувствительность анализа офлоксацина составляет 0,245 мкг/мл при  $A(\min) = 0,02$ , величина коэффициента корреляции удовлетворяет условию  $|r| \geq 0,99$ .

Градуировочный график строили на основании данных, приведенных в таблице 1. На графике наблюдается линейная зависимость между концентрацией офлоксацина и оптической плотностью (рисунок 2). Это свидетельствует о подчинении растворов офлоксацина закону Бугера – Ламберта – Бера в пределах концентраций 0,7–9,6 мкг/мл и позволяет анализировать офлоксацин спектрофотометрическим методом в мягкой лекарственной форме.



**Рисунок 2.** Градуировочный график линейной зависимости оптической плотности от концентрации офлоксацина в растворе

**Figure 2.** Calibration graph of the linear dependence of the optical density on the concentration of ofloxacin in solution

Оценку прецизионности валидируемой методики проводили, используя искусственные смеси офлоксацина. Повторяемость оценивали по результатам, полученным в одинаковых лабораторных условиях в короткий промежуток времени. Внутривлабораторная прецизионность оценивалась в разные дни с участием двух аналитиков. Данные статистически обработали (таблица 3).

Правильность методики оценивали, используя средние результаты, представленные в таблице 3. Полученные значения  $x$  не выходят за пределы  $100 \pm 2,0\%$ .

На основании проведенных опытов разработали методику количественного определения содержания офлоксацина в модельной лекарственной форме. Полученные результаты опытов представлены в таблице 4.

**Таблица 4.** Результаты анализа офлоксацина в модельной лекарственной форме способом уравнения градуировочного графика ( $A = 0,0817 \cdot C$ )

**Table 4.** Results of the analysis of ofloxacin in the model dosage form by the method of the equation of the calibration graph ( $A = 0.0817 \cdot C$ )

Оптическая плотность Optical density	C, мкг/мл C, mcg/ml	Найдено Found		Допустимые нормы Acceptable standards	
		%	г g	%	г g
0,52	6,36	0,50	0,0497	±20,0	0,040–0,060
0,50	6,12	0,48	0,0478		
0,51	6,24	0,49	0,0488		
0,54	6,61	0,52	0,0516		
0,49	6,00	0,47	0,0469		
0,56	6,85	0,54	0,0535		

**Таблица 3.** Результаты спектрофотометрического анализа офлоксацина

**Table 3.** Results of spectrophotometric analysis of ofloxacin

Первый день The first day			Второй день Second day			Метрологические характеристики Metrological characteristics
A	Найдено Found		A	Найдено Found		
	C, мкг/мл C, mcg/ml	$x_i(W), \%$		C, мкг/мл C, mcg/ml	$x_i(W), \%$	
0,515	6,30	98,44	0,537	6,57	102,70	Первый день The first day $\bar{x} = 100,76\%$ $S = 1,991, S\bar{x} = 0,704$ $\epsilon_a = 1,66, \Delta = \pm 1,65\%$ $x = 100,76 \pm 1,66\%$ Второй день Second day $\bar{x} = 99,83\%$ $S = 1,986, S\bar{x} = 0,702$ $\epsilon_a = 1,66, \Delta = \pm 1,66\%$ $x = 99,83 \pm 1,66\%$
0,520	6,36	99,38	0,538	6,59	102,90	
0,540	6,61	103,28	0,520	6,36	99,38	
0,515	6,30	98,44	0,513	6,28	98,15	
0,525	6,43	100,47	0,515	6,30	98,44	
0,540	6,61	103,28	0,525	6,43	100,47	
0,530	6,45	101,41	0,515	6,30	98,44	
0,520	6,36	99,38	0,513	6,28	98,15	

Масса офлоксацина в модельном растворе находится от 0,0469 до 0,0535 г при допустимых пределах 0,040–0,060 г [6].

Анализ офлоксацина проводили в этанольной вытяжке, полученной из точной навески мази «Офлоксазоль». Как показали опытные данные, из-за малой растворимости лекарственного препарата в этанол переходит около 40 % офлоксацина, а массовая доля его в процентах увеличивается в присутствии кислоты. Поэтому необходимо выбирать оптимальные условия количественного определения офлоксацина. Исследования проводили в присутствии различных объемов 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты, введенных в этанол. По результатам опытов рассчитывали массовую долю офлоксацина, перешедшего в этанольную вытяжку при различных соотношениях водной и этанольной среды (таблица 5).

**Таблица 5.** Данные по выбору оптимальных условий анализа офлоксацина

**Table 5.** Data on the choice of optimal conditions for the analysis of ofloxacin

Взято Taken		Объем Volume		Оптическая плотность Optical density	Найдено (W), % Found (W), %
<i>m</i> (мази), г <i>m</i> (ointment), g	<i>m</i> (тизоль), г <i>m</i> (tizoil), g	0,01 моль/л HCl, 0,01 mol/l HCl, ml	этанола, мл ethanol, ml		
0,1050	0,1044	0	50,0	0,20 0,21	38,80 40,80
0,1041	0,1044	0,5	49,5	0,25 0,26	49,00 51,00
0,1041	0,1044	1,0	49,0	0,51 0,52	99,80 101,80
0,1035	0,1044	1,5	48,5	0,48 0,46	94,80 90,80

Из результатов опытов (таблица 5) установлено, что при введении в исследуемый раствор 1 мл 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты в водно-этанольную среду из геля «Тизоль» переходит около 100 % лекарственного препарата.

На основании проведенного исследования разработали способ количественного анализа офлоксацина в мази «Офлоксазоль». Содержание препарата в лекарственной форме находится в пределах 0,0483–0,0562 г (таблица 6).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбраны оптимальные условия проведения количественного спектрофотометрического анализа офлоксацина в мази. Проведены опыты и разработан

способ количественного определения офлоксацина в модельной смеси с относительной ошибкой, не превышающей ±1,66 %. Предложена и валидирована методика спектрофотометрического анализа офлоксацина в мази на основе геля «Тизоль» с ошибкой, входящей в пределы нормативных отклонений. По результатам исследования валидационные характеристики (специфичность, линейность, правильность, прецизионность) соответствуют критериям приемлемости. Разработанный способ фармацевтического анализа офлоксацина в мягкой лекарственной форме «Офлоксазоль» рационально использовать для включения в нормативную документацию по оценке качества приготовления мази.

**Таблица 6.** Результаты количественного определения офлоксацина в мази способом уравнения градуировочного графика ( $A = 0,0817 \cdot C$ )

**Table 6.** The results of the quantitative determination of ofloxacin in the ointment by the method of the equation of the calibration graph ( $A = 0.0817 \cdot C$ )

Взято, г Taken, g		Результаты опытов Results of experiments				Нормы отклонений Standards of deviations			
мази ointments	тизоль tizoil	A	C, мкг/мл C, mcg/ml	m, г m, g	W, %	г g	%		
<i>Мазь из субстанции офлоксацина</i> <i>Ointment from the substance ofloxacin</i>									
0,1015	0,1040	0,48	5,88	0,0483	0,48	0,040–0,060	±20,0		
0,1015	0,1040	0,52	6,36	0,0522	0,52				
0,1015	0,1040	0,56	6,85	0,0562	0,56				
0,1015	0,1040	0,51	6,24	0,0512	0,51				
<i>Мазь из таблеток ООО «Озон»</i> <i>Ointment from tablets of Ozon LLC</i>									
0,1041	0,1045	0,52	6,36	0,0509	0,51				
0,1041	0,1045	0,51	6,24	0,0500	0,50				
0,1041	0,1045	0,50	6,12	0,0490	0,49				
0,1041	0,1045	0,53	6,49	0,0520	0,52				

## ЛИТЕРАТУРА

- Донцова Л. П., Эвич Н. И., Рюмина Т. Е., Одегова Т. Ф., Донцова Н. А. Мазь офлоксацина в лечении инфицированных ран. *Вестник РУДН. Серия: Медицина*. 2008;7:145–149.
- Сидоренко С. В. Фторхинолоны: свойства и клиническое применение. *Трудный пациент*. 2011;9(5):21–27.
- Махотина М. В., Петров А. Ю. Сравнительный анализ технологического изготовления мазей на основе Тизоля. Материалы XIV-й международной научно-практической конференции «Фундаментальная наука и технологии – перспективные разработки». *North Charleston, USA*. 2018;2:96–98.
- Кобелева Т. А., Сичко А. И., Замараева А. И., Бессонова Н. С. Исследования в области спектрофотометрического анализа нового лекарственного препарата «Метроклотримид»

золь», приготовленного на титансодержащей основе. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2020;1:89–95.

5. Замараева А. И., Бессонова Н. С., Кобелева Т. А., Сичко А. И. Количественный анализ и стабильность новой лекарственной формы «Метронидазол». *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2020;19(2):155–162.
6. Федеральный закон Российской Федерации № 751н от 26 октября 2015 г. «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность». Доступно по: <https://minzdrav.gov.ru/documents/9500-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rf-ot-26-oktyabrya-2015-g-751n-ob-utverzhenii-pravil-izgotovleniya-i-otpuska-lekarstvennyh-preparatov-dlya-meditsinskogo-primeneniya-aptechnymi-organizatsiyami-individualnymi-predprinimatelnyami-imeyuschimi-litsenziyu-na-farmatsevticheskuyu-deyatelnost>. Ссылка активна на 19.03.2021.

## REFERENCES

1. Dontsova L. P., Evich N. I., Ryumina T. E., Odegova T. F., Dontsova N. A. The ointment of ophloxacin in the treatment of infected wounds. *RUDN Journal of Medicine*. 2008;7:145–149. (In Russ.)
2. Sidorenko S. V. Fluoroquinolones: properties and clinical application. *Trudny patient*. 2011;9(5):21–27. (In Russ.)
3. Makhotina M. V., Petrov A. Yu. *Sravnitel'nyy analiz tekhnologiy eks-temporal'nogo izgotovleniya mazey na osnove Tizolya. Materials XIV-y mezhduнародnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii "Fundamental'naya nauka i tekhnologii – perspektivnye razrabotki"* [Comparative analysis of technologies for the extemporal manufacture of ointments based on Tizol. XIV-th international scientific-practical conference "Fundamental science and technology – promising developments"]. *North Charleston, USA*. 2018;2:96–98. (In Russ.)
4. Kobeleva T. A., Sichko A. I., Zamaraeva A. I., Bessonova N. S., Research in the field of spectrophotometric analysis of a new tita-niferous drug "Metroclotrimazole". *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'e" = Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and his health"*. 2020;1:89–95. (In Russ.)
5. Zamaraeva A. I., Bessonova N. S., Kobeleva T. A., Sichko A. I. Quantitative analysis and stability of the new dosage form "Metronidazole". *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii = Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*. 2020;19(2):155–162. (In Russ.)
6. Federal Law of Russian Federation № 751n of 26 October 2015. "Ob utverzhenii pravil izgotovleniya i otpuska lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya aptechnymi organizatsiyami, individual'nymi predprinimatelnyami, imeyuschimi litsenziyu na farmatsevticheskuyu deyatelnost'" ["On approval of the rules for the manufacture and release of medicines for medical use by pharmacy organizations, individual entrepreneurs who have a license for pharmaceutical activities"]. Available at: <https://minzdrav.gov.ru/documents/9500-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rf-ot-26-oktyabrya-2015-g-751n-ob-utverzhenii-pravil-izgotovleniya-i-otpuska-lekarstvennyh-preparatov-dlya-meditsinskogo-primeneniya-aptechnymi-organizatsiyami-individualnymi-predprinimatelnyami-imeyuschimi-litsenziyu-na-farmatsevticheskuyu-deyatelnost>. Accessed: 19.03.2021. (In Russ.)



Оригинальная статья / Research article

## Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе новой субстанции VMA-10-18

Е. С. Мищенко<sup>1\*</sup>, Д. С. Лазарян<sup>1</sup>, А. Д. Лазарян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПМФИ, филиал ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России), 357532, Россия, г. Пятигорск-32, пр. Калинина, д. 11

\* Контактное лицо: Мищенко Екатерина Сергеевна. E-mail: [ekaterina-mischenko1809@mail.ru](mailto:ekaterina-mischenko1809@mail.ru)

ORCID: Е. С. Мищенко – <https://orcid.org/0000-0001-7778-8391>; Д. С. Лазарян – <https://orcid.org/0000-0002-9983-8393>; А. Д. Лазарян – <https://orcid.org/0000-0003-0364-0807>.

Статья поступила: 04.03.2021

Статья принята в печать: 07.04.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Лекарственные препараты производных хиназолина обладают широким спектром фармакологических свойств, что делает эту группу достаточно уникальной среди остальных классов гетероциклических соединений. Субстанция VMA-10-18, обладающая церебровасодилатирующим, антидепрессивным, анксиолитическим и ноотропным свойствами, может стать новым перспективным лекарственным препаратом. В связи с этим актуальной задачей является разработка методик стандартизации данной субстанции.

**Цель.** Разработка и валидация методики количественного определения родственных примесей в новой биологически активной субстанции VMA-10-18 (Хиназофен) методом ВЭЖХ.

**Материалы и методы.** Для разработки условий хроматографического анализа использовали высокоочищенную субстанцию 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она, а также ее родственные примеси: примесь I [исходный незамещенный хиназолин-4(3H)-он] и примесь II (4-метоксихлорацетанилид). В качестве растворителя использовали спирт этиловый 95%. Хроматограф Dionex UltiMate 3000 (Dionex, США) со спектрофотометрическим детектором. Система сбора и обработки данных Chromeleon v.7. Подвижная фаза – смесь ацетонитрила и ортофосфорной кислоты. Анализ выполняли в изократическом режиме.

**Результаты и обсуждение.** Разработаны оптимальные условия хроматографирования субстанции VMA-10-18 и ее примесей. Установлено, что для четкого разделения пиков субстанции и примесей между собой подвижная фаза должна содержать ацетонитрил и ортофосфорную кислоту в соотношении 80:20. Валидацию разработанной методики проводили с учетом требования ГФ XIV издания и рекомендациям ИСН. Подтверждена специфичность, линейность, правильность и прецизионность разработанной методики. Линейность и правильность методики определяли на 7 уровнях концентраций. Коэффициент корреляции превысил значение 0,99. Свободный член уравнения линейной зависимости ( $a$ ) для обеих примесей был меньше его доверительного интервала ( $\Delta a$ ), что доказывает отсутствие систематической погрешности методики. При определении показателя «Сходимость» рассчитанное относительное стандартное отклонение не превышало 2%. При определении внутрилабораторной прецизионности рассчитывали  $t$ -критерий Стьюдента и  $F$ -критерий Фишера. Оба показателя отвечали заявленным требованиям.

**Заключение.** Разработана и валидирована методика количественного определения примесей в субстанции VMA-10-18 методом ВЭЖХ.

**Ключевые слова:** хиназолин-4(3H)-он, субстанция VMA-10-18, Хиназофен, незамещенный хиназолин-4(3H)-он, ВЭЖХ, валидация

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Е. С. Мищенко выполнила разработку методики, определение количественного содержания определяемых примесей в исследуемой субстанции, статистическую обработку полученных результатов анализа. Д. С. Лазарян разработал концепцию, провел статистическую обработку и интерпретацию результатов. А. Д. Лазарян сделала статистическую обработку результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Для цитирования:** Мищенко Е. С., Лазарян Д. С., Лазарян А. Д. Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе новой субстанции VMA-10-18. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):76–81. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-76-81>

## Use of High Performance Liquid Chromatography in the Analysis of a New Substance VMA-10-18

Ekaterina S. Mischenko<sup>1\*</sup>, John S. Lazaryan<sup>1</sup>, Anush Jh. Lazaryan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinina av., Pyatigorsk-32, 357532, Russia

\*Corresponding author: Ekaterina S. Mischenko. E-mail: [ekaterina-mischenko1809@mail.ru](mailto:ekaterina-mischenko1809@mail.ru)

ORCID: Ekaterina S. Mischenko – <https://orcid.org/0000-0001-7778-8391>; John S. Lazaryan – <https://orcid.org/0000-0002-9983-8393>; Anush Jh. Lazaryan – <https://orcid.org/0000-0003-0364-0807>.

Received: 04.03.2021

Revised: 07.04.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Quinazoline derivatives have a wide range of pharmacological properties, which makes this group quite unique among other classes of heterocyclic compounds. Substance VMA-10-18, which has cerebrovasodilating, antidepressant, anxiolytic and nootropic properties, may become a promising new drug. In this regard, an urgent task is to develop methods for standardizing this substance.

**Aim.** Development of a method for the quantitation of related impurities of a new biologically active substance VMA-10-18 (Quinazophene) by HPLC with subsequent statistical processing of the results.

© Мищенко Е. С., Лазарян Д. С., Лазарян А. Д., 2021

© Mischenko E. S., Lazaryan J. S., Lazaryan A. Jh., 2021

**Materials and methods.** To develop the conditions for chromatographic analysis, was used a highly purified substance 3-[2-(4-methoxyphenylamino)-2-oxoethyl]-quinazolin-4(3H)-one, as well as its related impurities: impurity I (unsubstituted quinazolin-4(3H)-one) and impurity II (4-methoxychloroacetanilide). Test solutions were prepared using volumetric glassware of accuracy class 1. Ethyl alcohol 95 % was used as a solvent. Chromatography was performed using a Dionex UltiMate 3000 system (Dionex, United States) with a spectrophotometric detector. The analysis was carried out at a wavelength of 231 nm. Data collection and processing was carried out using the Chromeleon v.7 system. A mixture of acetonitrile and orthophosphoric acid was used as a mobile phase. The analysis was performed in an isocratic mode. The validation of the developed method was carried out taking into account the requirements of the State Pharmacopeia of Russian Federation XIV edition and the recommendations of the ICH.

**Results and discussion.** The optimal conditions for chromatography of the VMA-10-18 substance and its impurities have been developed. It was found that for a clear separation of the peaks of the substance and impurities among themselves, the mobile phase should contain acetonitrile and orthophosphoric acid in a ratio of 80:20. The specificity of the method was determined by chromatography of ethyl alcohol in order to exclude its influence on the analysis results. The linearity and correctness of the method were determined at 7 levels of concentration of impurities of the substance. The correlation coefficient has exceeded 0.99. Also, the free term of the linear dependence equation ( $a$ ) for both impurities was less than its confidence interval ( $\Delta a$ ), which proves the absence of a systematic error of the method. When determining the "Convergence" indicator, the calculated relative standard deviation did not exceed 2 %. When determining the intralaboratory precision, Student's t-test and Fisher's F-test were calculated. Both indicators met the stated requirements.

**Conclusion.** A method for the quantitative determination of impurities in the VMA-10-18 substance by HPLC has been developed and validated.

**Keywords:** quinazolin-4(3H)-one, substance VMA-10-18, Quinazophene, unsubstituted quinazolin-4(3H)-one, HPLC, validation

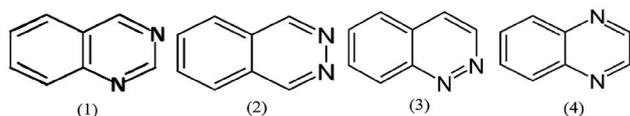
**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Ekaterina S. Mishchenko performed the development of a method, determination of the quantitative content of determined impurities in the substance under study, statistical processing of the obtained analysis results. John S. Lazaryan developed the concept development, statistical processing and interpretation of results. Ahush Jh. Lazaryan did the statistical processing of the results. All authors took part in the discussion of the results and writing the text of the article.

**For citation:** Mischenko E. S., Lazaryan J. S., Lazaryan A. Jh. Use of high performance liquid chromatography in the analysis of a new substance VMA-10-18. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):76–81. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-76-81>

## ВВЕДЕНИЕ

Производные хиназолина являются представителями обширного класса азотсодержащих соединений, а именно бензодиазинов. По своему химическому строению бензодиазины представляют собой конденсированные соединения, содержащие бензольное и диазиновое кольцо [1]. Диазиновое ядро может существовать в 4 изомерных формах, а именно: хиназолина (1), фталазина (2), циннолина (3) и хиноксалина (4).

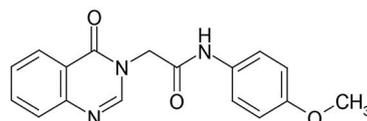


В отличие от других форм, которые обладают основными свойствами, только хиназолин имеет способность присоединять воду. Способность катиона хиназолия к реакциям нуклеофильного и электрофильного замещения говорит о высокой реакционной способности существующих и предполагаемых производных хиназолина [2].

Анализ литературных источников показал, что на данный момент синтезировано большое количество производных хиназолина, которые проявляют выраженную фармакологическую активность, а именно: антигипертензивную [3], противовоспалительную [4], противосудорожную [5], противоопухолевую [6–8], что свидетельствует о перспективности

применения данной группы соединений в медицинской практике.

Исследуемое нами соединение относится к производным хиназолин-4(3H)-она со структурной формулой:



Данное соединение синтезировано на кафедре фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета [9]. Лабораторный шифр: VMA-10-18. Химическая формула: 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она [4–6].

В результате доклинических испытаний исследуемая субстанция проявила себя как церебровасодилатирующее, антидепрессивное, анксиолитическое и ноотропное средство. По своим фармакологическим эффектам субстанция выгодно отличается от известных, широко применяемых при хронической недостаточности мозгового кровообращения препаратов: винпоцетина, ницерголина, циннаризина, которые подобных эффектов не оказывают [10, 11].

Так как исследуемый объект является новым соединением, очень важно провести его стандартизацию с помощью физико-химических методов. В насто-

ящий момент передовым методом контроля является высокоэффективная жидкостная хроматография с использованием современного оборудования [12].

**Цель работы.** Разработка и валидация методики определения родственных примесей субстанции VMA-10-18 (Хиназофен) методом ВЭЖХ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Реактивы

В качестве исследуемого соединения мы использовали высокоочищенную субстанцию 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она. Для разработки методики использовали родственные примеси субстанции, а именно: примесь I [исходный хиназолин-4(3H)-он] и примесь II (4-метоксифлор-ацетанилид). Для приготовления рабочих и стандартных растворов использовали спирт этиловый 95 %. Для разработки оптимального состава подвижной фазы использовали ацетонитрил ОСЧ 4 (ТУ-2634-002-80529938-2015) и кислоту ортофосфорную 85 % (ГОСТ 6552-58).

### Приборы и условия анализа

Для разработки методики хроматографического анализа нами было использовано следующее оборудование: хроматографическая система Dionex UltiMate 3000 (Dionex, США) со спектрофотометрическим детектором. Анализ проводили при длине волны 231 нм. Сбор и обработка данных проводились с использованием системы Chromeleon v.7.

Центрифугирование проб перед анализом проводилось на лабораторной центрифуге с принадлежностями SIGMA 2-16P (Sigma Laborzentrifugen GmbH, Германия) при 8000 мин<sup>-1</sup> в течение 3 мин, затем испытуемые растворы фильтровались через Nylon Membrane Syringe Filters диаметром 25 мм и размером пор 0,2 мм (Phenomenex, США).

Для приготовления рабочих растворов использовалась мерная посуда 1-го класса точности.

### Условия хроматографического анализа

В качестве подвижной фазы нами была использована смесь ацетонитрила и ортофосфорной кислоты в соотношении 80:20. Анализ выполняли в изократическом режиме с использованием колонки Luna размером 150 × 4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм. Детектирование проводили при 231 нм. Время анализа 20 минут. Температура колонки 25 °С, температура образца 25 °С. Объем пробы 20 мкл. Скорость потока 0,8 мл/мин.

### Приготовление исследуемых растворов стандартных образцов

Для выбора оптимальной системы хроматографирования готовили растворы стандартного образца субстанции VMA-10-18 с концентрацией 0,5 мг/мл,

раствор примеси I и примеси II с концентраций 0,5 мкг/мл соответственно, а также их модельные смеси.

Оценку методики по показателям «Линейность» и «Правильность» проводили с помощью модельных растворов. Концентрация для каждой примеси составила 0,05; 0,25; 0,5; 0,75; 0,1; 1,25 и 1,5 мкг/мл соответственно.

Определение сходимости и внутрилабораторной прецизионности проводили с использованием модельной смеси с содержанием каждой примеси 0,5 мкг/мл.

Валидацию разработанных методик проводили согласно требованиям ГФ XIV издания и рекомендациям ICH [13, 14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для подтверждения пригодности методики нами были исследованы модельные смеси исследуемой субстанции и ее предполагаемых примесей. Полученная хроматограмма представлена на рисунке 1.

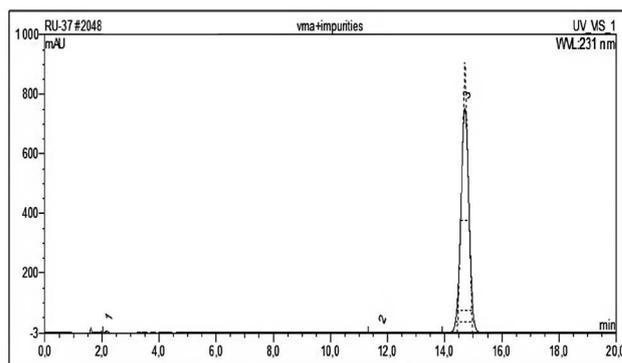


Рисунок 1. Хроматограмма модельной смеси субстанции VMA-10-18 и ее родственных примесей

Figure 1. Chromatogram of a model mixture of VMA-10-18 and its related impurities

**Специфичность.** В первую очередь нами было проведено хроматографирование спирта этилового 95 % с целью определения системных пиков. На хроматограмме растворителя отсутствовали пики, мешающие определению анализируемых соединений. Стрессовые исследования показали, что при воздействии на рабочий раствор субстанции повышенной температурой (60 °С в течение 3 часов), УФ-светом (400 нм в течение суток), а также концентрированными растворами кислот и щелочей (кислота хлористоводородная и гидроксид натрия соответственно) возможные продукты деградации не влияли на результаты исследования. Пики примесных соединений хорошо разделялись между собой, а также с исследуемой субстанцией VMA-10-18. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что методика обладает достаточной специфичностью.

Выбор оптимальных условий для хроматографического анализа проводили исходя из следующих требований: время удерживания ( $t_{уд.}$ ); коэффициент разделения ( $R_s$ ); коэффициент асимметрии ( $A_s$ ); количество теоретических тарелок ( $N$ ), а также относительное стандартное отклонение площадей пиков (RSD, %). Результаты определения пригодности хроматографической системы представлены в таблице 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что хроматографическая система является пригодной для анализа, так как все определяемые параметры соответствуют предъявляемым требованиям

**Линейность.** Линейность методики исследована на 7 уровнях концентрации. Полученные данные представлены на рисунке 2. В таблице 2 представлены метрологические характеристики полученных линейных зависимостей.

Исходя из данных таблицы 2 и рисунка 2, можно сделать вывод о том, что разработанная методика обладает линейной зависимостью во всей аналитической области, так как коэффициенты корреляции отвечают заявленным требованиям ( $r \geq 0,99$ ) и зависимости визуально линейные. Для обеих примесей выполняется неравенство: абсолютное значение свободного члена уравнения линейной зависимости ( $a$ ) меньше его доверительного интервала ( $\Delta a$ ). Это доказывает отсутствие систематической погрешности методики. Таким образом, методика обладает необходимой линейностью и правильностью.

Таблица 2. Показатели линейной регрессии

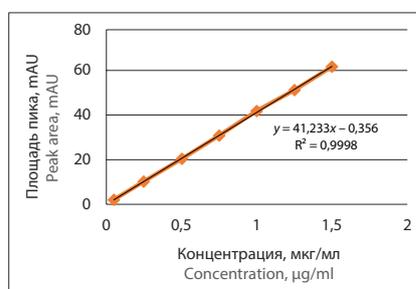
Table 2. Indicators of linear regression

Примесь I Impurity I		Примесь II Impurity II	
Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Площадь пика, mAU Peak area, mAU	Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Площадь пика, mAU Peak area, mAU
0,0497	9,357	0,0495	2,065
0,2479	53,474	0,2478	10,174
0,4989	99,102	0,5013	20,374
0,7496	143,489	0,7495	30,751
0,9989	198,921	0,9978	41,767
1,2501	248,437	1,2493	51,236
1,5002	304,879	1,4991	61,682
Метрологические характеристики Metrological characteristics			
$a = -0,767$ ; $S_a = 3,67$ $b = 207,7$ ; $S_b = 4,07$ $\Delta a = 9,43$ ; $\Delta b = 10,46$ $r = 0,9994$		$a = -0,035$ ; $S_a = 0,32$ $b = 41,23$ ; $S_b = 0,36$ $\Delta a = 0,83$ ; $\Delta b = 0,93$ $r = 0,9998$	

**Аналитическая область методики.** Следует отметить, что выбранный диапазон концентраций примесей, в котором подтверждена линейность методики, можно определить как аналитическую область методики (ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик»).



Примесь I (А)  
Impurity I (A)



Примесь II (Б)  
Impurity II (B)

Рисунок 2. График линейной зависимости площади пика от концентрации примеси I (А) и примеси II (Б)

Figure 2. Graph of the linear dependence of the peak area on the concentration of impurity I (A) and impurity II (B)

Таблица 1. Оценка пригодности хроматографической системы

Table 1. Evaluation of the suitability of the chromatographic system

№ п/п No.	Объект исследования Object of research	$t_{уд.}$ , мин RT	ТТ N	$A_s$	$R_s$	RSD, %
1	Хиназолин-4(3H)-он Quinazolin-4(3H)-one	2,2	2144	1,16	30,02	1,56
2	4-метоксихлорацетанилид 4-methoxychloroacetanilide	11,7	13383	0,92	6,4	1,74
3	VMA-10-18	14,7	12741	0,99	–	1,01
Требования пригодности хроматографической системы Chromatographic system suitability requirements		–	>1500	От 0,8 до 1,5 From 0.8 to 1.5	>2,0	≤2,0

### Прецизионность методики

Оценку методики по показателю «Сходимость» («Повторяемость») проводили по результатам хроматографирования 9 растворов примесей в диапазоне концентраций 0,05; 0,1 и 0,15 % от содержания VMA-10-18 (таблица 3).

**Таблица 3.** Результаты определения сходимости методики для примеси I и примеси II

**Table 3.** The results of determining the repeatability of the method for impurity I and impurity II

Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Примесь I Impurity I		Примесь II Impurity II	
	Площадь пика, mAU Peak area, mAU	Найдено, % Found, %	Площадь пика, mAU Peak area, mAU	Найдено, % Found, %
0,25	53,489	99,92	10,338	100,12
	53,423	99,08	10,495	101,64
	53,512	99,24	10,577	101,44
0,50	99,050	99,72	20,250	99,06
	98,997	99,08	20,179	99,72
	99,123	99,20	20,383	99,70
0,75	144,406	100,59	30,956	99,93
	145,789	101,55	31,021	100,15
	144,573	100,71	30,973	99,99
<i>Метрологические характеристики Metrological characteristics</i>				
	$\bar{X} = 99,9$ $SD = 0,88$ $RSD = 0,881$ $S_x = 0,292$ $\Delta\bar{x} = 0,68; \Delta x = 2,03$ $\bar{\epsilon} = 0,68 \%; \epsilon = 2,03 \%$ $\delta =  \bar{R} - 100  = 0,1$		$\bar{X} = 100,2$ $SD = 0,83$ $RSD = 0,828$ $S_x = 0,277$ $\Delta\bar{x} = 0,64; \Delta x = 1,92 \%$ $\bar{\epsilon} = 0,64 \%; \epsilon = 1,92 \%$ $\delta =  \bar{R} - 100  = 0,8$	

Сходимость методики характеризуется удовлетворительной прецизионностью – относительное стандартное отклонение не превышает 2,0 %.

Проверку внутрилабораторной прецизионности исследовали в течение двух рабочих дней. Проводили 6 измерений модельного раствора субстанции VMA-10-18 (концентрация 0,5 мг/мл) с добавлением примесей в количестве 0,5 мкг/мл. Результаты представлены в таблице 4.

Проводили расчет F-критерия Фишера. Табличное значение, найденное для двух выборок с доверительным интервалом  $P = 95 \%$ , составляет 5,05. В соответствии с данными таблицы 4 расчетное значение F-критерия Фишера для примеси I составляет 1,26, а для примеси II – 0,26. Это меньше табличной величины. Следовательно, различие дисперсий незначимо и данные, полученные в первый и во второй день, имеют одинаковую прецизионность. Исходя из данных таблицы 4, рассчитали значения t-критерия

Стьюдента. Они не превышают табличного значения  $t(95 \%, 10) = 2,23$ . Поэтому можно сделать вывод о незначимости различий средних результатов определения примесей I и II в первый и во второй день.

**Таблица 4.** Внутрилабораторная прецизионность методики количественного определения примесей субстанции VMA-10-18

**Table 4.** Intra-laboratory precision of the method for the quantitative determination of impurities of the VMA-10-18

Примесь I Impurity I		Примесь II Impurity II	
1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day	1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day
Найдено, % Found, %	Найдено, % Found, %	Найдено, % Found, %	Найдено, % Found, %
100,08	99,19	100,17	100,55
99,96	99,16	99,43	98,51
99,18	99,99	99,18	98,73
101,21	100,62	99,26	98,64
100,45	100,32	99,57	98,88
100,04	99,88	98,96	99,92
$\bar{X}_1 = 100,15$ $S_1^2 = 0,442$ $S_1 = 0,664$	$\bar{X}_2 = 99,86$ $S_2^2 = 0,35$ $S_2 = 0,591$	$\bar{X}_1 = 99,43$ $S_1^2 = 0,18$ $S_1 = 0,419$	$\bar{X}_2 = 99,21$ $S_2^2 = 0,69$ $S_2 = 0,831$
$t = 0,80$		$t = 0,58$	
$t(95 \%, 10) = 2,23$		$t(95 \%, 10) = 2,23$	

**Пределы обнаружения и количественного определения.** Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) рассчитывали, используя параметры линейной регрессии (таблица 2).

Для примеси I ПО составил 0,06 мкг/мл, а ПКО – 0,183 мкг/мл. Для примеси II ПО – 0,025 мкг/мл, ПКО – 0,077 мкг/мл.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика определения посторонних примесей в субстанции VMA-10-18 с помощью метода ВЭЖХ. Выбраны оптимальные условия анализа, которые позволяют полностью разделить между собой пики субстанции и ее родственных примесей. Доказана «Специфичность», «Линейность», «Правильность», «Сходимость» и «Внутрилабораторная прецизионность» методики определения примесей в субстанции VMA-10-18 (Хиназофен).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бартон Д., Оллис У. Д. Общая органическая химия. М.: Химия; 1985. Т. 8. 752 с.
2. Armarego W. L. F. Chemistry of Heterocyclic Compounds: Fused Pyrimidines. Part I. Quinazolines. Volume 24. New York: John Wiley & Sons; 1967. 539 p.
3. Chern J.-W., Tao P.-L., Wang K.-C., Gutcait A., Liu S.-W., Yen M.-H., Chien S.-L., Rong J.-K. Studies on quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides. 8.1,2-synthesis and pharmacological evaluation of tricyclic fused quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides as potential  $\alpha$ 1-adrenoceptor antago-

- nists. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998;41(17):3128–3141. DOI: 10.1021/jm970159v.
- El-Hashash M. A. E.-A., Azab M. E., Faty R. A. E.-A., Amr A. E.-G. E. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2016;64(3):263–271. DOI: 10.1248/cpb.c15-00904.
  - Das N., Garabadu D., Banerjee A. G., Krishnamurthy S., Shrivastava S. K. Synthesis and pharmacological evaluation of some N3-aryl/heteroaryl-substituted 2-(2-chlorostyryl)-6,7-dimethoxyquinazolin-4(3H)-ones as potential anticonvulsant agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(9):4167–4176. DOI: 10.1007/s00044-014-0990-4.
  - Alafeefy A. M., Ashour A. E., Prasad O., Sinha L., Pathak S., Alasmari F. A., Rishi A. K., Abdel-Aziz H. A. Development of certain novel N-(2-(2-(2-oxoindolin-3-ylidene)hydrazinecarbonyl)phenyl)-benzamides and 3-(2-oxoindolin-3-ylideneamino)-2-substituted quinazolin-4(3H)-ones as CFM-1 analogs: design, synthesis, QSAR analysis and anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;92:191–201. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.12.048.
  - Mahdavi M., Pedrود K., Safavi M., Saeedi M., Pordeli M., Ardestani S. K., Emami S., Adib M., Foroumadi A., Shafiee A. Synthesis and anticancer activity of N-substituted 2-arylquinazolinones bearing trans-stilbene scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;95:492–499. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.03.057.
  - Yin S., Zhou L., Lin J., Xue L., Zhang C. Design, synthesis and biological activities of novel oxazolo[4,5-g]quinazolin-2(1H)-one derivatives as EGFR inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;101:462–475. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.008.
  - Петров В. И., Тюренков И. Н., Озеров А. А. Производные хиназолина, обладающие антидепрессивной, анксиолитической и ноотропной активностью. Патент РФ № 2507199. 20.02.2014. Бюл. № 5. 15 с. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2507199C1/ru>. Ссылка активна на 20.02.2014.
  - Тюренков И. Н., Озеров А. А., Солодунова Е. А., Арчакова Ю. В., Глухова Е. Г., Шматова Е. Н. Аномалия в ряду фармакологических свойств производных хиназолин-4(3H)-она, имеющих фрагменты ацетанилида в качестве заместителей. *Вестник ВолгГМУ*. 2012;2(42):66–68.
  - Арчакова Ю. В. Синтез и психотропные свойства новых амидов хиназолинового ряда. Инновации в современной фармакологии. Тез. докл. 4 съезда фармакологов России. 18–21 сентября 2012. Казань; 2012. 14 с.
  - Шатц В. Д., Сахартова О. В. Высокоэффективная жидкостная хроматография: Основы теории. Методология применения в лекарственной химии. Рига: Зинатне; 1988. 390 с.
  - Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Т. I. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018. 1814 с. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 20.02.2014.
  - Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/q2\\_r1\\_guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/q2_r1_guideline.pdf). Accessed: 10.12.2020.
  - and Pharmaceutical Bulletin. 2016;64(3):263–271. DOI: 10.1248/cpb.c15-00904.
  - Das N., Garabadu D., Banerjee A. G., Krishnamurthy S., Shrivastava S. K. Synthesis and pharmacological evaluation of some N3-aryl/heteroaryl-substituted 2-(2-chlorostyryl)-6,7-dimethoxyquinazolin-4(3H)-ones as potential anticonvulsant agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(9):4167–4176. DOI: 10.1007/s00044-014-0990-4.
  - Alafeefy A. M., Ashour A. E., Prasad O., Sinha L., Pathak S., Alasmari F. A., Rishi A. K., Abdel-Aziz H. A. Development of certain novel N-(2-(2-(2-oxoindolin-3-ylidene)hydrazinecarbonyl)phenyl)-benzamides and 3-(2-oxoindolin-3-ylideneamino)-2-substituted quinazolin-4(3H)-ones as CFM-1 analogs: design, synthesis, QSAR analysis and anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;92:191–201. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.12.048.
  - Mahdavi M., Pedrود K., Safavi M., Saeedi M., Pordeli M., Ardestani S. K., Emami S., Adib M., Foroumadi A., Shafiee A. Synthesis and anticancer activity of N-substituted 2-arylquinazolinones bearing trans-stilbene scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;95:492–499. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.03.057.
  - Yin S., Zhou L., Lin J., Xue L., Zhang C. Design, synthesis and biological activities of novel oxazolo[4,5-g]quinazolin-2(1H)-one derivatives as EGFR inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;101:462–475. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.008.
  - Petrov V. I., Tyurenkov I. N., Ozerov A. A. *Proizvodnye khinazolina, obladayushchie antidepressivnoy, anksioliticheskoy i nootropnoy aktivnost'yu* [Quinazolinone derivatives, possessing antidepressant, anxiolytic and nootropic activity]. Патент RUS № 2507199. 20.02.2014. Бюл. № 5. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2507199C1/ru>. Accessed: 20.02.2014. (In Russ.)
  - Tyurenkov I. N., Ozerov A. A., Solodunova E. A., Archakova Yu. V., Glukhova E. G., Shmatova E. N. Anomaly among pharmacological properties of quinazolin-4(3H)-one derivatives with acetanilide fragments as substituents. *Vestnik VolgGМУ = Journal of VolgSMU*. 2012;2(42):66–68. (In Russ.)
  - Archakova Yu. V. *Sintez i psihotropnye svoystva novykh amidov hinazolinovogo ryada. Innovacii v sovremennoy farmakologii* [Synthesis and psychotropic properties of new amides of the quinazolinone series. Innovations in modern pharmacology]. Abstracts. report 4 congresses of pharmacologists of Russia. 18–21 September 2012. Kazan; 2012. 14 p. (In Russ.)
  - Shatc V. D., Sahartova O. V. *Vysokoeffektivnaya zhidkostnaya hromatografiya: Osnovy teorii. Metodologiya primeneniya v lekarstvennoy himii* [High Performance Liquid Chromatography: Fundamentals of Theory. Methodology of application in medicinal chemistry]. Riga: Zinatne; 1988. 390 p. (In Russ.)
  - Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [State Pharmacopeia of Russian Federation]. XIV edition. V. I. Moscow: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018. 1814 p. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 20.02.2014. (In Russ.)
  - Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/q2\\_r1\\_guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/q2_r1_guideline.pdf). Accessed: 10.12.2020.

## REFERENCES

- Barton D., Ollis W. D. *Obshchaya organicheskaya khimiya* [Comprehensive organic chemistry]. Moscow: Khimiya; 1985. V. 8. 752 p. (In Russ.)
- Armarego W. L. F. *Chemistry of Heterocyclic Compounds: Fused Pyrimidines. Part I. Quinazolines. Volume 24*. New York: John Wiley & Sons; 1967. 539 p.
- Chern J.-W., Tao P.-L., Wang K.-C., Gutcait A., Liu S.-W., Yen M.-H., Chien S.-L., Rong J.-K. Studies on quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides. 8.1,2-synthesis and pharmacological evaluation of tricyclic fused quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides as potential  $\alpha$ 1-adrenoceptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998;41(17):3128–3141. DOI: 10.1021/jm970159v.
- El-Hashash M. A. E.-A., Azab M. E., Faty R. A. E.-A., Amr A. E.-G. E. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. *Chemical*



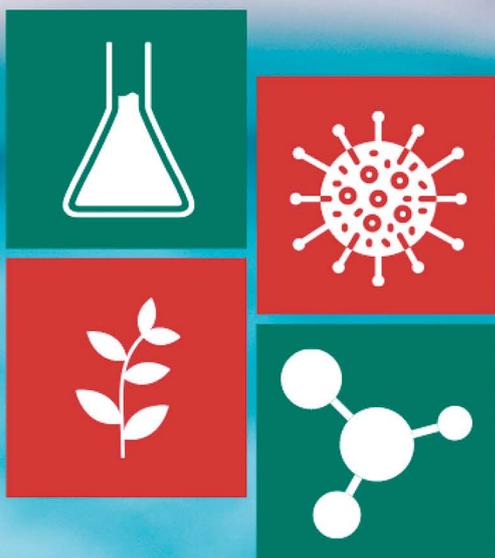
**СИБИРСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ**



**МЕЖДУНАРОДНАЯ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**

# **РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ — ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

**Г. ТОМСК 13—16 СЕНТЯБРЯ 2021 ГОДА**



<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-83-87>  
УДК 615.453.4.014.6



Оригинальная статья / Research article

## Моделирование образования липосом с винпоцетином из фосфолипидов соевого лецитина методом молекулярной динамики

Ю. А. Полковникова\*

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (ВГУ), 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

\*Контактное лицо: Полковникова Юлия Александровна. E-mail: juli-polk@mail.ru

ORCID: Ю. А. Полковникова – <https://orcid.org/0000-0003-0123-9526>.

Статья поступила: 19.02.2021

Статья принята в печать: 11.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Липосомальные препараты обладают следующими преимуществами: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств; пролонгируют действие введенного в организм лекарственного средства; защищают лекарственные вещества от деградации; способствуют проявлению нацеленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани; изменяют фармакокинетику лекарственных препаратов, повышая их фармакологическую эффективность; позволяют создать водорастворимую форму ряда лекарственных субстанций, повышая тем самым их биодоступность. Весьма актуальным является разработка липосомальных форм винпоцетина. В настоящее время при разработке состава липосомальных форм находят широкое применение методов молекулярного моделирования, которые являются удобным методом прогнозирования как свойств самих мембран, так и аспектов взаимодействия мембран с небольшими молекулами или белками.

**Цель.** Целью данного исследования является моделирование процесса сборки липосомы из фосфолипидов соевого лецитина в присутствии винпоцетина методом молекулярной динамики; а также прогнозирование распределения винпоцетина между внутренней полостью липосомы, фосфолипидной мембраной и дисперсионной средой по результатам моделирования.

**Материалы и методы.** Для моделирования процесса образования липосом был использован метод крупнозернистой молекулярной динамики в силовом поле Martini 2.2 с использованием программы Gromacs 2016.4. Сборка моделируемой системы – раствора фосфолипидов соевого лецитина в воде производилась с помощью интернет-сервиса Charmm-GUI->Inputgenerator->Martinimaker->Randombuilder.

**Результаты и обсуждение.** Результаты молекулярного моделирования показали, что молекулы винпоцетина не проникли внутрь липосомы, а адсорбировались на ее поверхности. Это связано с низкой растворимостью винпоцетина в гидрофобной среде мембраны липосомы соевого лецитина.

**Заключение.** Показано, что минимальный диаметр липосомы, образующейся из очищенного соевого лецитина, составляет 15,3 нм. Винпоцетин не проникает внутрь липосом из очищенного соевого лецитина, а адсорбируется на внешней поверхности их мембраны. Поверхностный избыток при этом по результатам моделирования крупнозернистой молекулярной динамики при температуре 298 К в спиртовой среде составляет  $1,2 \cdot 10^{-7}$  моль/м<sup>2</sup>.

**Ключевые слова:** моделирование, липосомы, соевый лецитин, винпоцетин, поверхностный избыток винпоцетина

**Конфликт интересов.** Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Автор осуществила дизайн исследования, обзор публикаций, получение и анализ данных, написание текста рукописи, проверку конечной версии рукописи и перевод.

**Для цитирования:** Полковникова Ю. А. Моделирование образования липосом с винпоцетином из фосфолипидов соевого лецитина методом молекулярной динамики. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):83–87. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-83-87>

## Modeling the Formation of Liposomes with Vinpocetine from Soy Lecithin Phospholipids by Molecular Dynamics

Yulia A. Polkovnikova\*

Voronezh State University, 1, Universitetskaya sq., Voronezh, 394006, Russia

\*Corresponding author: Yulia A. Polkovnikova. E-mail: juli-polk@mail.ru

ORCID: Yulia A. Polkovnikova – <https://orcid.org/0000-0003-0123-9526>.

Received: 19.02.2021

Revised: 11.06.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Liposomal preparations have the following advantages: they protect body cells from the toxic effects of drugs; prolong the action of the drug introduced into the body; protect medicinal substances from degradation; promote the manifestation of targeted specificity due to selective penetration from blood into tissues; change the pharmacokinetics of drugs, increasing their pharmacological effectiveness; allow you to create a water-soluble form of a number of medicinal substances, thereby increasing their bioavailability. The development of liposomal forms of vinpocetine is highly relevant. Currently, when developing the composition of liposomal forms, molecular modeling methods are widely used, which are a convenient method for predicting both the properties of the membranes themselves and aspects of the interaction of membranes with small molecules or proteins.

© Полковникова Ю. А., 2021

© Polkovnikova Yu. A., 2021

**Aim.** The aim of this study is to model the process of liposome assembly from soy lecithin phospholipids in the presence of vinpocetine by the molecular dynamics method; as well as predicting the distribution of vinpocetine between the internal cavity of the liposome, the phospholipid membrane, and the dispersion medium based on the simulation results.

**Materials and methods.** To simulate the process of liposome formation, the method of coarse-grained molecular dynamics in a Martini 2.2 force field was used using the Gromacs 2016.4 program. The assembly of the simulated system – a solution of soy lecithin phospholipids in water was performed using the Internet service Charmm-GUI-> Inputgenerator-> Martinimaker-> Randombuilder.

**Results and discussion.** The results of molecular modeling showed that the vinpocetine molecules did not penetrate into the liposome, but were adsorbed on its surface. This is due to the low solubility of vinpocetine in the hydrophobic medium of the soy lecithin liposome membrane.

**Conclusion.** It was shown that the minimum diameter of a liposome formed from purified soy lecithin is 15.3 nm. Vinpocetine does not penetrate into liposomes from purified soy lecithin, but is adsorbed on the outer surface of their membrane. The surface excess in this case, according to the results of modeling coarse-grained molecular dynamics at a temperature of 298 K in an alcohol-water medium, is  $1.2 \cdot 10^{-7}$  mol/m<sup>2</sup>.

**Keywords:** modeling, liposomes, soy lecithin, vinpocetine, surface excess of vinpocetine

**Conflict of interest.** The author declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Author carried out the design of the study, the review of publications, the acquisition and analysis of data, and the writing of the manuscript. proofreading of the final version of the manuscript and translation.

**For citation:** Polkovnikova Yu. A. Modeling the formation of liposomes with vinpocetine from soy lecithin phospholipids by molecular dynamics. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):83–87. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-83-87>

## ВВЕДЕНИЕ

*Винпоцетин* – вазоактивный алкалоид барвинка и синтетическое производное аповинкамина, обычно используется в клинической практике для лечения цереброваскулярных заболеваний [1, 2].

Однако из-за его плохой растворимости в воде [3], короткого периода полувыведения (1–2 часа) и интенсивного метаболизма в печени (~ 75 %) [4, 5], он имеет низкую биодоступность при пероральном приеме (6,7 %) и, следовательно, низкую концентрацию лекарственного препарата в головном мозге, ограничивающую его применение в клинической практике. Поэтому весьма актуальной является разработка соответствующей системы доставки для винпоцетина с улучшенной растворимостью и целевым эффектом на мозг.

В то же время разработка новых лекарственных форм нейропсихофармакологических лекарственных препаратов ограничена двумя существенными проблемами: преодолением гематоэнцефалического барьера и проблемой селективности действующего агента по отношению к клеткам-мишеням в центральной нервной системе. Для решения этих проблем на сегодняшнем этапе развития нейропсихофармакологии особенно перспективным представляется применение нанотехнологических подходов, позволяющих создавать многофункциональные высокоселективные наносистемы, способные доставлять транспортируемый агент сначала в церебральные микрососуды, а затем в интерстициальную жидкость и непосредственно к клеткам-мишеням в головном мозге [6].

В настоящее время в качестве контейнеров для инкапсулирования и контролируемого высвобождения биологически активных веществ находят широкое

применение липосомы [7]. Уникальность устройства липосом позволяет инкапсулировать в них гидрофильные и гидрофобные соединения, встраивая первые в гидрофобную часть липосомальной мембраны и растворяя вторые во внутренней водной полости липосом [8–10].

Разработка нового поколения лекарственных препаратов на основе липосом является стратегически важной, поскольку позволит решить многие задачи, связанные с направленной доставкой лекарственных веществ [11–13].

Несмотря на значительный прогресс в области создания липосомальных контейнеров, лишь немногие лекарственные препараты были реализованы на практике. Основные причины неудач – ограниченная емкость липосомального контейнера, низкая эффективность захвата липосом целевыми клетками и медленное высвобождение лекарственного вещества в зоне терапевтического действия [14].

В связи с этим особое значение в разработке состава липосомальных форм приобретает применение методов молекулярного моделирования [15]. В настоящее время для моделирования биомембран широко применяется метод молекулярной динамики. Метод молекулярной динамики является удобным методом определения как свойств самих мембран, так и взаимодействия мембран с молекулами или белками. При этом результаты моделирования согласуются с экспериментальными данными и позволяют делать выводы о взаимодействии веществ различных классов с фосфолипидным бислоем [16, 17]. Так, сконструированы с использованием моделирования молекулярной динамики липосомы 5-фторурацила, лигустразина, остола [18].

Таким образом, особенно актуальным является решение данных задач для такого лекарственного препарата, как винпоцетин.

**Цель исследования:** моделирование процесса сборки липосомы из фосфолипидов соевого лецитина в присутствии винпоцетина методом молекулярной динамики; а также прогнозирование распределения винпоцетина между внутренней полостью липосомы, фосфолипидной мембраной и дисперсионной средой по результатам моделирования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Учитывая большой размер исследуемой системы (сотни тысяч атомов), необходимый для моделирования процесса образования липосом [19], для моделирования был использован метод крупнозернистой молекулярной динамики в силовом поле Martini 2.2 с использованием программы Gromacs 2016.4 [20].

### Моделирование процесса сборки липосомы из соевого лецитина в водной среде

Сборка моделируемой системы – раствора фосфолипидов соевого лецитина в воде производилась с помощью интернет-сервиса Charmm-GUI->Inputgenerator->Martinimaker->Randombuilder (<http://charmm-gui.org/?doc=input/mrandom>) [21–23]. В состав моделируемой системы были включены фосфолипиды соевого лецитина (5 % по массе) и вода. В состав соевого лецитина были включены фосфолипиды пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин (30 % от общего содержания фосфолипидов) и дилинолеил-фосфатидилхолин (70 % от общего содержания фосфолипидов) [24] (таблица 1). Для моделирования была собрана система кубической формы с длиной ребра куба 38 нм.

**Таблица 1. Состав моделируемой системы «соевый лецитин – вода»**

**Table 1. Composition of the simulated system "soy lecithin – water"**

Вещество Substance	Число молекул Number of molecules
Пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин Palmitoyl Oleyl Phosphatidylcholine	652
Дилинолеил-фосфатидилхолин Dilinooleoyl Phosphatidylcholine	1478
Вода Water	1602592

В процессе моделирования были использованы периодические граничные условия по всем осям координат. Предварительно проводилась оптимизация геометрии системы градиентным методом. Далее производилось термодинамическое уравнивание с использованием термостатирования (298 К) и баростатирования (баростат Берендсена [25], 1 атм). Шаг моделирования в процессе термодинамическо-

го уравнивания менялся от меньшего [2 фемто-секунды (фс)] к большему (5 фс). Далее проводилось моделирование молекулярной динамики в течение 3000 нс с шагом 5 фс.

### Моделирование диффузии винпоцетина из спиртового раствора в водную среду с липосомой (система «липосома – вода – спирт – винпоцетин»)

Для моделирования диффузии винпоцетина методом крупнозернистой молекулярной динамики была построена модель молекулы винпоцетина в программе HyperChem и произведена оптимизация геометрии молекулы методом MM+ [26].

В соответствии с планируемой методикой получения липосом с винпоцетином была собрана модель системы, состоящая из двух фаз. Первая фаза, состоящая из 5 % винпоцетина и 95 % спирто-водной смеси по массе. Спирто-водная смесь содержала 95 % этанола и 5 % воды по массе. Вторая фаза представлена водной средой с одной липосомой, образованной в предыдущем вычислительном эксперименте. Массовая доля первой фазы (спирто-водная смесь с винпоцетином) составляла 33,33 %. Массовая доля воды с липосомой соответственно 66,67 % (таблица 2).

**Таблица 2. Состав моделируемой системы «липосома – вода – спирт – винпоцетин»**

**Table 2. Composition of the simulated system "liposome – water – alcohol – vinpocetine"**

Вещество Substance	Число молекул Number of molecules
Пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин Palmitoyl Oleyl Phosphatidylcholine	231
Дилинолеил-фосфатидилхолин Dilinooleoyl Phosphatidylcholine	514
Винпоцетин Vinpocetine	355
Этанол Ethanol	48805
Вода Water	251308

Система собрана в виде параллелепипеда со сторонами 18, 19, 45,38 нм с плоской межфазной поверхностью (рисунок 1).

Далее проводилось моделирование молекулярной динамики в течение 122 нс с шагом 5 фс (таблица 3).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе моделирования молекулярной динамики раствора соевого лецитина наблюдалось образование различных надмолекулярных структур.

Исходное состояние моделируемой системы представлено хаотичным расположением молекул фосфолипидов в растворе. После 400 нс различаются сферические мицеллы Гартли, образованные фосфо-

Таблица 3. Этапы моделирования системы «липосома – вода – спирт – винпоцетин»

Table 3. Stages of modeling the system "liposome – water – alcohol – vinpocetine"

Этап Stage	Тип запуска Trigger type	Количество шагов Number of steps	Шаг, фс Step, fs	Длительность, нс Duration, ns	Баростат Barostat	Термостат Thermostat
1	Оптимизация геометрии Optimizing geometry	10 000				
2	Молекулярная динамика Molecular dynamics	500 000	2	1	Берендсена, 1 атм, константа времени 5 пс Berendsen, 1 atm, time constant 5 ps	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс Velocity scaling, 1 ps time constant
3	Молекулярная динамика Molecular dynamics	5 650 000	5	28,25	Берендсена, 1 атм, константа времени 5 пс Berendsen, 1 atm, time constant 5 ps	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс Velocity scaling, 1 ps time constant
4	Молекулярная динамика Molecular dynamics	24 400 000	5	122	Берендсена, 1 атм, константа времени 12 пс Berendsen, 1 atm, time constant 12 ps	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс Velocity scaling, 1 ps time constant

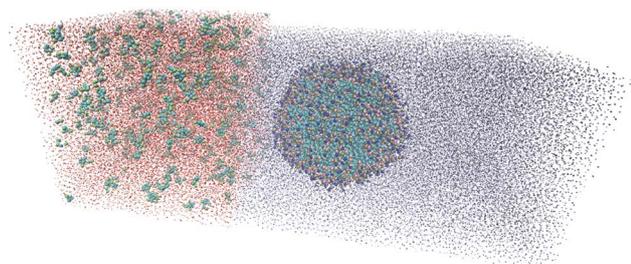


Рисунок 1. Начальное состояние моделируемой системы «липосома – вода – спирт – винпоцетин»

Figure 1. The initial state of the simulated system "liposome – water – alcohol – vinpocetine"

липидами. После 800 нс наблюдается формирование несферических мицелл Мак-Бена и их объединение с образованием дискообразных мицелл (1000–2000 нс). После 2000 нс дискообразные мицеллы начинают принимать изогнутую форму. После 2800 нс образуется первая липосома сферической формы диаметром 15,273 нм. Полученные результаты позволяют сделать вывод о минимальном возможном диаметре липосом, полученных из соевого лецитина в водном растворе, составляющем не менее 15 нм.

Далее в соответствии с планируемой методикой получения липосом с винпоцетином была собрана модель системы, состоящая из двух фаз. Первая фаза, состоящая из 5 % винпоцетина и 95 % спирто-водной смеси по массе. Спирто-водная смесь содержала 95 % этанола и 5 % воды по массе. Вторая фаза представлена водной средой с одной липосомой, образованной в предыдущем вычислительном эксперименте. Массовая доля первой фазы (спирто-водная смесь с винпоцетином) составляла 33,34 %. Массовая доля воды с липосомой соответственно 66,66 %.

В ходе моделирования наблюдался ряд ключевых этапов в изменении состояния исследуемой системы. В течение первых 50 нс моделирования межфазная поверхность перестала быть различимой, а молекулы спирта частично диффундировали в воду. В течение последующих 50 нс в окрестности липосомы создалась концентрация этанола достаточная для диффузии винпоцетина к ее поверхности и адсорбции на ней. После 100 нс моделирования этанол, винпоцетин и вода распределились по всему объему исследуемой системы, за исключением объема, занимаемого липосомой.

Молекулы винпоцетина не проникли внутрь липосомы, а адсорбировались на ее поверхности. Предположительно, это связано с низкой растворимостью винпоцетина в гидрофобной среде мембраны липосомы соевого лецитина.

По результатам проведенного моделирования был рассчитан поверхностный избыток винпоцетина на поверхности липосомы [27] (таблица 4).

Данная характеристика может быть использована в процессе разработки липосомальных лекарственных форм винпоцетина, т. к. позволяет оценить количество препарата, транспортируемого липосомами в пересчете на единицу площади мембраны.

Исходя из результатов проведенного моделирования, можно сделать вывод, что образование липосом сферической формы из очищенного соевого лецитина в водной среде происходит самопроизвольно при концентрации лецитина 5 % по массе при температуре 298 К в течение 3 микросекунд. Моделирование сборки липосом позволяет оценить минимальный диаметр липосомы, образующейся из очищенного соевого лецитина, который составляет 15 нм. Анализ результатов моделирования так же показывает, что винпоцетин не проникает внутрь липосом.

из очищенного соевого лецитина, а адсорбируется на внешней поверхности их мембраны. Поверхностный избыток при этом по результатам моделирования крупнозернистой молекулярной динамики при температуре 298 К в спирто-водной среде составляет  $1,2 \cdot 10^{-7}$  моль/м<sup>2</sup>.

**Таблица 4. Результаты расчета физико-химических параметров адсорбции винпоцетина на поверхности липосомы**

**Table 4. The results of calculating the physicochemical parameters of the adsorption of vinpocetine on the liposome surface**

Параметр Parameter	Диаметр липосомы, нм Liposome diameter, nm	Площадь внешней поверхности липосомы, м <sup>2</sup> Area of the outer surface of the liposome, m <sup>2</sup>	Число молекул винпоцетина на поверхности липосомы Number of vinpocetine molecules on the liposome surface	Количество винпоцетина на поверхности липосомы, моль Amount of vinpocetine on the liposome surface, mol	Поверхностный избыток винпоцетина, моль/м <sup>2</sup> Surface excess of vinpocetine, mol/m <sup>2</sup>
Значение	15,273	$7,3282 \cdot 10^{-16}$	52	$8,6348 \cdot 10^{-23}$	$1,178 \cdot 10^{-7}$

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволяют сделать выводы о возможности и механизме самопроизвольного образования липосом из соевого лецитина, а также о характере их взаимодействия с винпоцетином. Полученные результаты могут быть использованы при разработке липосомальных лекарственных форм винпоцетина.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

- Singh A., Sharma V., Pandey B. L. Comparative effectiveness study of vinpocetine vs. nimodipine on functional recovery in patients of head injury. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2013;2(1):18–25.
- Patyar S., Prakash A., Modi M., Medhi B. Role of vinpocetine in cerebrovascular diseases. *Pharmacol Rep*. 2011;63(3):618–628. DOI: 10.1016/s1734-1140(11)70574-6.
- Ribeiro L., Loftsson T., Ferreira D., Veiga F. Investigation and physicochemical characterization of vinpocetine-sulfobutyl ether  $\beta$ -cyclodextrin binary and ternary complexes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;51(8):914–922. DOI: 10.1248/cpb.51.914.
- Grassi G., Hasa D., Voinovich D., Perissutti B., Dapas B., Farra R., Franceschini E., Grassi M. Simultaneous release and ADME processes of poorly water-soluble drugs: mathematical modeling. *Mol Pharmacol*. 2010;7(5):1488–1497. DOI: 10.1021/mp1001334.
- Szakács T., Veres Z., Vereczkey L. In vitro-in vivo correlation of the pharmacokinetics of vinpocetine. *Pol J Pharmacol*. 2001;53(6):623–628.
- Gregoriadis G. Liposome research in drug delivery: the early days. *Journal of Drug Targeting*. 2008;16(7):520–524. DOI: 10.1080/10611860802228350.
- Elbayoumi T. A., Torchilin V. P. Current trends in liposome research. *Methods in Molecular Biology*. 2010;605:1–27. DOI: 10.1007/978-1-60327-360-2\_1.
- Yalçın A. S., Turkoglu M. Preparation of liposomes containing whey proteins. *Marmara Medical Journal*. 2010;23(1):22–29.

- Szoka F. (Jr.), Papahadjopoulos D. Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes). *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*. 1980;9:467–508. DOI: 10.1146/annurev.bb.09.060180.002343.
- Neuwelt E., Abbott N. J., Abrey L., Banks W. A., Blakley B., Davis T., Engelhardt B., Grammas P., Nedergaard M., Nutt J., Pardridge W., Rosenberg G. A., Smith Q., Drewes L. R. Strategies to advance translational research into brain barriers. *The Lancet Neurology*. 2008;7(1):84–96. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70326-5.
- Lopalco A., Cutrignelli A., Denora N., Lopodota A., Franco M., Laquintana V. Transferrin Functionalized Liposomes Loading Dopamine HCl: Development and Permeability Studies across an In Vitro Model of Human Blood–Brain Barrier. *Nanomaterials*. 2018;8(3):178. DOI: 10.3390/nano8030178.
- Li X., Ren X., Liang J., Ma W., Wang Z., Yang Z. Delivery of sodium morrhuate to hemangioma endothelial cells using immunoliposomes conjugated with anti-VEGFR2/KDR antibody. *International Journal of Nanomedicine*. 2017;12: 6963–6972. DOI: 10.2147/IJN.S144056.
- Spuch C., Navarro C. Liposomes for targeted delivery of active agents against neurodegenerative diseases (Alzheimer's disease and Parkinson's Disease). *Journal of Drug Delivery*. 2011:1–12. DOI: 10.1155/2011/469679.
- Kučerka N., Nieh M.-P., Katsaras J. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2011;1808(11):2761–2771. DOI: 10.1016/j.bbame.2011.07.022.
- Xie J. Y., Ding G. H., Karttunen M. Molecular dynamics simulations of lipid membranes with lateral force: Rupture and dynamic properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2014;1838(3): 994–1002. DOI: 10.1016/j.bbame.2013.12.011.
- Wang X., Liu W., Du K. Palaeontological evidence of membrane relationship in step-by-step membrane fusion. *Molecular Membrane Biology*. 2011;28(1-2):115–122. DOI: 10.3109/09687688.2010.536169.
- Hashemzadeh H., Javadi H., Darvishi M. H. Study of Structural stability and formation mechanisms in DSPC and DPSM liposomes: A coarse-grained molecular dynamics simulation. *Scientific Reports*. 2020;10:1837.
- Wu X., Dai X., Liao Y., Sheng M., Shi X. Investigation on drug entrapment location in liposomes and transfersomes based on molecular dynamics simulation. *Journal of Molecular Modeling*. 2021;27(4):111. DOI: 10.1007/s00894-021-04722-3.
- Dwiastuti R., Radifar M., Hadimartono M., Noegrohati S. Molecular Dynamics Simulations and Empirical Observations on Soy Lecithin Liposome Preparation. *Indonesian Journal of Chemistry*. 2016;16(2):222. DOI: 10.22146/ijc.21167.
- Marrink S. J., Risselada H. J., Yefimov S., Tieleman D. P., de Vries A. H. The MARTINI force field: Coarse grained model for biomolecular simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2007;111(27):7812–7824. DOI: 10.1021/jp071097f.
- Jo S., Kim T., Iyer V. G., Im W. CHARMM-GUI: A Web-based Graphical User Interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*. 2008;29(11):1859–1865. DOI: 10.1002/jcc.20945.
- Qi Y., Ingólfsson H. I., Cheng X., Lee J., Marrink S. J., Im W. CHARMM-GUI Martini Maker for Coarse-Grained Simulations with the Martini Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2015;11(9):4486–4494. DOI: 10.1021/acs.jctc.5b00513.
- Hsu P.-C., Bruininks B. M. H., Jefferies D., de Souza P. C. T., Lee J., Patel D. S., Marrink S. J., Qi Y., Khalid S., Im W. CHARMM-GUI Martini Maker for Modeling and Simulation of Complex Bacterial Membranes with Lipopolysaccharides. *J. Comput. Chem*. 2017;38(27):2354–2363. DOI: 10.1002/jcc.24895.
- van Hoogevest P., Wendel A. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2014;116(9):1088–1107. DOI: 10.1002/ejlt.201400219.
- Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F., DiNola A., Haak J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*. 1984;81(8):3684–3690. DOI: 10.1063/1.448118.
- Teppen J. B. HyperChem, release 2: molecular modeling for the personal computer. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1992;32:757–759.
- Fodi B., Hentschke R. Simulation of Surface Excess Concentrations for a Binary Hydrocarbon Mixture on Graphite. *Journal of Molecular Modeling*. 1997;3(8):315–320.



Оригинальная статья / Research article

## Стандартизация фармацевтической субстанции препарата ЛХС-1208

Е. В. Игнатьева<sup>1</sup>, И. В. Ярцева<sup>1</sup>, З. С. Шпрах<sup>1,2</sup>, А. П. Будько<sup>1</sup>, Л. В. Эктова<sup>1</sup>,  
Д. А. Козин<sup>1,2\*</sup>, В. Ю. Решетняк<sup>2</sup>, О. В. Нестерова<sup>2</sup>, Е. А. Панкратова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России (НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина) 115478, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

\* Контактное лицо: Козин Дмитрий Андреевич. E-mail: [kozin1993@inbox.ru](mailto:kozin1993@inbox.ru)

ORCID: Е. В. Игнатьева – <https://orcid.org/0000-0002-9200-4492>; И. В. Ярцева – <https://orcid.org/0000-0002-8818-7812>; З. С. Шпрах – <https://orcid.org/0003-3034-750X>;

А. П. Будько – <https://orcid.org/0000-0001-6594-4051>; Л. В. Эктова – <https://orcid.org/0000-0002-3987-6072>; Д. А. Козин – <https://orcid.org/0000-0003-1125-1932>;

В. Ю. Решетняк – <https://orcid.org/0000-0003-1704-7828>; О. В. Нестерова – <https://orcid.org/0000-0002-7424-0627>; Е. А. Панкратова – <https://orcid.org/0000-0003-1237-1207>.

Статья поступила: 12.04.2021

Статья принята в печать: 11.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Все больший научный интерес для практической онкологии вызывают производные индолакарбазола. В лаборатории химического синтеза Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н. Н. Блохина синтезирован ряд N-гликозидов, индола[2,3-а]карбазола под лабораторным шифром ЛХС. Одним из наиболее перспективных соединений этого класса является ЛХС-1208 – 6-амино-12-(α-L-арабинопиранозил)индола[2,3-а]пиррола[3,4-с]карбазол-5,7-дион. По механизму биологического действия ЛХС-1208 относится к ингибиторам протеинкиназы С и представляет большой интерес для терапии злокачественных новообразований.

**Цель.** Химико-фармацевтическая стандартизация фармацевтической субстанции ЛХС-1208.

**Материалы и методы.** Лабораторные образцы фармацевтической субстанции ЛХС-1208. Методы исследования: гравиметрия, спектрофотометрия, поляриметрия, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), ядерная магнитно-резонансная (ЯМР) спектроскопия высокого разрешения и инфракрасная (ИК) спектроскопия.

**Результаты и обсуждение.** Оценку качества ЛХС-1208 проводили по показателям, принятым в XIV издании Государственной фармакопеи Российской Федерации для контроля качества фармацевтических субстанций. ЛХС-1208 – оранжевый аморфный порошок, без запаха; растворим в диметилсульфоксиде (ДМСО) и диметилформамиде (ДМФА); очень мало растворим в спирте этиловом 95 % и практически нерастворим в воде. Подлинность субстанции подтверждается ЯМР- и ИК-спектрами, а также электронными спектрами поглощения. Значения удельного оптического вращения ЛХС-1208 (1 % раствор в ДМФА) укладываются в интервал от +58° до +61°. Все изученные образцы субстанции были свободны от неорганических примесей, сульфатной золь, тяжелых металлов и содержали не более 1,0 % воды, определенной методом титрования по К. Фишеру. Содержание возможных родственных примесей в субстанции ЛХС-1208 и содержание основного действующего вещества определяли методом ВЭЖХ. Исследованные лабораторные образцы фармацевтической субстанции ЛХС-1208 содержали не более 1,0 % любой единичной и не более 3 % суммы неидентифицированных примесей. Содержание основного действующего вещества составило более 97 %.

**Заключение.** В результате проведенной работы были отобраны критерии и параметры качества, а также разработаны методики их определения, позволяющие адекватно оценить качество и стандартность фармацевтической субстанции ЛХС-1208.

**Ключевые слова:** индолакарбазолы, анализ, стандартизация, фармацевтическая субстанция, спектроскопия, хроматография

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** З. С. Шпрах, Е. В. Игнатьева и И. В. Ярцева разработали план экспериментов. Л. В. Эктова синтезировала образцы. Д. А. Козин, Е. В. Игнатьева, А. П. Будько провели исследования фармацевтической субстанции ЛХС-1208. О. В. Нестерова, В. Ю. Решетняк и Е. А. Панкратова принимали участие в написании текста статьи. Все авторы принимали участие в анализе и обсуждении полученных результатов.

**Для цитирования:** Игнатьева Е. В., Ярцева И. В., Шпрах З. С., Будько А. П., Эктова Л. В., Козин Д. А., Решетняк В. Ю., Нестерова О. В., Панкратова Е. А. Стандартизация фармацевтической субстанции препарата ЛХС-1208. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):88–94. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-88-94>

## Standardization of the Pharmaceutical Substance of the Drug LCS-1208

Elena V. Ignateva<sup>1</sup>, Irina V. Yartseva<sup>1</sup>, Zoya S. Shprakh<sup>1,2</sup>, Andrej P. Bud'ko<sup>1</sup>, Lydya V. Ektova<sup>1</sup>,  
Dmytry A. Kozin<sup>1,2\*</sup>, Vladimir Yu. Reshetnyak<sup>2</sup>, Olga V. Nesterova<sup>2</sup>, Elizaveta A. Pankratova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> FSBI "National Medical Research Center of Oncology. N. N. Blokhin", 23, Kashirskoe highway, Moscow, 115478, Russia

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

\* Corresponding author: Dmytry A. Kozin. E-mail: [kozin1993@inbox.ru](mailto:kozin1993@inbox.ru)

ORCID: Elena V. Ignateva – <https://orcid.org/0000-0002-9200-4492>; Irina V. Yartseva – <https://orcid.org/0000-0002-8818-7812>; Zoya S. Shprakh – <https://orcid.org/0003-3034-750X>;

Andrej P. Bud'ko – <https://orcid.org/0000-0001-6594-4051>; Lydya V. Ektova – <https://orcid.org/0000-0002-3987-6072>; Dmytry A. Kozin – <https://orcid.org/0000-0003-1125-1932>;

Vladimir Yu. Reshetnyak – <https://orcid.org/0000-0003-1704-7828>; Olga V. Nesterova – <https://orcid.org/0000-0002-7424-0627>;

Elizaveta A. Pankratova – <https://orcid.org/0000-0003-1237-1207>.

Received: 12.04.2021

Revised: 11.06.2021

Published: 25.08.2021

© Игнатьева Е. В., Ярцева И. В., Шпрах З. С., Будько А. П., Эктова Л. В., Козин Д. А., Решетняк В. Ю., Нестерова О. В., Панкратова Е. А., 2021

© Ignateva E. V., Yartseva I. V., Shprakh Z. S., Bud'ko A. P., Ektova L. V., Kozin D. A., Reshetnyak V. Yu., Nesterova O. V., Pankratova E. A., 2021

## Abstract

**Introduction.** Indolocarbazole derivatives are of increasing scientific interest for practical oncology. A number of N-glycosides, indolo[2,3-a]carbazole under the laboratory code LCS, were synthesized in the laboratory of chemical synthesis of the National Medical Center of Oncology named after N.N. Blokhin. Currently, one of the most promising compounds in this class is LCS-1208, a representative of the arabinoside class of indolo [2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione. According to the mechanism of biological action, LCS-1208 is a protein kinase C inhibitor and is of great interest for the treatment of malignant neoplasms.

**Aim.** chemical and pharmaceutical standardization of the pharmaceutical substance LCS-1208.

**Materials and methods.** Laboratory samples of pharmaceutical substance LCS-1208. Methods of investigation: gravimetry, spectrophotometry, polarimetry, high-performance liquid chromatography (HPLC), high-resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and infrared (IR) spectroscopy.

**Results and discussion.** The quality assessment of LCS-1208 was carried out according to the indicators adopted in the XIV edition of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation for quality control of pharmaceutical substances. LCS-1208 – orange amorphous powder, odorless; soluble in dimethylsulfoxide (DMSO) and dimethylformamide (DMF); very slightly soluble in 95 % ethyl alcohol and practically insoluble in water. The authenticity of the substance is confirmed by NMR and IR spectra, as well as electronic absorption spectra. The values of the specific optical rotation of LCS-1208 (1 % solution in DMF) are placed in the range from +58° to +61°. All the studied samples of the substance were free of inorganic impurities, sulphate ash, heavy metals and contained no more than 1.0 % water, determined by the K. Fischer titration method. The content of possible related impurities in the substance LCS-1208 and the content of the main active substance were determined by HPLC. The studied laboratory series of the pharmaceutical substance LCS-1208 contained no more than 1.0 % of any single and no more than 3 % of the total unidentified impurities. The content of the main active substance was more than 97 %.

**Conclusion.** As a result of the work carried out, quality criteria and parameters were selected and methods for their determination were developed, which allow to adequately assess the quality and standardness of the pharmaceutical substance LCS-1208.

**Keywords:** indolocarbazoles, analysis, standardization, pharmaceutical substances, spectrophotometry, chromatography

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Zoya S. Shprakh, Elena V. Ignateva and Irina V. Yartseva developed a plan of experiments. Lydya V. Ektova synthesized samples. Dmytry A. Kozin, Elena V. Ignatieva and Andrej P. Bud'ko conducted studies of the pharmaceutical substance LCS-1208. Olga V. Nesterova, Vladimir Yu. Reshetnyak and Elizaveta A. Pankratova took part in writing the text of the article. All the authors participated in the analysis and discussion of the results.

**For citation:** Ignateva E. V., Yartseva I. V., Shprakh Z. S., Bud'ko A. P., Ektova L. V., Kozin D. A., Reshetnyak V. Yu., Nesterova O. V., Pankratova E. A. Standardization of the pharmaceutical substance of the drug LCS-1208. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):88–94. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-88-94>

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на большой выбор соединений, проявляющих противоопухолевую активность, и разнообразие механизмов их действия эффективность большинства из существующих лекарственных средств, применяемых в онкологии, продолжает оставаться недостаточной. В связи с этим создание эффективных оригинальных отечественных противоопухолевых препаратов по-прежнему сохраняет свою актуальность. За счет широкого спектра биологической активности все больший научный интерес среди гетероциклических соединений природного и синтетического происхождения вызывают производные индолокарбазола [1–3]. Широкий спектр биологической активности производных индолокарбазола во многом обуславливается их мультитаргетностью: индолокарбазолы являются ингибиторами ряда протеинкиназ и топоизомеразы I [2–5], что делает их потенциальными кандидатами на роль новых противоопухолевых препаратов [6–8]. В лаборатории химического синтеза Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н. Н. Блохина синтезирован ряд N-гликозидов индоло[2,3-a]карбазола под лабораторным шифром ЛХС [9]. В настоящий момент одним из наиболее перспективных

соединений этого класса является ЛХС-1208 (6-амино-12-(α-L-арабинопиранозил)индоло[2,3-a]пирроло [3,4-c]карбазол-5,7-дион) (рисунок 1), относящийся по механизму действия к ингибиторам протеинкиназы С. В ходе доклинических исследований ЛХС-1208 показал выраженное цитотоксическое действие как *in vitro*, так и *in vivo* [10]. Для дальнейшего внедрения ЛХС-1208 в медицинскую практику необходима разработка методов контроля качества фармацевтической субстанции для создания соответствующего нормативного документа.

**Целью настоящей работы** является выбор критериев и параметров стандартизации и разработка методик, необходимых для контроля качества фармацевтической субстанции ЛХС-1208.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методики стандартизации разрабатывали на двадцати лабораторных образцах фармацевтической субстанции ЛХС-1208, синтезированных в разное время.

**Оборудование:** весы аналитические Sartorius 2405 (Sartorius, Германия), ядерный магнитно-резонансный (ЯМР) спектрометр Bruker WH-500, (Bruker, США), инфракрасный (ИК) спектрометр Nicolet iS20 (Ther-

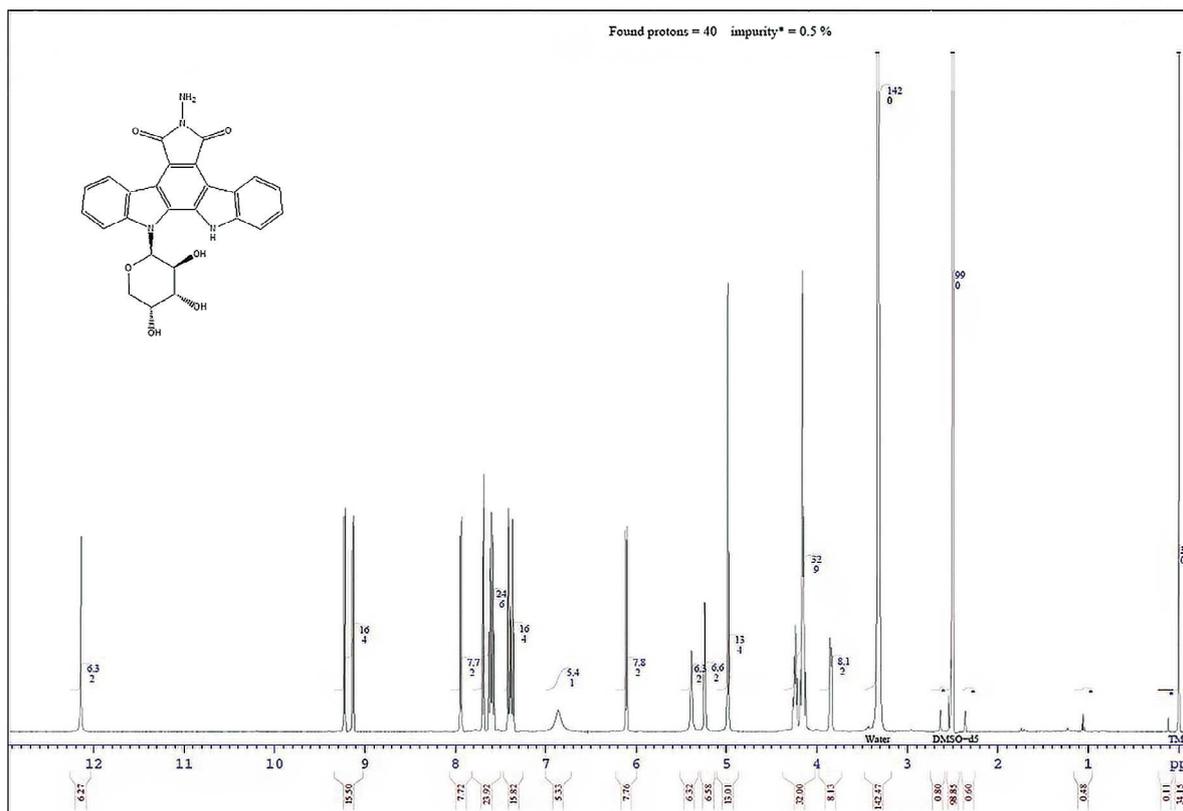


Рисунок 1. Структурная формула ЛХС-1208 и  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр в ДМСО- $d_6$

Figure 1. Structural formula of LCS-1208 and  $^1\text{H}$  NMR-spectrum in DMSO- $d_6$

мо Fisher Scientific, США), спектрофотометр Cary 100 (Varian, США), поляриметр Unipol L (Schmidt + Haensch, Германия), муфельная печь СНОЛ 6/11 (ООО «Техно-Терм», Россия), сушильный шкаф ED 23 (Binder, Германия), автоматический титратор VD-20 (Mettler Toledo, Швейцария), аналитический жидкостный хроматограф с диодно-матричным детектором Agilent 1200 (Agilent Technologies, США), холодильник фармацевтический Forma FRPH1204V (Thermo Fisher Scientific, США).

**Реактивы:** вода очищенная (ФС 2.2.0020.18.), дейтерированный диметилсульфоксид ДМСО- $d_6$  с содержанием дейтерия 99,96 % (Sigma-Aldrich, США), тетраметилсилан ACS NMR grade  $\geq 99,9$  % (Sigma-Aldrich, США), бромид калия IR grade (PIKE Technologies, США), диметилформамид (ДМФА) х.ч. (ООО «ТД «ХИММЕД», Россия), этанол 96 % (ООО «Гиппократ», Россия), трифторуксусная кислота (ТФУК) для ВЭЖХ  $\geq 99,0$  % (Sigma-Aldrich, США), ацетонитрил gradient grade для ВЭЖХ (Merck, Германия), диметилсульфоксид (ДМСО)  $> 99$  % (Acros Organics, Бельгия), серная кислота концентрированная (ООО «ТД «ХИММЕД», Россия) и реактивы Hydranal для количественного определения воды по методу К. Фишера (Fluka, Германия).

ИК-спектры снимали в дисках калия бромида (2/200 мг). Для определения угла вращения готовили 1 % раствор ЛХС-1208 в ДМФА.

Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили с применением колонки ZORBAX SB-C8 (Agilent Technologies, США) размером частиц 5 мкм, длиной 150 мм и внутренним диаметром 3 мм. Подвижная фаза (ПФ) А – вода:ацетонитрил:ТФУК (900:100:0,1 по объёму), ПФ Б – ацетонитрил:вода:ТФУК (750:250:0,1 по объёму) в градиентном режиме от 100 % ПФ А на 0 минуте до 100 % ПФ Б на 15 минуте при скорости потока 0,6 мл/мин в течение 17 минут. Температура колонки  $+40$  °С, длина волны детектора –  $315 \pm 4$  нм. Для получения испытуемого раствора точную навеску образца ЛХС-1208 около 25 мг растворяли в 25 мл смеси ДМСО:ацетонитрил (1:9 по объёму) (раствор А). 5 мл раствора А доводили до объема 25 мл подвижной фазой А (раствор Б). Объем раствора Б, вводимого в петлю инжектора, составлял 5 мкл; каждый образец хроматографировали не менее шести раз. Содержание действующего вещества и примесей в процентах (X) рассчитывали методом внутренней нормализации по формуле:

$$X = \frac{S_i}{\sum S_1 + S_2 + \dots + S_i} \cdot 100 \%,$$

где  $S_i$  – площадь пика единичной примеси в испытуемом образце;  $S_1 + S_2 + \dots + S_i$  – суммарная площадь всех пиков в испытуемом образце.

Хроматографическую систему считали пригодной, если фактор асимметрии пика ЛХС-1208 составлял не более 1,1, относительное стандартное отклонение времени удерживания не превышало 2 %, а относительное стандартное отклонение площади пика – не более 2 %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все представленные для изучения образцы ЛХС-1208 представляли собой аморфный порошок оранжевого цвета без запаха. По принятой в Государственной фармакопее классификации растворимости все испытуемые образцы были растворимы в ДМСО (1:20); умеренно растворимы в ДМФА (1:40); очень мало растворимы в 95%-м этаноле (1:9000) и практически нерастворимы в воде (> 1:10000). Растворы ЛХС-1208 в ДМСО и ДМФА с концентрацией 0,6–0,006 % были прозрачны, что позволило использовать эти растворители в методиках количественного определения.

Строение ЛХС-1208 подтверждено данными фармакопейных физико-химических методов анализа [11]. Так, протонный спектр ядерного магнитного резонанса (<sup>1</sup>H ЯМР) высокого разрешения содержит сигналы, соответствующие по положению и форме протонам как углеводного остатка, так и агликона (рисунок 1). Характеристический вид имеет ИК-спектр, в котором наблюдаются сигналы поглощения, присущие функциональным группам, входящим в состав молекулы ЛХС-1208 (рисунок 2). Отражением ароматической природы агликона является электронный спектр поглощения (ЭСП) растворов препарата в ДМФА в области от 250 до 500 нм. Спектральные характеристики подтверждены на всех образцах препарата, представленных для исследования, и могут быть использованы при описании его подлинности.

Особенно важным для фармацевтического анализа является электронный спектр поглощения, поскольку он обладает количественными характеристиками. В ЭСП ЛХС-1208 имеются максимумы при (287 ± 2) нм и (320 ± 2) нм, плечо при (306 ± 2) нм и при (343 ± 2) нм. Наиболее интенсивными сигналами являются максимумы при λ 287 и 320 нм. Отношение значений оптической плотности ( $D_{320/D287}$ ) для изученных серий составило 1,42 ± 0,05 (рисунок 3). Удельный показатель поглощения в наиболее интенсивном максимуме поглощения при 320 нм укладывался в пределы 1054 ± 30. Проведенное дополнительное исследование ЭСП ЛХС-1208 показало, что прямая зависимость интенсивности поглощения от концентрации вещества в растворе наблюдается для обоих максимумов (рисунок 4). Однако сигнал при 320 нм является наиболее интенсивным и более пригодным для количественных определений.

Молекула ЛХС-1208 является оптически активным соединением за счет присутствия в ее структуре углеводного компонента. Поэтому еще одним количественным показателем подлинности и качества может служить удельное оптическое вращение. Результаты, полученные для исследуемых образцов, укладывались в интервал от +58° до +61°.

Так как в процессе синтеза ЛХС-1208 применяли ряд хлорорганических реагентов [9], во всех образцах определяли содержание хлора методом сжигания в колбе с кислородом в соответствии с ОФС.1.2.3.0010.15. Ни в одном из исследуемых образцов хлора не было обнаружено. Образцы также не содержали неорганических примесей, что было показано при испытаниях на сульфатную золу (ОФС.1.2.2.2.0014.15), и тяжелых металлов (ОФС.1.2.2.2.0012.15).

При определении потери в массе при высушивании (ОФС.1.2.1.0010.15, способ 1) и воды по методу

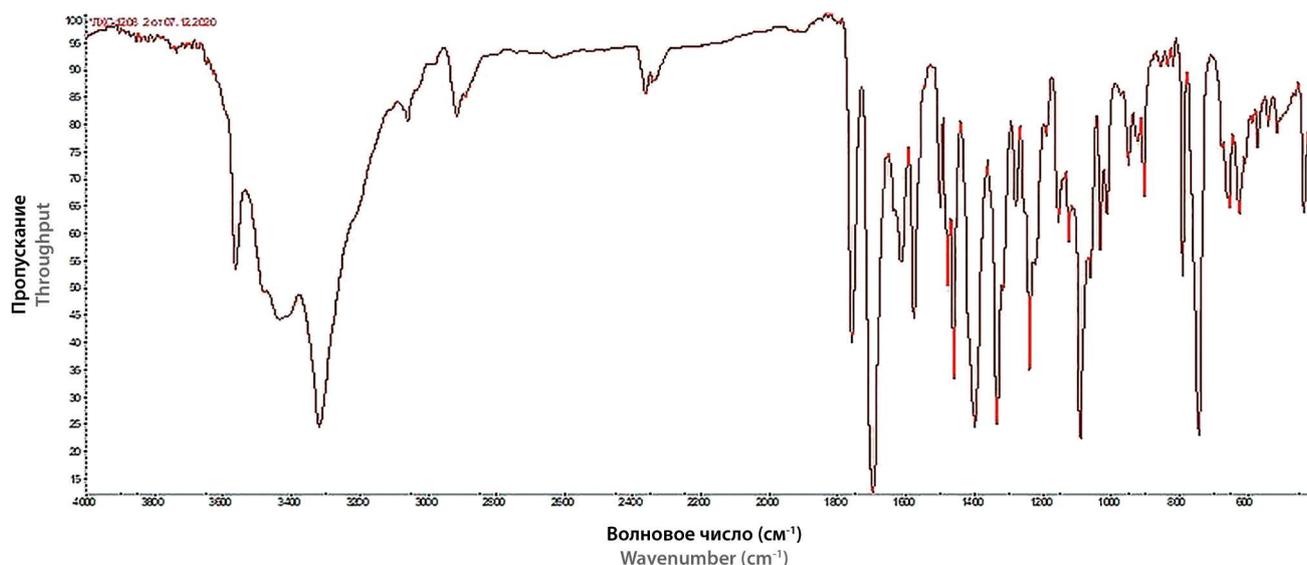
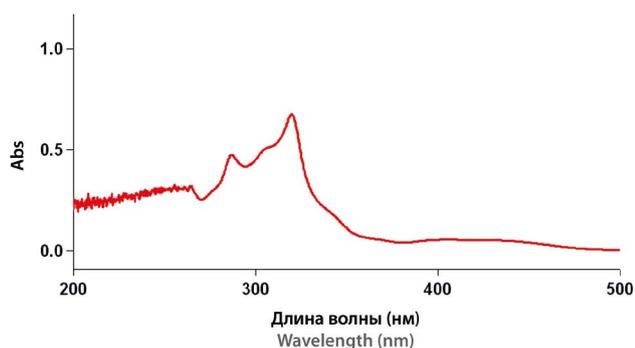


Рисунок 2. ИК-спектр ЛХС-1208 в бромиде калия

Figure 2. IR spectrum of the LCS-1208 in potassium bromide



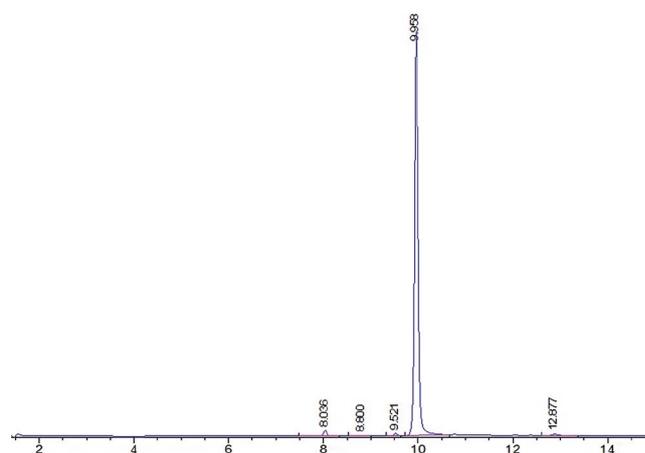
**Рисунок 3.** Электронный спектр поглощения ЛХС-1208 (0,0006 % раствор в ДМФА)

**Figure 3.** Electronic absorption spectrum of LCS-1208 (0,0006 % solution in DMF)

К. Фишера (ОФС.1.2.3.0002.15) были получены близкие результаты, не превышающие 1 %. Подобное совпадение результатов может свидетельствовать об отсутствии в образцах органических растворителей.

Для наиболее точного определения родственных примесей и одновременного количественного определения действующего вещества в субстанции ЛХС-1208 применяли метод ВЭЖХ. На полученных хроматограммах всех анализируемых образцов (рисунок 5) обнаруживали основной пик со временем удерживания около 10,00–10,20 минут, а также четыре малоинтенсивных пика примесей неустановленного строения с относительным временем удерживания (RRT) 0,76; 0,84; 0,91 и 1,08. Разрешение между пиком примеси с RRT около 0,95 и пиком ЛХС-1208 было не менее 2,5, а разрешение между пиком примеси с RRT около 1,08 и пиком ЛХС-1208 – не менее 4. Содержание каждой единичной примеси в образцах не превышало 1,0 %, а общая сумма примесей – 3,0 %. В про-

Fig=315,4 Ref=600,50 (ЛХС1208Б113\_11\_08000007.D)



**Рисунок 5.** Хроматограмма субстанции ЛХС-1208

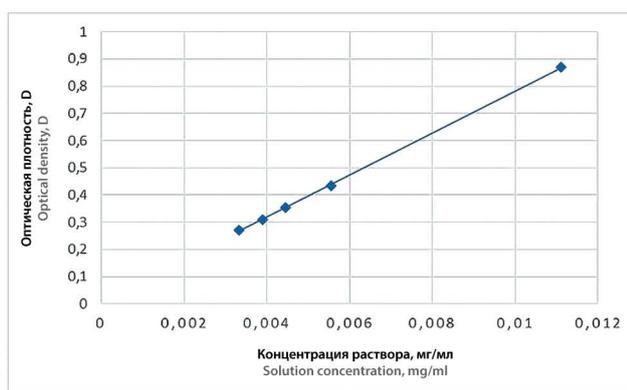
**Figure 5.** Chromatogram of LCS-1208

цессе исследования субстанции на стабильность была выявлена неизменность профиля примесей и устойчивость времен удерживания и коэффициентов разрешения как основного вещества, так и примесей.

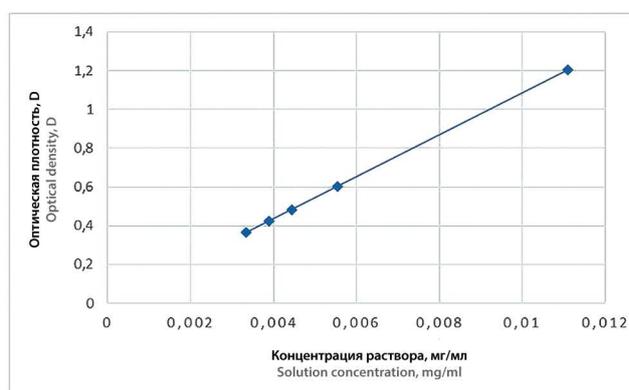
По итогам ВЭЖХ анализа содержание ЛХС-1208 в образцах субстанции составляло не менее 97 %.

На основании результатов проведенных исследований разработана спецификация на фармацевтическую субстанцию ЛХС-1208 (таблица 1).

Исследование стабильности ЛХС-1208 проводили при хранении субстанции в сухом, защищенном от света месте при температуре от +2 до +8 °С (в холодильной камере). Образцы каждой серии хранили в пластиковых банках, укупоренных навинчиваемыми пластиковыми крышками. Контроль качества проводили по вышеописанным критериям. На основе полученных данных установлено, что при хранении об-



**А**  
**А**



**Б**  
**Б**

**Рисунок 4.** Зависимость величины оптической плотности от концентрации растворов ЛХС-1208 в ДМФА:

**А** – при длине волны (287 ± 2) нм; **Б** – при длине волны (320 ± 2) нм

**Figure 4.** Dependence of the optical density on the concentration of solutions of the LCS-1208 in DMF:

**А** – at a wavelength of (287 ± 2) nm; **Б** – at a wavelength of (320 ± 2) nm

Таблица 1. Спецификация на фармацевтическую субстанцию ЛХС-1208

Table 1. Specification for the substance LCS-1208

Показатель Indicator	Методы Methods	Нормы Norms
Описание Description	Визуальный Visual	Аморфный порошок оранжевого цвета, без запаха Amorphous orange powder, odorless
Растворимость Solubility	ГФ XIV SP XIV	Растворим в ДМФА; умеренно растворим в ДМСО; очень мало растворим в спирте этиловом 96 %; практически нерастворим в воде Soluble in DMF; moderately soluble in DMSO; very slightly soluble in 96 % ethyl alcohol; practically insoluble in water
Подлинность Authenticity	Спектрофотометрия Spectrophotometry	Электронный спектр поглощения 0,0006 % раствора в ДМФА в области от 200 до 500 нм должен иметь максимумы поглощения при (287 ± 2) и (320 ± 2) нм The electronic absorption spectrum of 0.0006 % solution in DMFA in the range from 200 to 500 nm should have absorption maxima at (287 ± 2) and (320 ± 2) nm
	ИК-спектроскопия IR spectroscopy	ИК-спектр препарата в области от 4000 до 400 см <sup>-1</sup> должен иметь полное совпадение полос поглощения с ИК-спектром стандартного образца The IR spectrum of the preparation in the region of 4000 to 400 cm <sup>-1</sup> should have a complete coincidence of the absorption bands with the IR spectrum of the standard sample
Удельное вращение Rotation angle	ГФ XIV SP XIV	От +58° до 61° (1 % раствор в ДМФА) From +58° to +61° (1 % solution in DMF)
Родственные примеси Related impurities	ВЭЖХ HPLC	Любая единичная неидентифицированная примесь – не более 1,0 %. Сумма примесей – не более 3,0 % Any single unidentified impurity – no more 1.0 %. The amount of impurities – no more 3.0 %
Сульфатная зола и тяжелые металлы Sulphate ash and heavy metals	ГФ XIV SP XIV	Сульфатная зола не более 0,10 %. Тяжелые металлы – не более 0,001 % Sulphated ash no more than 0.10 %. heavy metals - no more than 0.001 %
Вода Water	ГФ XIV SP XIV	Не более 1,0 % (по методу К. Фишера) Not more 1.0 % (according to the method of K. Fischer)
Количественное определение Assay	ВЭЖХ HPLC	Не менее 97,0 % Not less than 97.0 %

разцов ЛХС-1208 в течение 2 лет в указанных выше условиях значимых изменений качества субстанции не происходит.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтетическое производное индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1208 является перспективным лекарственным средством для терапии злокачественных новообразований. Проведено исследование параметров, регламентируемых Государственной фармакопеей в качестве наиболее значимых и необходимых для стандартизации новой фармацевтической субстанции.

На основании исследований, проведенных с применением наиболее современных и точных фармакопейных методов анализа, были получены экспериментальные данные, характеризующие качество и сроки хранения субстанции ЛХС-1208, которые в дальнейшем станут основой для разработки нормативного документа по качеству.

## ЛИТЕРАТУРА

- Issa S., Prandina A., Bedel N., Rongved P., Yous S., Le Borgne M., Bouaziz Z. Carbazole scaffolds in cancer therapy: a review from 2012 to 2018. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2019;34(1):1321–1346. DOI: 10.1080/14756366.2019.1640692.
- Tong J., Jiang G., Li L., Li Y. Molecular docking and 3D QSAR research of indolocarbazole series as cyclin-dependent kinase inhibitors. *Journal of Structural Chemistry*. 2018;59(7):1555–1563. DOI: 10.1134/S0022476618070065.
- Janosik T., Rannug A., Rannug U., Wahlström N., Slätt J., Bergman J. Chemistry and Properties of Indolocarbazoles. *Chemical Reviews*. 2018;118(18):9058–9128. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00186.
- Cheng X., Zhou B., Liu H., Huo C., Ding W. One new indolocarbazole alkaloid from the *Streptomyces* sp. A22. *Natural Product Research*. 2018;32(21):2583–2588. DOI: 10.1080/14786419.2018.1428595.
- Cinelli M. A. Topoisomerase 1B poisons: Over a half-century of drug leads, clinical candidates, and serendipitous discoveries. *Medicinal Research Reviews*. 2019;39(4):1294–1337. DOI: 10.1002/med.21546.
- Wang J., Jin W., Zhou X., Li J., Xu C., Ma Z., Wang J., Qin L., Zhou B., Ding W., Gao T., Yao H., Chen Z. Identification, Structure–Activity Relationships of Marine-Derived Indolocarbazoles, and a Dual PKC $\theta$ / $\delta$  Inhibitor with Potent Antipancreatic Cancer Efficacy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020;63(21):12978–12991. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01271.
- Zhou B., Qin L.-L., Ding W.-J., Ma Z.-J. Cytotoxic indolocarbazoles alkaloids from the *streptomyces* sp. A65. *Tetrahedron*. 2018;74(7):726–730. DOI: 10.1016/j.tet.2017.12.048.
- Yang C. L., Zhang B., Xue W. W., Li W., Xu. Z. F., Shi J., Shen Y., Jiao R. H., Tan R. X., Ge H. M. Discovery, biosynthesis, and heterologous production of loonamycin, a potent anticancer indolocarbazole alkaloid. *Organic Letters*. 2020;22(12):4665–4669. DOI: 10.1021/acs.orglett.0c01456.
- Éktova L. V., Goryunova O. V., Eremina V. A., Tikhonova N. I., Medvedeva L. A. An Improved Method for the Synthesis of the

- of Indole[2,3-a]Pyrrolo[3,4-c]Carbazole-5,6-Dione N-Glycosides and their Cytotoxic Activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019;53(7):604–609. DOI: 10.1007/s11094-019-02046-4.
10. Ektova L. V., Eremina V. A., Tikhonova N. I., Plikhtyak I. L., Medvedeva L. A., Yartseva I. V., Moiseeva N. I., Golubeva I. S., Yavorskaya I. P., Bud'ko A. P., Tarasova O. I., Pugacheva R. B. Synthesis and Cytotoxic Activity of Indolo[2,3-a]Pyrrolo[3,4-c]Carbazole-5,7-Dione N-Glycosides Substituted on the Maleimide Nitrogen Atom. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54(5):455–458. DOI: 10.1007/s11094-020-02222-x.
11. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. 2018. Доступно по: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/xiv-izdanie-gosudarstvennoy-farmakopei-rossiyskoy-federatsii>. Ссылка активна на 27.05.2021.
12. Wang J., Jin W., Zhou X., Li J., Xu C., Ma Z., Wang J., Qin L., Zhou B., Ding W., Gao T., Yao H., Chen Z. Identification, Structure–Activity Relationships of Marine-Derived Indolocarbazoles, and a Dual PKC $\theta$ / $\delta$  Inhibitor with Potent Antipancreatic Cancer Efficacy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020;63(21):12978–12991. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01271.
13. Zhou B., Qin L.-L., Ding W.-J., Ma Z.-J. Cytotoxic indolocarbazoles alkaloids from the streptomycetes sp. A65. *Tetrahedron*. 2018;74(7):726–730. DOI: 10.1016/j.tet.2017.12.048.
14. Yang C. L., Zhang B., Xue W. W., Li W., Xu. Z. F., Shi J., Shen Y., Jiao R. H., Tan R. X., Ge H. M. Discovery, biosynthesis, and heterologous production of loonamycin, a potent anticancer indolocarbazole alkaloid. *Organic Letters*. 2020;22(12):4665–4669. DOI: 10.1021/acs.orglett.0c01456.
15. Éktova L. V., Goryunova O. V., Eremina V. A., Tikhonova N. I., Medvedeva L. A. An Improved Method for the Synthesis of the of Indole[2,3-a]Pyrrolo[3,4-c]Carbazole-5,6-Dione N-Glycosides and their Cytotoxic Activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019;53(7):604–609. DOI: 10.1007/s11094-019-02046-4.
16. Ektova L. V., Eremina V. A., Tikhonova N. I., Plikhtyak I. L., Medvedeva L. A., Yartseva I. V., Moiseeva N. I., Golubeva I. S., Yavorskaya I. P., Bud'ko A. P., Tarasova O. I., Pugacheva R. B. Synthesis and Cytotoxic Activity of Indolo[2,3-a]Pyrrolo[3,4-c]Carbazole-5,7-Dione N-Glycosides Substituted on the Maleimide Nitrogen Atom. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54(5):455–458. DOI: 10.1007/s11094-020-02222-x.
17. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdanie [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. 2018. Available at: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/xiv-izdanie-gosudarstvennoy-farmakopei-rossiyskoy-federatsii>. Accessed: 27.05.2021. (In Russ.)

## REFERENCES

1. Issa S., Prandina A., Bedel N., Rongved P., Yous S., Le Borgne M., Bouaziz Z. Carbazole scaffolds in cancer therapy: a review from 2012 to 2018. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2019;34(1):1321–1346. DOI: 10.1080/14756366.2019.1640692.
2. Tong J., Jiang G., Li L., Li Y. Molecular docking and 3D QSAR research of indolocarbazole series as cyclin-dependent kinase inhibitors. *Journal of Structural Chemistry*. 2018;59(7):1555–1563. DOI: 10.1134/S0022476618070065.
3. Janosik T., Rannug A., Rannug U., Wahlström N., Slätt J., Bergman J. Chemistry and Properties of Indolocarbazoles. *Chemical Reviews*. 2018;118(18):9058–9128. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00186.
4. Cheng X., Zhou B., Liu H., Huo C., Ding W. One new indolocarbazole alkaloid from the *Streptomyces* sp. A22. *Natural Product Research*. 2018;32(21):2583–2588. DOI: 10.1080/14786419.2018.1428595.
5. Cinelli M. A. Topoisomerase 1B poisons: Over a half-century of drug leads, clinical candidates, and serendipitous discoveries. *Medicinal Research Reviews*. 2019;39(4):1294–1337. DOI: 10.1002/med.21546.

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-95-99>  
УДК 615.032:615.072



Оригинальная статья / Research article

## Фитохимический анализ листьев лоха серебристого *Elaeagnus argentea*

Н. А. Сальникова, Ю. В. Шур\*, А. А. Цибизова

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России (Астраханский ГМУ; ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России), 414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

\*Контактное лицо: Шур Юлия. E-mail: flora-888@mail.ru

ORCID: Н. А. Сальникова – <https://orcid.org/0000-0003-2783-4059>; Ю. В. Шур – <https://orcid.org/0000-0001-5958-1362>; А. А. Цибизова – <https://orcid.org/0000-0002-9994-4751>.

Статья поступила: 11.05.2021      Статья принята в печать: 21.06.2021      Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В настоящее время пристальное внимание в области фармации и медицины направлено на поиск новых источников биологически активных веществ различного происхождения, в том числе и растительного. В качестве перспективного источника рассматривается древесное растение *Elaeagnus argentea*. Несмотря на его широкое применение в пищевой промышленности, народной медицине в качестве противовоспалительного, общеукрепляющего, противомикробного средства, химический состав данного растения изучен недостаточно.

**Цель.** Качественно-количественное определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) в сырье (листьях) *Elaeagnus argentea*, произрастающего на территории Астраханской области, для дальнейшей разработки методики стандартизации сырья данного растения.

**Материалы и методы.** Листья *Elaeagnus argentea* были заготовлены весной в восточной части дельты Астраханской области (Приволжский район). Сушка сырья производилась в естественных условиях. В исследовании были использованы унифицированные методики: для установления количества флавоноидов и сапонинов использовали спектрофотометрический метод, аскорбиновой кислоты – титриметрический метод. Для анализа флавоноидов в листьях *Elaeagnus argentea* в качестве экстрагента использовали водно-спиртовой раствор 70 % концентрации. Количественное содержание флавоноидов определяли в полученном экстракте сырья в пересчете на лютеолин-7-глюкозид. Количество сапонинов в листьях *Elaeagnus argentea* определяли в пересчете на олеаноловую кислоту. В качестве экстрагента использовали 96%-й этанол. Количественное определение аскорбиновой кислоты в водном извлечении измельченного сырья проводили методом титриметрии, основанным на способности восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол.

**Результаты и обсуждение.** При фармакогностическом изучении БАВ в листьях *Elaeagnus argentea* установлено содержание аскорбиновой кислоты не менее 0,32 %, суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид – не менее 1,92 %; сапонинов – 2,38 %, что указывает на необходимость более детального исследования фитохимического состава других морфологических групп растения *Elaeagnus argentea*, произрастающего на территории Астраханской области.

**Заключение.** Полученные в ходе исследования данные могут быть использованы для подтверждения качества сырья (листья) *Elaeagnus argentea*. Более детальное исследование листьев на наличие других групп БАВ позволит использовать полученные данные для разработки нормативной документации (НД) на лекарственное растительное сырье «Лоха листья».

**Ключевые слова:** *Elaeagnus argentea*, листья, биологически активные вещества, количественный анализ, флавоноиды, сапонины, аскорбиновая кислота

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Н. А. Сальникова сделала концепцию экспериментального исследования, сбор и обработку материала, написала текст статьи. Ю. В. Шур сделала сбор и заготовку сырья листьев лоха серебристого, проведение количественного определения БАВ указанными методами, обработку материала. А. А. Цибизова сделала концепцию исследования, сбор и обработку материала, анализ литературных данных.

**Для цитирования:** Сальникова Н. А., Шур Ю. В., Цибизова А. А. Фитохимический анализ листьев лоха серебристого *Elaeagnus argentea*. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021;10(3):95–99. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-95-99>

## Phytochemical Analysis of *Elaeagnus Argentea* Leaves

Natalya A. Salnikova, Yuliya V. Shur\*, Alexandra A. Tsibizova

Astrakhan State Medical University, 121, Bakinskay str., Astrakhan, 414000, Russia

\*Corresponding author: Yuliya V. Shur. E-mail: flora-888@mail.ru

ORCID: Natalya A. Salnikova – <https://orcid.org/0000-0003-2783-4059>; Yuliya V. Shur – <https://orcid.org/0000-0001-5958-1362>; Alexandra A. Tsibizova – <https://orcid.org/0000-0002-9994-4751>.

Received: 11.05.2021      Revised: 21.06.2021      Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Currently, close attention in the field of pharmacy and medicine is directed to the search for new sources of biologically active substances of various origins, including vegetable. The woody plant *Elaeagnus argentea* is considered as a promising source. Despite its widespread use in the food industry, folk medicine as an anti-inflammatory, restorative, antimicrobial agent, the chemical composition of this plant has not been sufficiently studied.

**Aim.** Qualitative and quantitative determination of the main groups of biologically active substances (BAS) in the raw material (leaves) of *Elaeagnus argentea* growing on the territory of the Astrakhan region for further development of a methodology for standardizing the raw material of this plant.

© Сальникова Н. А., Шур Ю. В., Цибизова А. А., 2021

© Salnikova N. A., Shur Yu. V., Tsibizova A. A., 2021

**Materials and methods.** The leaves of *Elaeagnus argentea* were harvested in the spring in the eastern part of the delta of the Astrakhan region (Volga region). Drying of raw materials was carried out in natural conditions. In the study, unified methods were used: to determine the amount of flavonoids and saponins, the spectrophotometric method was used, ascorbic acid – the titrimetric method. For the analysis of flavonoids in the leaves of *Elaeagnus argentea*, an aqueous-alcoholic solution of 70 % concentration was used as an extractant. The quantitative content of flavonoids was determined in the obtained raw material extract in terms of luteolin-7-glucoside. The amount of saponins in the leaves of *Elaeagnus argentea* was determined in terms of oleanolic acid. 96 % ethanol was used as an extractant. The quantitative determination of ascorbic acid in the aqueous extract of crushed raw materials was carried out by titrimetry based on the ability to reduce 2,6-dichlorophenolindophenol.

**Results and discussion.** In the pharmacognostic study of biologically active substances in the leaves of *Elaeagnus argentea*, the content of ascorbic acid was found to be at least 0.32 %, the amount of flavonoids in terms of luteolin-7-glucoside was at least 1.92 %; saponins – 2.38 %; which indicates the need for a more detailed study of the phytochemical composition of other morphological groups of the plant *Elaeagnus argentea* growing in the Astrakhan region.

**Conclusion.** The data obtained during the study can be used to confirm the quality of raw materials (leaves) of *Elaeagnus argentea*. A more detailed study of leaves for the presence of other groups of biologically active substances will make it possible to use the obtained data for the development of regulatory documents for medicinal plant raw materials «*Elaeagnus argentea* leaves».

**Keywords:** *Elaeagnus argentea*, leaves, biologically active substances, quantitative analysis, flavonoids, saponins, ascorbic acid

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Natalya A. Salnikova made the experimental research concept, collection and processing of material, text writing. Yuliya V. Shur made the collection and procurement of raw materials from the leaves of the *Elaeagnus argentea*, quantitative determination of biologically active substances by the indicated methods, processing of the material. Aleksandra A. Tsibizova made the research concept, collection and processing of material, analysis of literary data.

**For citation:** Salnikova N. A., Shur Yu. V., Tsibizova A. A. Phytochemical analysis of *Elaeagnus argentea* leaves. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):95–99. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-95-99>

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время пристальное внимание в области фармации и медицины направлено на поиск новых потенциальных источников биологически активных веществ различного происхождения, в том числе и растительного. Актуальность применения растений в качестве основы для разработки лекарственных препаратов связана с их преимуществами в сравнении с синтетическими средствами, а именно: широта фармакологического воздействия, безопасность и низкая токсичность, что определяет возможность применения фитопрепаратов у пациентов различного возраста, в том числе и детей, в течение длительного периода, не вызывая побочных явлений [1, 2]. Особый интерес в данном направлении вызывают представители рода Лох (*Elaeagnus*), исследования которого посвящены изучению химического состава, терапевтического и нутрицевтического потенциала различных частей растения [3]. Представители рода *Elaeagnus* имеют в своем составе уникальный химический комплекс, обладающий широким спектром биологической активности, что позволяет использовать их в лечении различных заболеваний, при этом оказывая противовоспалительное, вяжущее, общеукрепляющее, противомикробное и другие виды действия [4–9].

Так, например, в исследованиях S. Carradori с соавторами подтверждена корреляция между химическим составом и высоким антиоксидантным потенциалом экстрактов, выделенных из листьев *Elaeagnus angustifolia*, по сравнению с экстрактами, полученными

ми из плодов этого растения, с точки зрения содержания фенольных соединений и флавоноидов [4].

Согласно литературным данным, у экстрактов, полученных из листьев *Elaeagnus mollis* с помощью различных растворителей (вода, метанол, этанол и *n*-гексан), установлены антиоксидантное действие, антипролиферативная активность в отношении клеток HepG2 и потенциал ингибирования ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы. Корреляционный анализ в исследовании показал, что высокая антиоксидантная и HepG2-антипролиферативная активность в основном связана с общими фенолами, флавоноидами и проантоцианидинами, в то время как ингибирование ацетилхолинэстеразы объясняется общим содержанием алкалоидов и каротина [5].

Наше внимание в качестве объекта исследования привлек Лох серебристый (*Elaeagnus argentea*) – многолетнее древесное растение, произрастающее на территории Астраханского края. Несмотря на его широкое применение в пищевой промышленности и народной медицине, химический состав данного растения на данный момент изучен недостаточно.

**Цель работы** – фитохимическое изучение листьев лоха серебристого (*Elaeagnus argentea*), произрастающего на территории Астраханской области.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовались листья *Elaeagnus argentea*, собранные в мае 2019 г. в восточной части дельты на территории Приволжс-

кого района Астраханской области, после чего сырье было подвергнуто первичной обработке и сушке воздушно-теневым способом. Количественный анализ БАВ в листьях пересчитывали на абсолютно-сухое сырье. При подготовке растительного сырья к анализу (измельченность сырья, определение влажности) руководствовались требованиями, указанными в ОФС.1.5.3.0007.15, ОФС.1.5.0003.15, ОФС.1.5.3.0004.15 [10]. Влажность сырья при высушивании составила не более 7,0 %. Степень измельченности листьев составила не более 3 мм.

Определение количества активных компонентов в сырье проводили по методикам, изложенным в Государственной фармакопее: для установления количества флавоноидов и сапонинов использовали спектрофотометрический метод, аскорбиновой кислоты – титриметрический метод [10, 11]. Для анализа флавоноидов в листьях *Elaeagnus argentea* в качестве экстрагента использовали свежеприготовленный 70%-й раствор спирта. Извлечение получено в соотношении 1:10 путем настаивания на водяной бане при 60 °С в течение 2 часов. В связи с тем, что изучаемое растение произрастает в условиях повышенной инсоляции пересчет вели на лутеолин-7-глюкозид [10, 11], количество которого возрастает в континентальном, засушливом климате [12]. Расчет суммы флавоноидов проводили с использованием теоретического значения удельного показателя поглощения государственного стандартного образца лутеолина-7-глюкозида. Количество сапонинов пересчитывали на кислоту олеаноловую, а в качестве экстрагента для сырья использовали 96%-й этанол. Количество аскорбиновой кислоты в водном извлечении измельченного сырья устанавливали методом титриметрии (2,6-дихлорфенолиндофенол). Экстракцию сырья проводили дистиллированной водой в стандартном соотношении сырья и экстрагента (1:10) в течение 2 ч (120 минут) [10, 11]. Эксперименты повторяли в 5 се-

риях. Дальнейшую статистическую обработку полученных данных проводили путем определения унифицированных метрологических характеристик и относительного стандартного отклонения, в % [13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дифференциальный спектр поглощения вытяжки из листьев *Elaeagnus argentea* с алюминием хлорида представлен на рисунке 1, количественное содержание и метрологическая характеристика представлена в таблице 1.

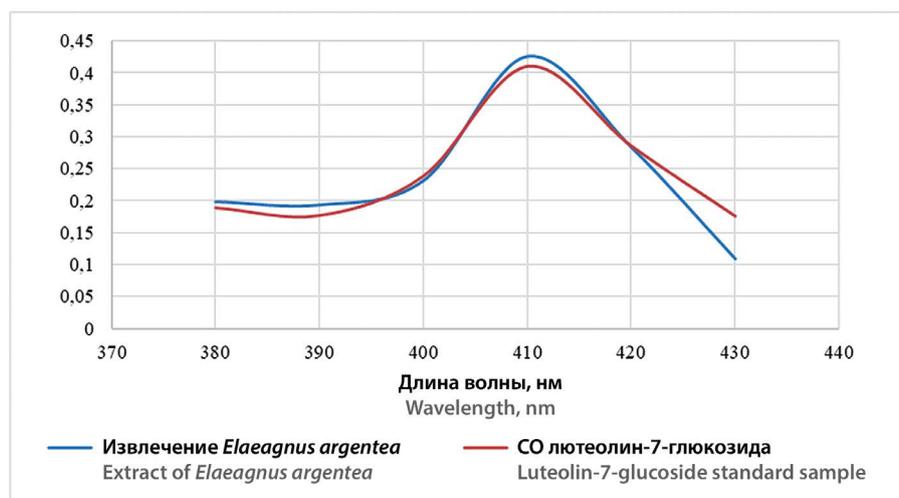
Как видно из рисунка 1, максимум поглощения флавоноидов наблюдался при длине волны ( $\lambda$ ) = 410 нм и оптической плотности ( $A$ ) = 0,4. Аналогичный максимум поглощения наблюдался и для раствора стандартного образца лутеолин-7-глюкозида.

**Таблица 1.** Метрологическая характеристика определения суммы флавоноидов в листьях *Elaeagnus argentea* в пересчете на лутеолин-7-глюкозид

**Table 1.** Metrological characteristics of determining the sum of flavonoids in the leaves of *Elaeagnus argentea* in terms of luteolin-7-glucoside

№	Масса навески, г Sample weight, g	Сумма флавоноидов, % The sum of flavonoids, %	Метрологические данные Metrological data	RSD % относительное стандартное отклонение, % RSD % (relative standard deviation, %)
1	1,5020	1,92	$X_{cp.} = 1,908$ $S^2 = 0,00025$ $S_r = 0,0158$ $S_{xcp.} = 0,007$ $\epsilon_{cp.} = 0,73 \%$	RSD = 0,34 %
2	1,5013	1,91		
3	1,5032	1,90		
4	1,5021	1,89		
5	1,5010	1,92		

Результаты по спектрофотометрическому анализу сапонинов представлены на рисунке 2, метрологическая характеристика определения суммы сапони-



**Рисунок 1.** Спектрофотометрическая кривая суммы флавоноидов в листьях *Elaeagnus argentea*

**Figure 1.** Absorption spectrum of the sum of flavonoids in the leaves *Elaeagnus argentea*

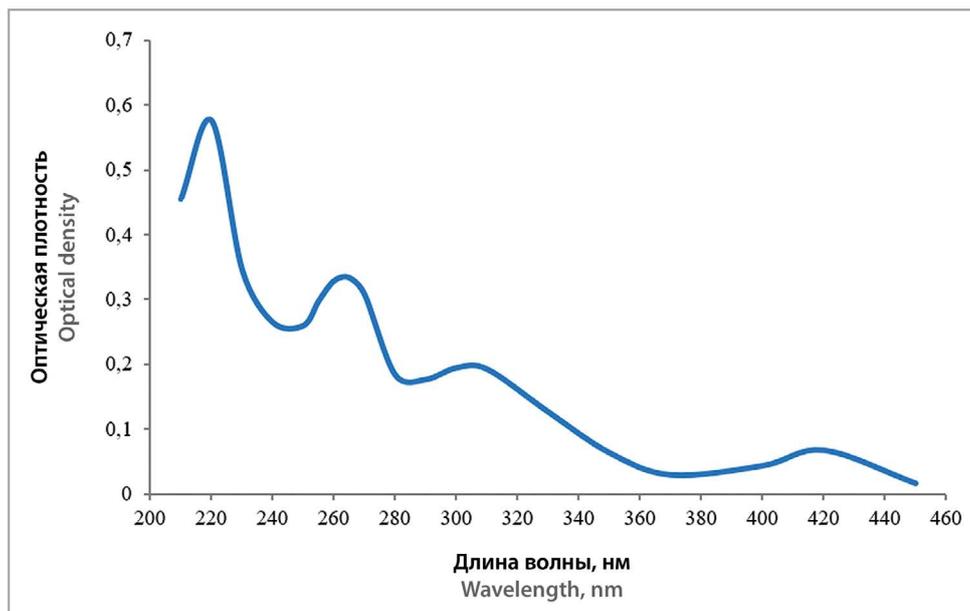


Рисунок 2. Спектр поглощения суммы сапонинов листьев *Eleagnus argentea*

Figure 2. Absorption spectrum of the sum of saponins in the leaves *Eleagnus argentea*

нов – в таблице 2. Максимум поглощения сапонинов, содержащихся в листьях *Eleagnus argentea*, наблюдался при длине волны ( $\lambda$ ) = 220 нм и оптической плотности ( $A$ ) = 0,6.

Таблица 2. Метрологическая характеристика определения суммы сапонинов листьев *Eleagnus argentea* в пересчете на олеаноловую кислоту

Table 2. Metrological characteristics of determining the sum of saponins in leaves of *Eleagnus argentea* in terms of oleanolic acid

№	Масса навески, г Sample weight, g	Сумма сапонинов, % The sum of saponins, %	Метрологические данные Metrological data	RSD % (относительное стандартное отклонение, %) RSD % (relative standard deviation, %)
1	2,010	2,24	$\bar{X}_{cp.} = 2,374$ $S^2 = 0,05248$ $S_r = 0,2290$ $S_{x_{cp.}} = 0,1024$ $\epsilon_{cp.} = 8,69\%$	RSD = 4,82 %
2	2,013	2,22		
3	2,011	2,70		
4	2,003	2,53		
5	2,006	2,18		

Метрологическая характеристика количественного содержания аскорбиновой кислоты листьев *Eleagnus argentea* представлена в таблице 3.

Установлено, что результаты количественного определения аскорбиновой кислоты в листьях *Eleagnus argentea* показали незначительный уровень ее содержания. Низкие показатели аскорбиновой кислоты, вероятнее всего, связаны с остаточной влажностью используемых для анализа листьев лоха, так как исследованиями доказано, что разница в содержании данного соединения в свежем и высушенном сырье достигает 100 %. [14].

Таблица 3. Метрологическая характеристика определения аскорбиновой кислоты в листьях *Eleagnus argentea*

Table 3. Metrological characteristics of ascorbic acid determination in the leaves of *Eleagnus argentea*

№	Масса навески, г Sample weight, g	Количество кислоты аскорбиновой, % Amount of ascorbic acid, %	Метрологические данные Metrological data	RSD % (относительное стандартное отклонение, %) RSD % (relative standard deviation, %)
1	5,011	0,32	$\bar{X}_{cp.} = 0,332$ $S^2 = 0,0085$ $S_r = 0,023$ $S_{x_{cp.}} = 0,00575$ $\epsilon_{cp.} = 16,39\%$	RSD = 6,93 %
2	5,015	0,35		
3	5,010	0,31		
4	5,014	0,32		
5	5,008	0,36		

В результате проведенного количественного анализа БАВ, содержащихся в листьях *Eleagnus argentea*, получены числовые значения: аскорбиновой кислоты – не менее 0,31 (RSD = 6,93 %); флавоноидов – не менее 1,89 % (RSD = 0,34 %); сапонинов – не менее 2,18 % (RSD = 4,82 %).

При анализе литературных данных о количественном составе БАВ у других представителей рода Лох было установлено, что у растений, произрастающих на территории не черноземных земель средней полосы России (Московская и Тамбовская область), отмечается пониженное содержание биологически активных веществ в сравнении с *Eleagnus argentea*, произрастающего в Астраханской области, что связано с климатическими условиями. Доказано, что высокий уровень солнечной инсоляции при пониженной влажности способствует высокому накоплению БАВ в различных частях растений [3].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в работе определено количественное содержание флавоноидов, сапонинов и аскорбиновой кислоты в листьях *Elaeagnus argentea*, произрастающего на территории Астраханской области. Более детальное исследование основных морфологических групп *Elaeagnus argentea* на присутствие биологически активных веществ позволит использовать полученные данные для разработки нормативной документации на лекарственное растительное сырье «Лохя листья».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кароматов И. Д. Облепиха – лечебное и профилактическое средство народной и научной медицины. *Биология и интегративная медицина*. 2017;8:41–73.
2. Сальникова Н. А., Цибизова А. А., Шур Ю. В. Перспективы применения растений рода *Elaeagnus* в фармацевтической и пищевой промышленности. *Бюллетень науки и практики*. 2018;4(12):134–147.
3. Абизов Е. А. Биологическое и химико-технологическое обоснование лекарственной ценности видов рода *Elaeagnus* L. (лох), интродуцированных в России. Дисс. ... д-р фарм. наук. Москва; 2012. Доступно по: <http://medical-diss.com/medicina/biologicheskoe-i-himiko-tehnologicheskoe-obosnovanie-lekarstvennoy-tsennosti-vidov-roda-elaegagnus-l-loh-introducirovannykh-v-rossii>. Ссылка активна на 08.06.2021.
4. Carradori S., Cairone F., Garzoli S., Fabrizi G., Iazzetti A., Giusti A. M., Menghini L., Uysal S., Ak G., Zengin G., Cesa S. Phytocomplex characterization and biological evaluation of powdered fruits and leaves from *Elaeagnus angustifolia*. *Molecules*. 2020;25(9):1–19. DOI: 10.3390/molecules25092021.
5. Li J., Ma Ya., Kong L., Liu Yu. Comprehensive profiling of phytochemical compounds, antioxidant activities, anti-HepG2 cell proliferation, and cholinesterase inhibitory potential of *Elaeagnus mollis* leaf extracts. *PLOS One*. 2020;15(9):1–16. DOI: 10.1371/journal.pone.0239497.
6. Иващенко Н. В., Самылина И. А., Лапшихина А. А. Изучение полифенольного комплекса лохя узколистного, произрастающего в России. *Фармация*. 2014;7:16–19.
7. Кондратенко Е. И., Лактионов А. П., Байханова О. Д., Касимова С. К. Видовой состав рода *Elaeagnus*, его фитохимические и фармакологические особенности. *Естественные науки*. 2016;1(54):50–57.
8. Коновалова Е. Ю., Стажила Е. Н., Лебеда А. Ф. Исследование аминокислотного состава в листьях растений семейства Лоховые (*Elaeagnaceae* juss.). *Биология та фармація*. 2010:64–67.
9. Садырова М. А., Кароматов И. Д., Амонов М. К. У. Медицинское значение растения лох узколистный. *Биология и интегративная медицина*. 2017;5:154–162.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том IV. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 08.06.2021.
11. Самотруева М. А., Мажитова М. В., Сергалиева М. У., Ясенявская А. Л. Фитохимическая характеристика травы *Astragalus vulpinus* Willd. и психомодулирующая активность экстракта на его основе. *Химико-фармацевтический журнал*. 2021;55(2):40–45.
12. Данилова Н. С., Поскачина Е. Р., Воронов И. В., Семенова В. В. Содержание лютеолин-7-глюкозида в надземной части *Veronica incana* (*Scrophulariaceae*) в Центральной Якутии. *Растительные ресурсы*. 2016;52(3):405–413.
13. Быковский С. Н., Василенко И. А., Демина Н. Б., Шохин И. Е., Новожиллов О. В., Мешковский А. П., Сплицкий О. Р. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли. М.: Перо; 2015. 471 с.
14. Сергунова Е. В. Изучение состава биологически активных веществ лекарственного растительного сырья различных способов консервации и лекарственных препаратов на его осно-

ве. Дис. ... д-р фарм. наук. Москва; 2016. Доступно по: <https://www.disscat.com/content/izuchenie-sostava-biologicheskii-aktivnykh-veshchestv-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-razli>. Ссылка активна на 08.06.2021.

## REFERENCES

1. Karomatov I. D. Sea-buckthorn – medical and prophylactic of traditional and scientific medicine. *Biologiya i integrativnaya meditsina*. 2017;8:41–73. (In Russ.)
2. Salmikova N. A., ©Tsbizova A. A., Shur Yu. V. The prospects for the use of plants in the genus *Elaeagnus* in the pharmaceutical and food industry. *Byulleten' nauki i praktiki = Bulletin of Science and Practice*. 2018;4(12):134–147. (In Russ.)
3. Abizov E. A. *Biologicheskoe i khimiko-tehnologicheskoe obosnovanie lekarstvennoy tsennosti vidov roda Elaeagnus L. (lokh), introdutsirovannykh v Rossii* [Biological and chemical-technological substantiation of the medicinal value of the species of the genus *Elaeagnus* L. (Siberian goose), introduced in Russia] [dissertation]. Moscow; 2012. Available at: <http://medical-diss.com/medicina/biologicheskoe-i-himiko-tehnologicheskoe-obosnovanie-lekarstvennoy-tsennosti-vidov-roda-elaegagnus-l-loh-introducirovannykh-v-rossii>. Accessed: 08.06.2021. (In Russ.)
4. Carradori S., Cairone F., Garzoli S., Fabrizi G., Iazzetti A., Giusti A. M., Menghini L., Uysal S., Ak G., Zengin G., Cesa S. Phytocomplex characterization and biological evaluation of powdered fruits and leaves from *Elaeagnus angustifolia*. *Molecules*. 2020;25(9):1–19. DOI: 10.3390/molecules25092021.
5. Li J., Ma Ya., Kong L., Liu Yu. Comprehensive profiling of phytochemical compounds, antioxidant activities, anti-HepG2 cell proliferation, and cholinesterase inhibitory potential of *Elaeagnus mollis* leaf extracts. *PLOS One*. 2020;15(9):1–16. DOI: 10.1371/journal.pone.0239497.
6. Ivashchenko N. V., Samylina I. A., Lapshikhina A. A. Investigation of the polyphenolic complex of russian olive (*Elaeagnus angustifolia*) growing in Russia. *Farmaciya = Pharmacy*. 2014;7:16–19. (In Russ.)
7. Kondratenko E. I., Laktionov A. P., Baychanova O. D., Kasimova S. K. Species composition of the genus *Elaeagnus*, its biological and pharmacological characteristics. *Estestvennye nauki*. 2016;1(54):50–57. (In Russ.)
8. Konovalova E. Yu., Stazhyla E. N., Lebeda A. Ph. Amino acid research of family *Elaeagnaceae* juss. plants' leaves. *Biologiya ta farmatsiya*. 2010:64–6. (In Ukrainian)
9. Sadyrova M. A., Karomatov I. Dz., Amonov M. K. U. Medical value of the plant russian olive (*Elaeagnus angustifolia*). *Biologiya i integrativnaya meditsina*. 2017;5:154–162. (In Russ.)
10. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdanie* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. Volume IV. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 08.06.2021. (In Russ.)
11. Samotruева M. A., Mazhitova M. V., Sergalievа M. U., Yasyenyavskaya A. L. Phytochemical characteristics of *Astragalus vulpinus* Willd. herbs and psychomodulating activity of related extract. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(2):40–45. (In Russ.)
12. Danilova N. S., Poskachina E. R., Voronov I. V., Semenova V. V. Content of luteolin-7-glucosida in the aboveground parts of *Veronica incana* (*Scrophulariaceae*) in Central Yakutia. *Rastitelnye Resursy*. 2016;52(3):405–413. (In Russ.)
13. Bykovskiy S. N., Vasilenko I. A., Demina N. B., Shokhin I. E., Novozhilov O. V., Meshkovskiy A. P., Spitskiy O. R. *Farmatsevticheskaya razrabotka: koncepciya i prakticheskie rekomendatsii. Nauchno-prakticheskoe rukovodstvo dlya farmatsevticheskoy otrasli* [Pharmaceutical development: concept and practical recommendations. Scientific and Practical Guide for the Pharmaceutical Industry]. Moscow: Pero; 2014; 471 p. (In Russ.)
14. Sergunova E. V. *Izuchenie sostava biologicheskii aktivnykh veshchestv lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya razlichnykh sposobov konservatsii i lekarstvennykh preparatov na ego osnove* [Study of the composition of biologically active substances of medicinal plant raw materials of various methods of conservation and drugs based on it] [dissertation]. Moscow; 2016. Available at: <https://www.disscat.com/content/izuchenie-sostava-biologicheskii-aktivnykh-veshchestv-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-razli>. Accessed: 08.06.2021. (In Russ.)



Оригинальная статья / Research article

## Ретроспективный анализ клинического изучения лекарственного препарата «Флакозид» в терапии заболеваний гепатобилиарной системы

В. В. Бортникова<sup>1</sup>, В. В. Карабаева<sup>1</sup>, Л. В. Крепкова<sup>1\*</sup>, П. Г. Мизина<sup>1</sup>, А. Н. Бабенко<sup>1</sup>, Н. С. Михеева<sup>2</sup>, О. Н. Карабаева<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

<sup>2</sup> ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России), 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (МГМСУ), 127473, Россия, г. Москва, ул. Десятская, д. 20, стр. 1

\***Контактное лицо:** Крепкова Любовь Вениаминовна. E-mail: krepkova2011@yandex.ru

**ORCID:** В. В. Бортникова – <https://orcid.org/0000-0002-0393-1762>; В. В. Карабаева – <https://orcid.org/0000-0002-0259-5306>; Л. В. Крепкова – <https://orcid.org/0000-0002-3580-336X>; П. Г. Мизина – <https://orcid.org/0000-0001-6510-9603>; А. Н. Бабенко – <https://orcid.org/0000-0001-9629-5525>; Н. С. Михеева – <https://orcid.org/0000-0001-7494-2365>; О. Н. Карабаева – <https://orcid.org/0000-0003-4928-0894>.

Статья поступила: 29.12.2020

Статья принята в печать: 05.07.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В ФГБНУ ВИЛАР разработан лекарственный препарат «Флакозид» обладающий гепатопротекторным действием. Препарат представлен в лекарственной форме – таблетки 0,1 г для приема внутрь.

**Цель.** Проанализировать клиническую эффективность и безопасность терапии флакозидом по клиническими лабораторным методами исследования, а также моторике желчного пузыря и желчевыводящих протоков у пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы.

**Материалы и методы.** Результаты клинических исследований флакозида (таблетки 0,1 г) проанализированы у 99 пациентов с хроническим активным гепатитом (ХАГ), хроническим бескаменным холециститом (ХБХ) и жировой дистрофией печени (ЖДП), проведенные в двух клинических учреждениях: ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава России и ЦНИИ гастроэнтерологии. «Флакозид» назначали на фоне лечебной диеты (стол № 5) по 0,1–0,2 г 3 раза в день после еды в течение 32 дней и повторными курсами (3–5) на протяжении 6–12 месяцев. Анализ эффективности и безопасности флакозида проводили на основании результатов клинических и лабораторных исследований: общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, электрокардиограммы (ЭКГ). Для изучения моторики желчного пузыря и желчевыводящих путей использовали методику многофракционного дуоденального зондирования (МФДЗ) с определением функционального состояния сфинктерного аппарата желчного пузыря и желчевыводящих путей. В пузырной и печеночной желчи определяли ее биохимический состав. Всем больным проводили рентгенологическое исследование желудочно-кишечного тракта, сканирование печени и гепатографию с йод-131-бенгал-роз.

**Результаты и обсуждение.** При ХАГ, ХБХ и ЖДП применение флакозида внутрь в суточных дозах 0,3–0,6 г в течение 25–45 дней приводило к улучшению общего состояния пациентов, уменьшению боли в правом подреберье, снижению диспептических расстройств, улучшению аппетита. По данным холецистографии улучшались показатели концентрационной и сократительной способности желчного пузыря. По степени выраженности лечебного эффекта «Флакозид» не уступал силибору и карсилу, а по некоторым показателям (улучшение моторики желчного пузыря и желчевыводящих путей) заметно их превосходил.

**Заключение.** Лечение флакозидом улучшало функциональное состояние печени, уменьшая синдром цитолиза и холестаза. «Флакозид» рекомендован в клинической практике в комплексном лечении заболеваний гепатобилиарной системы, таких как ХАГ, ХБХ и ЖДП.

**Ключевые слова:** «Флакозид», хронический активный гепатит, хронический бескаменный холецистит, жировая дистрофия печени, клинические исследования

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** В. В. Бортникова, В. В. Карабаева, Л. В. Крепкова инициировали и разработали план исследования. А. Н. Бабенко, Н. С. Михеева, О. Н. Карабаева собрали и проанализировали клинические данные. В. В. Бортникова, П. Г. Мизина, Л. В. Крепкова разработали концепцию и дизайн рукописи. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

**Для цитирования:** Бортникова В. В., Карабаева В. В., Крепкова Л. В., Мизина П. Г., Бабенко А. Н., Михеева Н. С., Карабаева О. Н. Ретроспективный анализ клинического изучения лекарственного препарата «Флакозид» в терапии заболеваний гепатобилиарной системы. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):100–104. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-100-104>

## A Retrospective Analysis of the Clinical Studies of a Drug "Flakozid" in the Treatment of Diseases of the Hepatobiliary System

Valentina V. Bortnikova<sup>1</sup>, Vera V. Karabaeva<sup>1</sup>, Lubov' V. Krepkova<sup>1</sup>, Praskovya G. Mizina<sup>1</sup>, Aleksandra N. Babenko<sup>1</sup>, Natalya S. Mikheeva<sup>2</sup>, Ol'ga N. Karabaeva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7/1, Greena str., Moscow, 117216, Russia

<sup>2</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2, Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russia

<sup>3</sup> A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

\***Corresponding author:** Lubov' V. Krepkova. E-mail: krepkova2011@yandex.ru

© Бортникова В. В., Карабаева В. В., Крепкова Л. В., Мизина П. Г., Бабенко А. Н., Михеева Н. С., Карабаева О. Н., 2021

© Bortnikova V. V., Karabaeva V. V., Krepkova L. V., Mizina P. G., Babenko A. N., Mikheeva N. S., Karabaeva O. N., 2021

ORCID: Valentina V. Bortnikova – <https://orcid.org/0000-0002-0393-1762>; Vera V. Karabaeva – <https://orcid.org/0000-0002-0259-5306>;  
Lubov' V. Krepkova – <https://orcid.org/0000-0002-3580-336X>; Praskovya G. Mizina – <https://orcid.org/0000-0001-6510-9603>;  
Aleksandra N. Babenko – <https://orcid.org/0000-0001-9629-5525>; Natalya S. Mikheeva – <https://orcid.org/0000-0001-7494-2365>;  
Ol'ga N. Karabaeva – <https://orcid.org/0000-0003-4928-0894>.

Received: 29.12.2020 Revised: 05.07.2021 Published: 25.08.2021

## Abstract

**Introduction.** The medicine "Flakozid" with hepatoprotective effect has been developed at the VILAR. The drug is presented in dosage form-tablets of 0.1 g for oral drug administration

**Aim.** To analyze the clinical efficacy and safety of "Flakozid" therapy according to clinical laboratory methods, as well as the motility of the gallbladder and bile ducts in patients with diseases of the hepatobiliary system.

**Materials and methods.** The results of clinical studies of "Flakozid" (0.1 g tablets) were analyzed in 99 patients with chronic active hepatitis, chronic stone-free cholecystitis and fatty liver dystrophy, conducted in 2 clinical institutions: Perm State Medical University. Academician E. A. Wagner of the Ministry of Health of Russia and the Central Research Institute of Gastroenterology. "Flakozid" was prescribed against the background of a therapeutic diet (Table No. 5) of 0.1–0.2 g 3 times a day after meals for 32 days and repeated courses (3–5) for 6–12 months. Analysis of the efficacy and safety of "Flakozid" was carried out on the basis of the results of clinical and laboratory studies: general and biochemical blood analysis, general urinalysis, electrocardiogram. To study the motility of the gallbladder and biliary tract, the method of multifractional duodenal probing was used to determine the functional state of the sphincter apparatus of the gallbladder and biliary tract. In cystic and hepatic bile, its biochemical composition was determined. All patients underwent X-ray examination of the gastrointestinal tract, liver scanning and hepatography with iodine-131-bengal-roz.

**Results and discussion.** In chronic active hepatitis, chronic stone-free cholecystitis and fatty liver dystrophy the use of "Flakozid" orally in daily doses of 0.3–0.6 g for 25–45 days led to an improvement in the General condition of patients, a decrease in pain in the right hypochondrium, a decrease in dyspeptic disorders, and an improvement in appetite. According to cholecystography, the indicators of concentration and contractility of the gallbladder improved. In terms of the severity of the therapeutic effect, "Flakozid" was not inferior to silibor and carsil, and in some indicators (improvement of the motility of the gallbladder and biliary tract) significantly exceeded them.

**Conclusions.** Treatment of "Flakozid" improved functional state of the liver, reducing the syndrome of cytolysis and cholestasis. "Flakozid" is recommended in clinical practice in the complex treatment of diseases of the hepatobiliary system, such as chronic active hepatitis, chronic stone-free cholecystitis and fatty liver dystrophy.

**Keywords:** "Flakozid", chronic active hepatitis, chronic stone-free cholecystitis, fatty liver dystrophy

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Valentina V. Bortnikova, Vera V. Karabaeva, Lubov' V. Krepkova invented and developed the research plan. Aleksandra N. Babenko, Natalya S. Mikheeva, Ol'ga N. Karabaeva collected and analyzed the data. Valentina V. Bortnikova, Praskovya G. Mizina, Lubov' V. Krepkova developed the concept and design of the manuscript. All authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

**For citation:** Bortnikova V. V., Karabaeva V. V., Krepkova L. V., Mizina P. G., Babenko A. N., Mikheeva N. S., Karabaeva O. N. A retrospective analysis of the clinical studies of a drug "Flakozid" in the treatment of diseases of the hepatobiliary system. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):100–104. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-100-104>

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в мире, в том числе и России, отмечается рост количества лекарственных и токсических гепатитов, а также генетически обусловленных форм хронических диффузных заболеваний печени, которые являются причиной летальности 1,4 млн людей ежегодно [1, 2].

Хронические заболевания печени наиболее часто вызваны злоупотреблением алкоголя, нарушением жирового и углеводного обмена, приводящих к развитию неалкогольной жировой дистрофии печени, а также вирусными гепатитами [3–6].

Основопологающим в терапии хронических заболеваний печени является применение лекарственных средств, действующих на этиологию заболевания и влияющих на патогенетические механизмы, лежащие в основе указанной патологии [7–9].

Многолетние исследования, проведенные в ВИЛАРе по разработке отечественных лекарственных средств с гепатопротекторными свойствами, привели к созданию оригинального лекарственного препарата «Флакозид».

«Флакозид» – выделен из листьев бархата амурского – *Phellodendron amurense* Rupr. и бархата Лавалея – *Phellodendron amurense* var. *Lavallei* (Dode) Sprague семейства Рутовые – *Rutaceae* и представляет собой индивидуальный флавоноидный гликозид – феллавин. Препарат представлен в лекарственной форме – таблетки 0,1 г для приема внутрь. «Флакозид» разрешен для медицинского использования в качестве противовирусного и антигепатотоксического средства (регистрационный номер 90/248/7).

«Флакозид» оказывает гепатопротекторное действие, стимулирует индукцию гамма-интерферона. У него выявлены противовоспалительные, противо-

язвенные, гипоазотемические и гипогликемические свойства, а также стимулирующее действие на процессы желчеотделения. «Флакозид» является малотоксичным веществом, не проявляет кумулятивного эффекта [10–14].

В связи с этим **целью настоящего исследования** явился анализ клинической эффективности и безопасности терапии флакозидом у пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Результаты клинических исследований флакозида (таблетки 0,1 г) проанализированы у 99 пациентов с хроническим активным гепатитом (ХАГ), хроническим бескаменным холециститом (ХБХ) и жировой дистрофией печени (ЖДП), проведенные в двух клинических учреждениях: Пермском государственном медицинском университете имени академика Е. А. Вагнера (ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России) и ЦНИИ гастроэнтерологии (ЦНИИГ). «Флакозид» получали 46 пациентов с ХАГ в фазе умеренной или минимальной активности, 10 пациентов с ХБХ и 15 пациентов с ЖДП. В контрольные группы входили 28 пациентов, 13 из которых с ХБХ получали «Силибор» и 15 пациентов с ЖДП – Карсил®.

«Флакозид» назначали на фоне лечебной диеты (стол № 5) по 0,1–0,2 г 3 раза в день после еды в течение 32 дней или повторными курсами (3–5) на протяжении 6–12 месяцев.

Анализ эффективности и безопасности флакозида проводили на основании результатов клинических и лабораторных исследований: общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, ЭКГ. Для изучения моторики желчного пузыря и желчевыводящих путей использовали методику многофракционного дуоденального зондирования (МФДЗ) с определением функционального состояния сфинктерного аппарата желчного пузыря и желчевыводящих путей. В пузырной и печеночной желчи определяли ее биохимический состав [содержание билирубина, холестерина, дифениламинавая реакция (ДФА-реакция)]. Всем больным проводили рентгенологическое исследование желудочно-кишечного тракта, радионуклидное исследование: сканирование печени и гепатографию с йод-131-бенгал-роз.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с применением *t*-критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при  $P < 0,05$ . Статистические данные обрабатывали с помощью программы Statistica version 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате лечения флакозидом из 46 пациентов с ХАГ у 29 пациентов болевой синдром был купирован к 28–30 дню лечения, у 17 боли в правом

подреберье уменьшились, но полностью не исчезли. Размеры печени сократились на 1–3 см у 32 пациентов, у 10 нормализовались и у 4 остались прежних размеров. К концу курса лечения (32 день) симптомы желудочно-кишечной диспепсии исчезали у 20 пациентов. У большинства уменьшилась слабость, раздражительность, улучшился аппетит, нормализовался сон; прекратились носовые кровотечения и кровоточивость десен у 8, исчез кожный зуд у 6 пациентов.

При курсовом лечении флакозидом у больных ХАГ при исходном повышении биохимических показателей и активности некоторых ферментов сыворотки крови выявлено статистически достоверное снижение содержания глюкозы с  $5,72 \pm 0,12$  до  $4,75 \pm 0,05$  ммоль/л ( $P < 0,001$ ); билирубина с  $38,50 \pm 4,08$  до  $21,15 \pm 2,75$  мкмоль/л ( $P < 0,01$ ) и активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) с  $117 \pm 13$  до  $54 \pm 15$  Е/л ( $P < 0,02$ ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) с  $52 \pm 2$  до  $28 \pm 5$  Е/л ( $P < 0,05$ ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) с  $252 \pm 63$  до  $113 \pm 17$  Е/л ( $P < 0,05$ ).

В процессе лечения флакозидом отчетливо повысилось содержание протромбина: с  $73,50 \pm 2,82$  до  $81,50 \pm 1,26$  % ( $P < 0,05$ ) и количество тромбоцитов с  $142,1 \pm 9,1$  до  $191,4 \pm 9,8 \cdot 10^9$ /л ( $P < 0,02$ ).

МФДЗ проводили у 28 пациентов с ХАГ. В результате лечения флакозидом отмечали уменьшение времени закрытия сфинктера Одди при исходном его удлинении (гипертонусе) с  $14,55 \pm 3,25$  до  $6,44 \pm 0,52$  мин ( $P < 0,05$ ), времени закрытия сфинктера Люткенса (гипертонус) с  $16,87 \pm 3,0$  до  $3,25 \pm 0,83$  мин ( $P < 0,01$ ), удлинение времени сокращения желчного пузыря при его укорочении (гиперкинез) с  $9,8 \pm 0,43$  до  $20,4 \pm 2,24$  мин ( $P < 0,02$ ), увеличение количества пузырной желчи при исходном ее уменьшении на 1-й раздражитель с  $18,75 \pm 2,01$  до  $39,25 \pm 7,14$  мл ( $P < 0,05$ ).

При исследовании биохимического состава пузырной желчи отмечали статистически достоверное снижение содержания билирубина с  $1133,22 \pm 122,26$  до  $676,44 \pm 95,05$  мкмоль/л ( $P < 0,05$ ), холестерина с  $7,67 \pm 0,33$  до  $5,12 \pm 0,57$  ммоль/л ( $P < 0,01$ ), ДФА-реакции с  $0,128 \pm 0,01$  до  $0,10 \pm 0,01$  ед. опт. плотн. ( $P < 0,05$ ). В печеночной желчи при исходно повышенных показателях также отмечали снижение содержания билирубина с  $194,0 \pm 15,05$  до  $119,8 \pm 22,03$  мкмоль/л ( $P < 0,05$ ), ДФА-реакции с  $0,086 \pm 0,002$  до  $0,066 \pm 0,004$  единиц оптической плотности ( $P < 0,01$ ); при исходно сниженном содержании повышение желчных (холевых) кислот с  $3,025 \pm 0,47$  до  $5,21 \pm 0,53$  г/л ( $P < 0,02$ ).

При лечении флакозидом из 10 пациентов с ХБХ у 9 (90 %) болевой синдром был купирован, отсутствовали рефлекторные симптомы и нормализовались размеры печени к 20–22 дню лечения, а у 1 пациента – на 25-й день.

Для определения степени выраженности лечебного эффекта флакозида при хроническом бескаменном холецистите его действие сравнивали с силибо-

ром (23 пациента). У 13 больных из 23, хронический холецистит отмечали на фоне хронического персистирующего гепатита. При анализе результатов исследования пациентов, получавших «Силибор», было отмечено, что он не оказывал заметного влияния на двигательную функцию желчного пузыря и тонус сфинктерного аппарата желчевыводящих путей. Время закрытия сфинктеров Одди и Люткенса при исходном его удлинении или уменьшении существенно не изменилось ( $P > 0,05$ ).

15 пациентам с ЖДП «Флакозид» назначали по 0,2 г 3 раза в сутки, курсами по 15–30 дней, в течение 6–12 месяцев (3–5 курсов). Группа контроля (15 пациентов) получала гепатопротектор Карсил® по той же схеме лечения, что и флакозидом. В результате проведенного лечения отмечали снижение уровня общего билирубина с 18,0 до 15,0 мкмоль/л, снижение и нормализацию активности АлАТ с 76 до 63 Е/л, а также уменьшение активности щелочной фосфатазы с 520 до 270 Е/л. Кроме того, наблюдали улучшение общего состояния пациентов после первого курса лечения и значительное улучшение – после 3–4 курсов. По данным холецистографии существенно улучшались показатели концентрационной и сократительной способности желчного пузыря.

На фоне лечения карсилом у всех пациентов с ЖДП (15) уменьшались боли и тяжесть в правом подреберье, симптомы диспепсии и астенического синдрома были менее выраженными. При анализе динамики печеночных ферментов снижались уровень билирубина и активность АлАТ и АсАТ, однако показатели концентрационной и сократительной способности желчного пузыря слабо выражены.

По данным клинических и лабораторных методов исследования лечение флакозидом не вызывало патологических изменений, обусловленных токсическим действием препарата, у пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы, что доказывает безопасность проводимой терапии.

В результате проведенных исследований показано, что терапия флакозидом улучшала общее состояние пациентов с ХАГ, ХБХ и ЖДП: уменьшились болевой синдром, слабость, раздражительность, сократились размеры печени; улучшился аппетит, нормализовался сон; исчезли явления диспепсии. Лечение флакозидом улучшало функциональное состояние печени, биохимический состав пузырной и печеночной желчи. «Флакозид» значительно усиливал двигательную функцию желчного пузыря и тонус сфинктерного аппарата желчевыводящих путей в отличие от силибора и карсила, желчегонное действие которых при назначении в одинаковой суточной дозе 0,6 г было менее эффективно.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что лечение флакозидом пациентов с ХАГ, ХБХ, ЖДП улучшало их общее состояние и функ-

циональное состояние печени, двигательную функцию желчного пузыря и тонус сфинктерного аппарата желчевыводящих путей, уменьшая синдром цитолиза и холестаза. По степени выраженности лечебного эффекта «Флакозид» не уступал силибору и карсилу, а по некоторым показателям (улучшение моторики желчного пузыря и желчевыводящих путей) заметно их превосходил. «Флакозид» (таблетки 0,1 г) рекомендован больным с хроническими диффузными заболеваниями печени и желчного пузыря.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Pimpin L., Cortez-Pinto H., Negro F., Corbould E., Lazarus J. V., Webber L., Sheron N. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *Journal of Hepatology*. 2018;69(3):718–735. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.05.011.
2. Буеверов А. О., Буеверова Е. Л. Эволюция представлений о лекарственных поражениях печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019;(3):89–96. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-163-3-89-96.
3. Гастроэнтерология. М.: Эксмо; 2010. 560 с.
4. Гастроэнтерология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015. 480 с.
5. Лазебник Л. Б., Радченко В. Г., Джадхав С. Н., Ситкин С. И., Селиверстов П. В. Системное воспаление и неалкогольная жировая болезнь печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019;165(5):29–41. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-165-5-29-41.
6. Singh S., Osna N. A., Kharbanda K. K. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World Journal of Gastroenterology*. 2017;23(36):6549–6570. DOI: 10.3748/wjg.v23.i36.6549.
7. Li S., Tan H. Y., Wang N., Cheung F., Hong M., Feng Y. The Potential and Action Mechanism of Polyphenols in the Treatment of Liver Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018:1–25. DOI: 10.1155/2018/8394818.
8. Beaton M. D. Current treatment options for nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2012;26(6):353–357. DOI: 10.1155/2012/725468.
9. Beyoğlu D., Idle J. R. Metabolomic insights into the mode of action of natural products in the treatment of liver disease. *Biochemical Pharmacology*. 2020;180:114171. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.114171.
10. Бортникова В. В., Крепкова Л. В. Экспериментальное токсикологическое изучение противовирусного фитопрепарата флакозид. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2008;7:92–95.
11. Вичканова С. А., Багинская А. И., Шипулина Л. Д., Колхир В. К., Бортникова В. В., Городнюк Т. И. Флакозид – эффективное растительное средство для лечения гепатитов вирусной и не вирусной этиологии, а также вирусных поражений кожи. В кн.: *Сборник научных трудов ВИЛАР: химия, технология, медицина*. М.: ВИЛАР; 2000. 316–323 с.
12. Вичканова С. А., Колхир В. К., Сокольская Т. А., Воскобойникова И. В., Быков В. А. Лекарственные средства из растений. М.: АДРИС; 2009. 432 с.
13. Бортникова В. В., Крепкова Л. В., Арзамасцев Е. В., Кузнецов Ю. Б., Боровкова М. В. Противовоспалительные свойства некоторых растительных антимикробных и противовирусных препаратов. В кн.: *Сборник научных трудов ВИЛАР: химия, технология, медицина*. М.: ВИЛАР; 2000. 369–375 с.
14. Бортникова В. В., Карабаева В. В., Крепкова Л. В., Сидельникова Г. Ф., Мизина П. Г., Карабаева О. Н. Флакозид – лекарственный препарат из листьев бархата амурского, в терапии заболеваний гепатобилиарной системы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020;23(2):18–23.

## REFERENCES

1. Pimpin L., Cortez-Pinto H., Negro F., Corbould E., Lazarus J. V., Weber L., Sheron N. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *Journal of Hepatology*. 2018;69(3):718–735. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.05.011.
2. Bueverov A. O., Bueverova E. L. The evolution of ideas about medicinal liver damage. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология = Experimental & clinical gastroenterology*. 2019;(3):89–96. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-163-3-89-96.
3. *Gastroenterologiya* [Gastroenterology]. Moscow: Eksmo; 2010. 558 p. (In Russ.)
4. *Gastroenterologiya. Natsional'noe rukovodstvo* [Gastroenterology. National leadership]. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 480 p. (In Russ.)
5. Lazebnik L. B., Radchenko V. G., Dzhadhav S. N., Sitkin S. I., Selivertov P. V. Systemic inflammation and non-alcoholic fatty liver disease. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология = Experimental & clinical gastroenterology*. 2019;165(5):29–41. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-165-5-29-41.
6. Singh S., Osna N. A., Kharbanda K. K. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World Journal of Gastroenterology*. 2017;23(36):6549–6570. DOI: 10.3748/wjg.v23.i36.6549.
7. Li S., Tan H. Y., Wang N., Cheung F., Hong M., Feng Y. The Potential and Action Mechanism of Polyphenols in the Treatment of Liver Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;1–25. DOI: 10.1155/2018/8394818.
8. Beaton M. D. Current treatment options for nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2012;26(6):353–357. DOI: 10.1155/2012/725468.
9. Beyoğlu D., Idle J. R. Metabolomic insights into the mode of action of natural products in the treatment of liver disease. *Biochemical Pharmacology*. 2020;180:114171. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.114171.
10. Bortnikova V. V., Krepkova L. V. The experimental toxicological study of antiviral phytodrug flakoside. *Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina = RUDN Journal of Medicine*. 2008;7:92–95. (In Russ.)
11. Vichkanova S. A., Baginskaya A. I., Shipulina L. D., Kolkhir V. K., Bortnikova V. V., Gorodnyuk T. I. Flakozid – effektivnoe rastitel'noe sredstvo dlya lecheniya gepatitov virusnoy i ne virusnoy etiologii, a takzhe virusnykh porazheniy kozhi. V kn.: *Sbornik nauchnykh trudov VILAR: khimiya, tekhnologiya, meditsina* [Flacoside is an effective herbal remedy for the treatment of viral and non-viral hepatitis, as well as viral skin lesions. In: *Collection of scientific works VILAR: chemistry, technology, medicine*]. Moscow: VILAR; 2000. 316–323 p. (In Russ.)
12. Vichkanova S. A., Kolkhir V. K., Sokol'skaya T. A., Voskoboynikova I. V., Bykov V. A. *Lekarstvennye sredstva iz rasteniy* [Medicines from plants]. Moscow: ADRIS, 2009. 432 p. (In Russ.)
13. Bortnikova V. V., Krepkova L. V., Arzamastsev E. V., Kuznetsov Yu. B., Borovkova M. V. Protivovospalitel'nye svoystva nekotorykh rastitel'nykh antimikrobnnykh i protivovirusnykh preparatov. V kn.: *Sbornik nauchnykh trudov VILAR: khimiya, tekhnologiya, meditsina* [Anti-inflammatory properties of some herbal antimicrobial and antiviral drugs. In: *Collection of scientific works VILAR: chemistry, technology, medicine*]. Moscow: VILAR; 2000. 369–375 p. (In Russ.)
14. Bortnikova V. V., Karabaeva V. V., Krepkova L. V., Sidelnikova G. F., Mizina P. G., Karabaeva O. N. Flakozid – drug from the leaves of phellodendron amurense rupr., in treatment of diseases of the hepatobiliary system. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2020;23(2):18–23. (In Russ.)

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-105-113>  
УДК 615.03



Оригинальная статья / Research article

## Определение лаппаконитина, дитерпенового алкалоида, получаемого из растений *Aconitum leucostomum*, и его активного метаболита N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека

О. А. Арчакова<sup>1\*</sup>, Т. Н. Комаров<sup>1,2</sup>, А. В. Рогов<sup>3</sup>, Д. С. Щелгачева<sup>1</sup>, А. В. Алешина<sup>1</sup>, Н. С. Багаева<sup>1</sup>, И. Е. Шохин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»), 117246, Россия, г. Москва, Научный пр., д. 20, стр. 3

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ), 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

<sup>3</sup> АО «Фармцентр ВИЛАР», 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 29

\*Контактное лицо: Арчакова Ольга А. E-mail: o.archakova@cpha.ru

ORCID: О. А. Арчакова – <https://orcid.org/0000-0001-6621-1060>; Т. Н. Комаров – <https://orcid.org/0000-0001-8354-7877>; А. В. Рогов – <https://orcid.org/0000-0001-8791-1971>; Д. С. Щелгачева – <https://orcid.org/0000-0003-4894-7001>; А. В. Алешина – <https://orcid.org/0000-0003-2611-501X>; Н. С. Багаева – <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>; И. Е. Шохин – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Статья поступила: 16.07.2020

Статья принята в печать: 20.08.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Лаппаконитин представляет собой алкалоид, содержащийся в корнях и надземной части аконита белоустого (*Aconitum leucostomum* Vorosh.) и обладающий антиаритмическим действием. После приема препаратов лаппаконитина в организме человека образуется 8 изученных фармакологически активных метаболитов, наибольшую активность среди которых проявляет N-дезацетиллаппаконитин. Фармакокинетика препаратов лаппаконитина изучена недостаточно. Препараты лаппаконитина имеют узкий терапевтический диапазон и обладают большим количеством побочных эффектов, поэтому для оценки безопасности применения препаратов лаппаконитина возникает необходимость полноценного изучения его фармакокинетики.

**Цель.** Целью исследования является разработка методики определения лаппаконитина и его активного метаболита N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

**Материалы и методы.** Определение лаппаконитина и N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека проводили методом ВЭЖХ-МС/МС. В качестве пробоподготовки был использован способ осаждения ацетонитрилом.

**Результаты и обсуждение.** Разработанная методика определения лаппаконитина и N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека была валидирована по следующим валидационным параметрам: селективность, эффект матрицы, калибровочная кривая, точность, прецизионность, степень извлечения, нижний предел количественного определения, перенос пробы, стабильность.

**Заключение.** Разработана и валидирована методика определения лаппаконитина и N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Подтвержденные аналитические диапазоны методики составили 0,50–50,00 нг/мл в биологической матрице для лаппаконитина и 0,50–100,00 нг/мл в биологической матрице для N-дезацетиллаппаконитина. Полученные аналитические диапазоны позволяют применять разработанную методику для проведения фармакокинетических исследований препаратов лаппаконитина.

**Ключевые слова:** лаппаконитин, N-дезацетиллаппаконитин, плазма, кровь, ВЭЖХ-МС/МС, валидация, фармакокинетика

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, Д. С. Щелгачева, А. В. Алешина участвовали в разработке и валидации биоаналитической методики. Н. С. Багаева проводила статистическую обработку данных. А. В. Рогов и И. Е. Шохин отвечали за организационную часть исследования. Все вышеуказанные авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в форме научной дискуссии.

**Для цитирования:** Арчакова О. А., Комаров Т. Н., Рогов А. В., Щелгачева Д. С., Алешина А. В., Багаева Н. С., Шохин И. Е. Определение лаппаконитина, дитерпенового алкалоида, получаемого из растений *Aconitum leucostomum*, и его активного метаболита N-дезацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):105–113. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-105-113>

## Determination of Lappaconitin, Diterpene Alkaloids Obtained from Plants *Aconitum Leucostomum*, and its Active Metabolite N-desacetylappaconitin in Human Plasma and Blood

Olga A. Archakova<sup>1\*</sup>, Timofey N. Komarov<sup>1,2</sup>, Anton V. Rogov<sup>3</sup>, Dana S. Shchelgacheva<sup>1</sup>, Alexandra A. Aleshina<sup>1</sup>, Natalia S. Bagaeva<sup>1</sup>, Igor E. Shohin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LLC "CPHA", 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia

<sup>2</sup> National Research Nuclear University MEPHI (Moscow Engineering Physics Institute), 31, Kashirskoe highway, Moscow, 115409, Russia

<sup>3</sup> JSC "Pharmcenter VILAR", 7/29, Green str., Moscow, 117216, Russia

\*Corresponding author: Olga A. Archakova. E-mail: o.archakova@cpha.ru

© Арчакова О. А., Комаров Т. Н., Рогов А. В., Щелгачева Д. С., Алешина А. В., Багаева Н. С., Шохин И. Е., 2021

© Archakova O. A., Komarov T. N., Rogov A. V., Shchelgacheva D. S., Aleshina A. A., Bagaeva N. S., Shohin I. E., 2021

ORCID: Olga A. Archakova – <https://orcid.org/0000-0001-6621-1060>; Timofey N. Komarov – <https://orcid.org/0000-0001-8354-7877>; Anton V. Rogov – <https://orcid.org/0000-0001-8791-1971>; Dana S. Shchelgacheva – <https://orcid.org/0000-0003-4894-7001>; Alexandra A. Aleshina – <https://orcid.org/0000-0003-2611-501X>; Natalia S. Bagaeva – <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>; Igor E. Shohin – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Received: 16.07.2020 Revised: 20.08.2021 Published: 25.08.2021

## Abstract

**Introduction.** Lappaconitine is an alkaloid, contained into *Aconitum leucostomum* Vorosh. roots and herbs. The alkaloid is indicated to arrhythmia. The lappaconitine drugs are metabolized into eight pharmacologically active substances, but N-desacetylappaconitine is the most effective. Drugs based on a lappaconitine has narrow therapeutic range and many kinds of side effects. Pharmacokinetics of lappaconitine should be more studied for safety medical use of lappaconitine drugs.

**Aim.** The aim of this study is to develop method for the quantitative determination of lappaconitine and its active metabolite N-desacetylappaconitine in human plasma and blood by high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS).

**Materials and methods.** Determination of lappaconitine and N-desacetylappaconitine in plasma and blood was carried out by HPLC-MS/MS. The samples were processed by acetonitrile protein precipitation.

**Results and discussion.** This method was validated by next parameters: selectivity, matrix effect, calibration curve, accuracy, precision, spike recovery, lower limit of quantification, carry-over effect and stability.

**Conclusion.** The method of the quantitative determination of lappaconitine and N-desacetylappaconitine in human plasma and blood was developed and validated by HPLC-MS/MS. The analytical range of the was 0.50–50.00 ng/ml for lappaconitine and 0.50–100.00 ng/ml for N-desacetylappaconitine in biological matrix. Method could be applied to determination of lappaconitine and N-desacetylappaconitine for PK studies.

**Keywords:** lappaconitine, N-desacetylappaconitine, plasma, blood, HPLC-MS/MS, validation, pharmacokinetics

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Timofey N. Komarov, Olga A. Archakova, Dana S. Shchelgacheva, Alexandra A. Aleshina have developed and validated an analytical method. Natalia S. Bagaeva carried out statistical processing of the obtained results. Anton V. Rogov and Igor E. Shohin carried out the organization of work in this direction. All the above authors participated in the discussion of the results in the format of scientific discussion.

**For citation:** Archakova O. A., Komarov T. N., Rogov A. V., Shchelgacheva D. S., Aleshina A. A., Bagaeva N. S., Shohin I. E. Determination of lappaconitine, diterpene alkaloids obtained from plants *Aconitum leucostomum*, and its active metabolite N-desacetylappaconitine in human plasma and blood. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):105–113. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-105-113>

## ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания занимают первую позицию в списке десяти ведущих причин смертности по данным ВОЗ. Болезни сердца остаются лидирующей причиной смертности во всем мире уже 20 лет. С 2000 года число случаев смерти от сердечно-сосудистых заболеваний возросло более чем на 2 миллиона и в 2019 году достигло почти 9 миллионов [1]. Не последнее место в развитии этих состояний и их последствий занимают нарушения сердечного ритма [2]. Сердечная аритмия, характеризующаяся нерегулярными циклами сердцебиения, затрагивает более 33 миллионов человек, а также ложится тяжелыми бременем на системы здравоохранения многих стран. Желудочковая аритмия является причиной около 80 % внезапных сердечных приступов. [3].

Одной из причин возникновения аритмий являются вирусные инфекции. Существует более 20 вирусов, которые участвуют в воспалении миокарда, наиболее распространенными являются парвовирус B19, вирус герпеса человека 6 типа, аденовирус и вирус Коксаки B3. Воспаление миокарда, вызванное вирусной инфекцией, приводит к дисфункции ионных каналов или электрофизиологическому и структурному ремоделированию как механизму аритмии [4]. Также есть данные о том, что новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related

coronavirus 2) играет важную роль в возникновении осложнений сердечно-сосудистых заболеваний, в частности аритмии [5].

Аритмии могут приводить к другим сердечно-сосудистым заболеваниям, иногда приводя к сердечной недостаточности или внезапной смерти. Тяжелая желудочковая тахикардия или фибрилляция могут быть фатальными, и это происходит, когда сердце не может перекачивать кровь в нормальном темпе для обеспечения эффективного сердечного выброса [6].

На территории Российской Федерации в клинической практике активно применяют лаппаконитина гидробромид для лечения желудочковой и наджелудочковой экстрасистолии, пароксизмальной наджелудочковой тахикардии, в том числе и при синдроме Вольфа – Паркинсона – Уайта, пароксизмах трепетания и мерцания предсердий, пароксизмальной желудочковой тахикардии в случае отсутствия органических изменений миокарда [7].

Лаппаконитин представляет собой C18-дитерпеновый алкалоид [8] семейства лютиковые (*Ranunculaceae*) [9], содержащийся в корнях и надземной части аконита белоустого (*Aconitum leucostomum*) и обладающий антиаритмическим действием [10]. После приема препаратов лаппаконитина в организме человека образуется 8 изученных фармакологически активных метаболитов, однако наибольшую активность среди них проявляет N-дезацетиллаппа-

конитин [7, 11]. Структурные формулы лаппаконитина и N-деацетиллаппаконитина представлены на рисунках 1–2.

Терапия нарушений ритма сердца с помощью антиаритмических препаратов, в частности препаратов лаппаконитина, нередко сопровождается побочными эффектами, преимущественно связанными с аритмогенным действием. Причиной могут быть большие дозы препарата, оказывающие токсическое действие

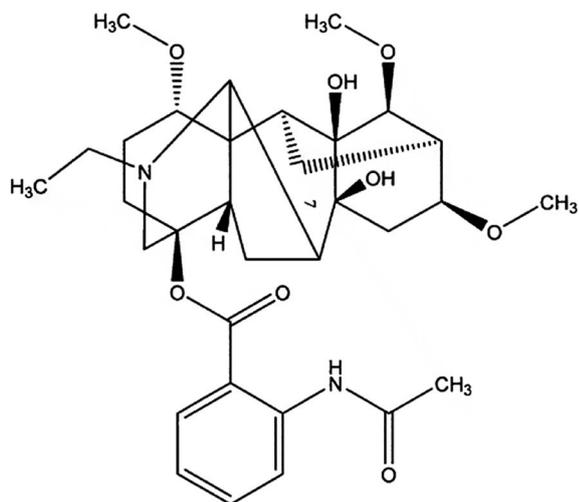


Рисунок 1. Структурная формула лаппаконитина

Figure 1. Chemical structure of lappaconitine

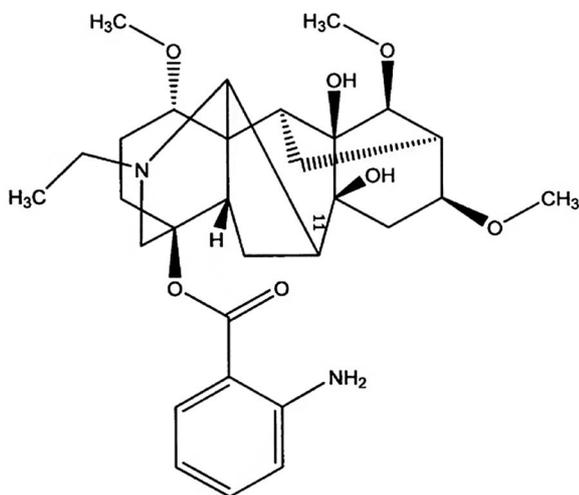


Рисунок 2. Структурная формула N-деацетиллаппаконитина

Figure 2. Chemical structure of N-desacetyl lappaconitine

на организм человека, увеличение скорости его введения, взаимодействие с другими лекарственными средствами, заболевания печени и почек, нарушения электролитного баланса [12, 13]. Поскольку фармакокинетика препаратов лаппаконитина изучена недостаточно хорошо, то для обеспечения безопасности использования данных лекарственных средств возникает острая необходимость ее полноценного изучения [14].

На данный момент в рецензируемых журналах представлены только методики определения лаппаконитина (ЛАП) [lappaconitine (LAP)] в биологических матрицах животных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-селективным детектированием [ВЭЖХ-МС/МС (HPLC-MS/MS)] в сочетании с пробоподготовкой осаждением ацетонитрилом и жидкость-жидкостной экстракцией (ЖЖЭ) (таблица 1).

Поскольку в литературных источниках отсутствуют данные об определении лаппаконитина и N-деацетиллаппаконитина в биологических матрицах человека, было принято решение разработать методику определения данных веществ в плазме крови и в цельной крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Оборудование

Хроматографическое разделение и детектирование проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Nexera XR, оснащенном градиентным насосом, термостатом колонок и образцов, дегазатором, автосамплером и tandemным масс-спектрометрическим детектором (тройным квадруполем). Обработку первичных данных проводили при помощи программного обеспечения LabSolutions (Ver. 5.91) (Shimadzu Corporation, Япония).

### Реактивы и растворы

В работе были использованы следующие реактивы: метанол (класс «UHPLC-grade», J.T. Baker, Нидерланды), ацетонитрил (класс «LC-MS grade», Biosolve, Франция), муравьиная кислота (класс «98 % pure», PanReac, Испания), аммиак водный (класс «for analysis», PanReac, Испания), вода Milli-Q. Для приготовления исходных рабочих растворов были использованы стандартные образцы лаппаконитина гидробромида (количественное содержание 100,07 %, АО «Фармцентр ВИЛАР», Россия), N-деацетиллаппаконитина (содержание 99,37 %, АО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) и тримебутина (содержание 99,37 %, LGC, Великобритания).

Таблица 1. Методики определения лаппаконитина в биологических матрицах

Table 1. Methods of lappaconitine quantitative determination in biological matrix

Аналитический метод Analytical method	Объект анализа Object	Пробоподготовка Sample preparation	Аналитический диапазон, нг/мл Analytical range, ng/ml	Ссылка Reference
ВЭЖХ-МС/МС HPLC-MS/MS	Цельная кровь мышей Mouse blood	Осаждение ацетонитрилом Protein precipitation by acetonitrile	Лаппаконитин: 0,100–500,000 Lappaconitine: 0.100–500.000	[15]
ВЭЖХ-МС/МС HPLC-MS/MS	Плазма крови кроликов Rabbit plasma	ЖЖЭ Liquid-liquid extraction	Лаппаконитин: 13,125–1050,000 Lappaconitine: 13.125–1050.000	[16]

Исходные стандартные растворы лаппаконитина, N-дезацетиллаппаконитина (ДАЛ) [N-desacetylappaconitine (DAL)] и внутреннего стандарта (ВС) тримебутина (ТРИ) [trimebutine (TRI)] готовили путем растворения навески субстанций в метаноле. Смешанные рабочие стандартные растворы лаппаконитина и N-дезацетиллаппаконитина готовили путем разведения исходных растворов тем же растворителем до получения следующих концентраций в биологической матрице: 0,50 нг/мл [уровень LLOQ (lower limit of quantification)], 1,00 нг/мл, 3,00 нг/мл, 9,00 нг/мл, 15,00 нг/мл, 25,00 нг/мл, 35,00 нг/мл, 50,00 нг/мл, 1,50 нг/мл [уровень L (low)], 15,00 нг/мл [уровень M (medium)], 40 нг/мл [уровень H (high)] – для лаппаконитина; и 0,50 нг/мл (уровень LLOQ), 1,00 нг/мл, 5,00 нг/мл, 10,00 нг/мл, 25,00 нг/мл, 50,00 нг/мл, 75,00 нг/мл, 100,00 нг/мл, 1,50 нг/мл (уровень L), 30,00 нг/мл (уровень M), 80 нг/мл (уровень H) – для N-дезацетиллаппаконитина. Рабочий раствор ВС готовили путем разведения исходного раствора ВС тем же растворителем до концентрации в биологической матрице 8,00 нг/мл.

Исходные и рабочие стандартные растворы, а также образцы интактной матрицы хранили в морозильной камере при температуре  $-45^{\circ}\text{C}$ .

### Пробоподготовка

К 200 мкл калибровочного образца, помещенного в центрифужные микропробирки типа «Эппендорф» вместимостью 2 мл, прибавляли 10 мкл рабочего раствора ВС тримебутина, затем прибавляли 400 мкл ацетонитрила, перемешивали на встряхивателе типа «Вортекс» в течение 10 секунд, затем центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 13 500 об/мин. Далее супернатант переносили в хроматографические виалы и помещали в автосамплер хроматографа.

### Условия хроматографического разделения и детектирования

- Колонка: YMC-Pack Pro C18, 100 × 2,0 мм, 3 мкм.
- Температура термостата: 40 °C.
- Подвижная фаза: элюент А: 0,1 % раствор муравьиной кислоты в воде с прибавлением 0,08 % аммиака (по объему); элюент В: 0,1 % муравьиной кислоты в метаноле с прибавлением 0,08 % аммиака (по объему).
- Градиент по составу подвижной фазы (ПФ) представлен в таблице 2.
- Объем вводимой пробы: 6 мкл.
- Время регистрации хроматограммы по масс-спектрометрическому детектору: 0,00–7,00 мин.
- Параметры источника ионизации (электроспрей): распыляющий газ 3 л/мин, осушающий газ 20 л/мин, блок нагрева 400 °C, линия десольватации 200 °C, напряжение на капилляре +4,25 кВ.
- Режим ионизации: положительный.
- Условия детектирования лаппаконитина: 585,30 → 324,15 m/z; 585,30 → 162,15 m/z.

Таблица 2. Градиентное элюирование

Table 2. Gradient elution

Время, мин Time, min	Элюент А, % Eluent A, %	Элюент В, % Eluent B, %	Скорость потока ПФ, мл/мин Mobil phase flow rate, ml/min
0,00	77,00	23,00	0,70
1,25	77,00	23,00	
4,00	0,00	100,00	
5,00	0,00	100,00	
5,50	77,00	23,00	
7,00	77,00	23,00	

- Условия детектирования N-дезацетиллаппаконитина: 544,25 → 120,00 m/z; 544,25 → 325,25 m/z; 543,25 → 324,10 m/z; 543,25 → 120,10 m/z.
- Условия детектирования тримебутина: 388,20 → 198,05 m/z; 388,20 → 195,10 m/z; 388,20 → 131,05 m/z.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Разработка методики

Поскольку при разработке методик нельзя полагаться исключительно на высокую селективность масс-спектрометрического детектора, чтобы избежать получения ложноположительных результатов, были подобраны условия хроматографического разделения аналитов не только с компонентами плазмы крови, а также с компонентами цельной крови, что позволяет использовать данную методику для исследования фармакокинетики лаппаконитина и N-дезацетиллаппаконитина в различных биологических объектах. Исходя из физико-химических свойств анализируемых веществ, была выбрана хроматографическая колонка YMC-Pack Pro C18, обеспечивающая хорошее удерживание данных соединений.

### Валидация методики

Валидацию биоаналитической методики в плазме крови и в цельной крови человека проводили на основе правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза [17], а также руководств FDA [18] и EMA [19] по следующим параметрам: селективность, эффект матрицы, калибровочная кривая, точность (на уровнях внутри цикла, между циклов), прецизионность (на уровнях внутри цикла, между циклов), степень извлечения, нижний предел количественного определения, перенос пробы, стабильность [стабильность исходных и рабочих стандартных растворов; краткосрочная стабильность («настолярная» и «постпрепаративная»); стабильность при трехкратной заморозке-разморозке аналита; долгосрочная стабильность аналита в матрице].

### Селективность

Проводили анализ 6 образцов интактной плазмы крови (ИПК) [blank plasma (BP)], 2 образцов гемолитической интактной плазмы крови (ГИПК) [lipemic blank

plasma (LBP)], 2 образцов гиперлипидемической интактной плазмы крови (ГЛИПК) [hemolyzed blank plasma (HBP)], полученных из разных источников, для оценки параметра «Селективность» в плазме крови человека и 6 образцов интактной цельной крови (ИЦК) [blank blood (BB)], полученных из разных источников, для оценки параметра «Селективность» в цельной крови человека, а также образцов интактной плазмы крови, интактной гемолизной плазмы крови, интактной гиперлипидемической плазмы крови и цельной крови с прибавлением смешанного рабочего стандартного раствора до концентраций 0,50 нг/мл для лапаконитина, 0,50 нг/мл для N-дезацетиллапаконитина и раствора ВС до концентрации 8,00 нг/мл. На хроматограммах образцов интактной матрицы сигналы пиков со временами удерживания, соответствующими временам удерживания исследуемых веществ и ВС, не превышают 20 % от сигнала на уровне нижнего предела количественного определения (НПКО) и 5 % от сигнала ВС соответственно. Соответствующие хроматограммы приведены ниже на рисунках 3, 4.

### Эффект матрицы

Для оценки эффекта матрицы анализировали образцы с добавлением смешанных рабочих стандартных растворов лапаконитина, N-дезацетиллапаконитина и раствора ВС тримебутина без влияния биологической матрицы, а также образцы, приготовленные на интактной матрице, без учета влияния степени извлечения лапаконитина, N-дезацетиллапаконитина и тримебутина из биологической матрицы.

Эффект матрицы был оценен на уровнях L и H. Для ВС тримебутина эффект матрицы был рассчитан на уровне 8,00 нг/мл. Данные представлены в таблицах 3, 4.

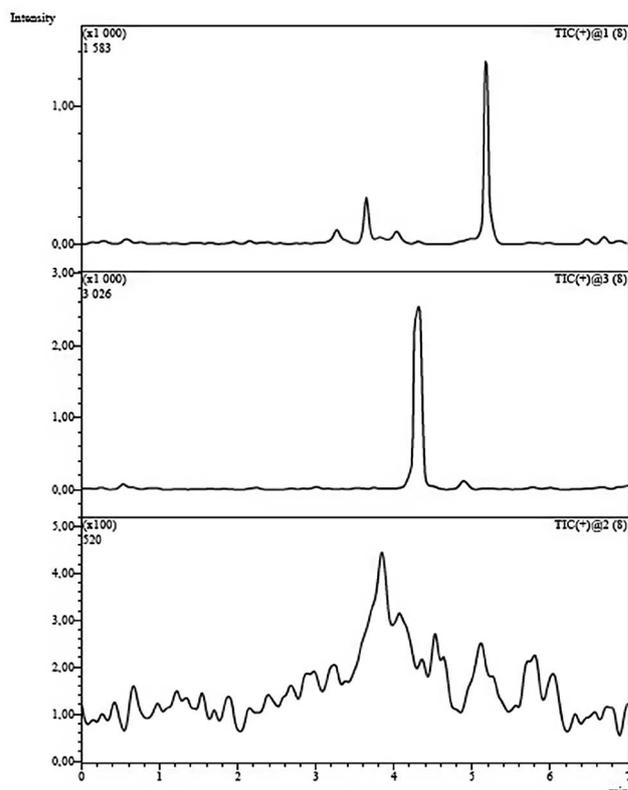
**Таблица 3.** Расчет фактора матрицы ЛАП, нормализованного по фактору матрицы ВС

**Table 3.** The matrix factor of LAP calculations, normalized by the internal standards matrix factor

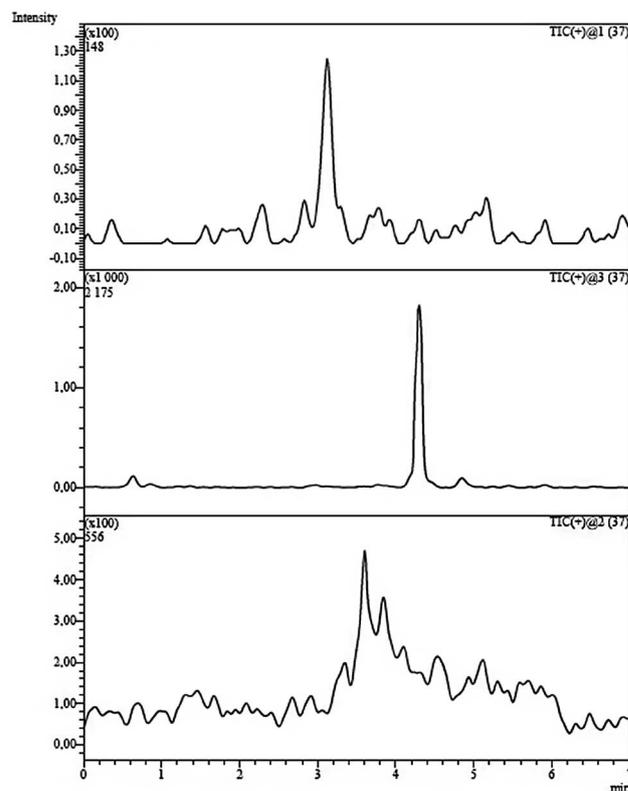
	Плазма крови Plasma		Цельная кровь Blood	
	Нормализованный Mf (L) Normalized Mf (L)	Нормализованный Mf (H) Normalized Mf (H)	Нормализованный Mf (L) Normalized Mf (L)	Нормализованный Mf (H) Normalized Mf (H)
Среднее Average	0,93	1,16	1,14	1,15
CV, %	11,87	3,53	10,93	3,37

### Калибровочная кривая

Проводили анализ восьми образцов интактной плазмы крови и восьми образцов интактной цельной крови с прибавлением рабочего раствора ВС и смешанных рабочих стандартных растворов аналитов. По полученным значениям были построены калибровоч-



**Рисунок 3.** Хроматограмма образца интактной плазмы крови  
**Figure 3.** Blank plasma sample chromatogram



**Рисунок 4.** Хроматограмма образца интактной цельной крови  
**Figure 4.** Blank blood sample chromatogram

ные графики в координатах отношение площади пика лапаконитина к площади пика тримебутина от отношения концентрации лапаконитина к концентрации тримебутина, а также калибровочные графики в координатах отношение площади пика N-дезацетиллапаконитина к площади пика тримебутина от отношения концентрации N-дезацетиллапаконитина к концентрации тримебутина, представленные на рисунках 5–8. Полученные коэффициенты корреляции соответствуют нормам. Примеры хроматограмм представлены на рисунках 9–12.

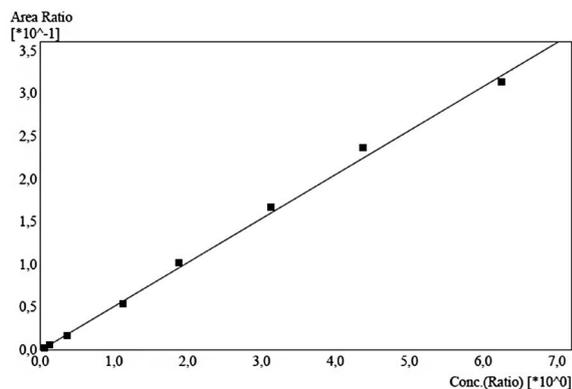
**Таблица 4.** Расчет фактора матрицы ДАЛ, нормализованного по фактору матрицы ВС

**Table 4.** The matrix factor of DAL calculations, normalized by the internal standards matrix factor

	Плазма крови Plasma		Цельная кровь Blood	
	Нормализованный Mf (L) Normalized Mf (L)	Нормализованный Mf (H) Normalized Mf (H)	Нормализованный Mf (L) Normalized Mf (L)	Нормализованный Mf (H) Normalized Mf (H)
Среднее Average	0,84	1,09	0,98	1,12
CV, %	6,94	3,93	9,68	4,54

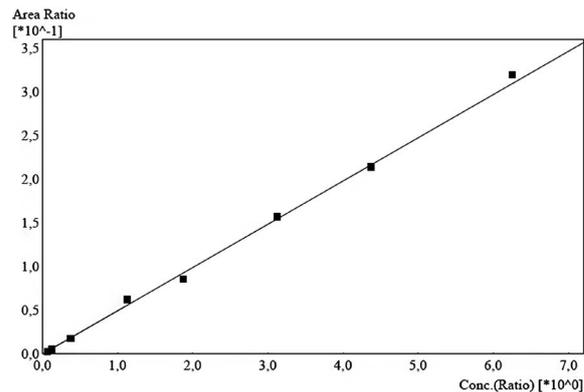
### Точность и прецизионность

Проводили анализ калибровочных образцов плазмы крови и цельной крови, соответствующих уровню НПКО, уровню L, уровню M и уровню H. Анализ образцов проводили в рамках 3 последовательностей по 5 образцов для каждого уровня. Точность и прецизионность были оценены внутри цикла, между двумя циклами и между тремя циклами. Полученные величины относительного стандартного отклонения (прецизионность) и относительной погрешности (точность) соответствуют нормам.



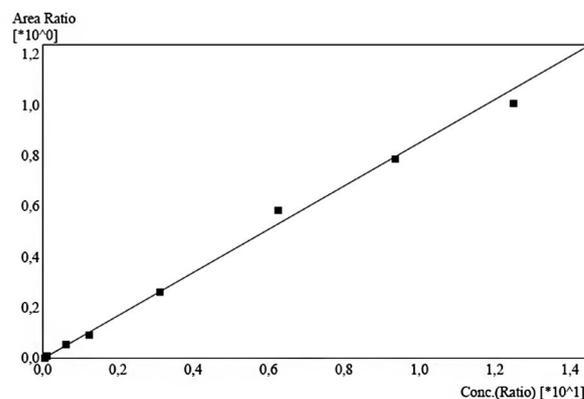
**Рисунок 5.** Калибровочный график зависимости отношения площади пика ЛАП к площади пика ТРИ от отношения концентрации ЛАП к концентрации ТРИ в плазме крови

**Figure 5.** The calibration curve representing dependence of the ratio area peak of LAP to the TRI on the concentration ratio of LAP to the TRI in plasma



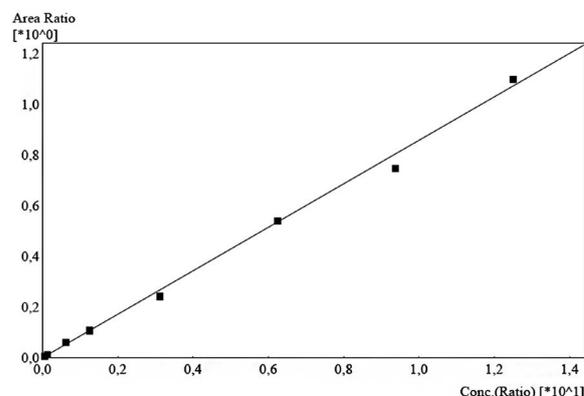
**Рисунок 6.** Калибровочный график зависимости отношения площади пика ЛАП к площади пика ТРИ от отношения концентрации ЛАП к концентрации ТРИ в цельной крови

**Figure 6.** The calibration curve representing dependence of the ratio area peak of LAP to the TRI on the concentration ratio of LAP to the TRI in blood



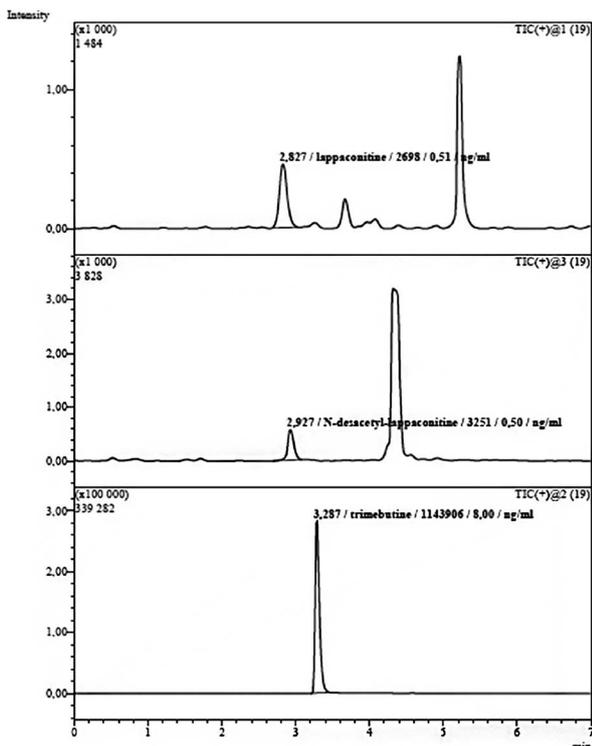
**Рисунок 7.** Калибровочный график зависимости отношения площади пика ДАЛ к площади пика ТРИ от отношения концентрации ДАЛ к концентрации ТРИ в плазме крови

**Figure 7.** The calibration curve representing dependence of the ratio area peak of DAL to the TRI on the concentration ratio of DAL to the TRI in plasma



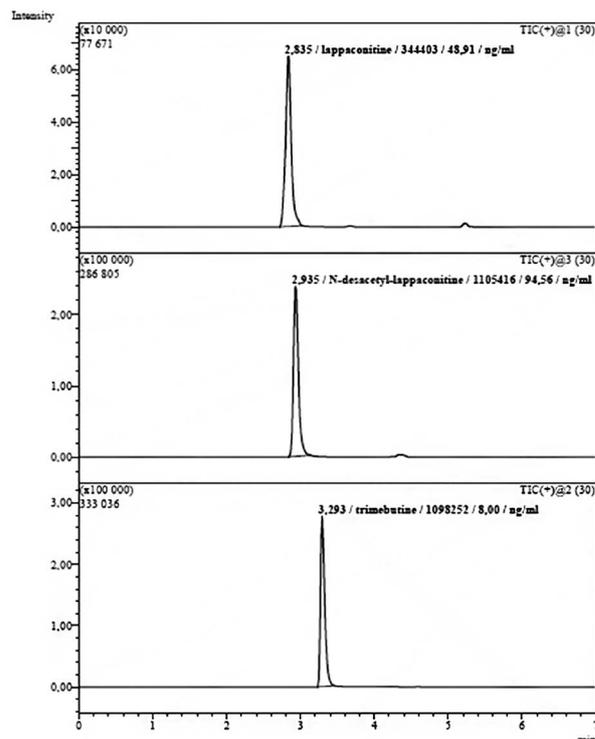
**Рисунок 8.** Калибровочный график зависимости отношения площади пика ДАЛ к площади пика ТРИ от отношения концентрации ДАЛ к концентрации ТРИ в цельной крови

**Figure 8.** The calibration curve representing dependence of the ratio area peak of DAL to the TRI on the concentration ratio of DAL to the TRI in blood



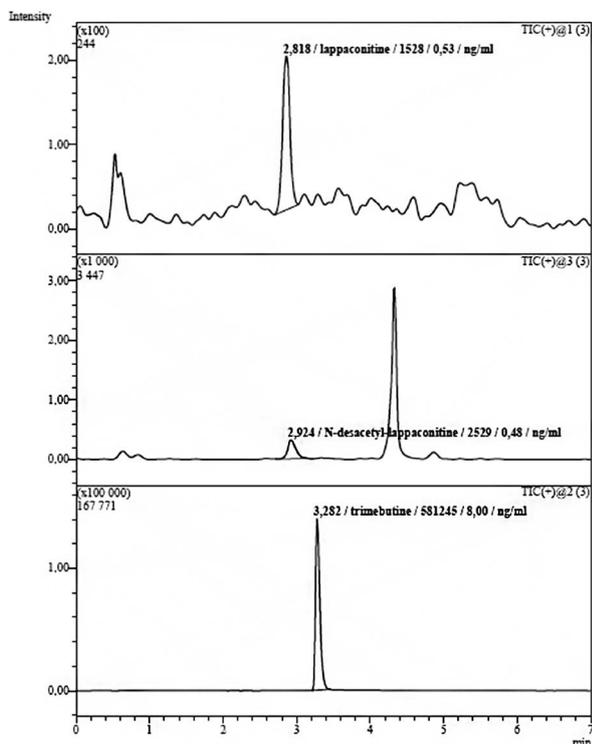
**Рисунок 9.** Хроматограмма образца плазмы крови (ЛАП – 0,50 нг/мл, ДАЛ – 0,50 нг/мл)

**Figure 9.** Chromatogram of plasma sample (LAP – 0.50 ng/ml, DAL – 0.50 ng/ml)



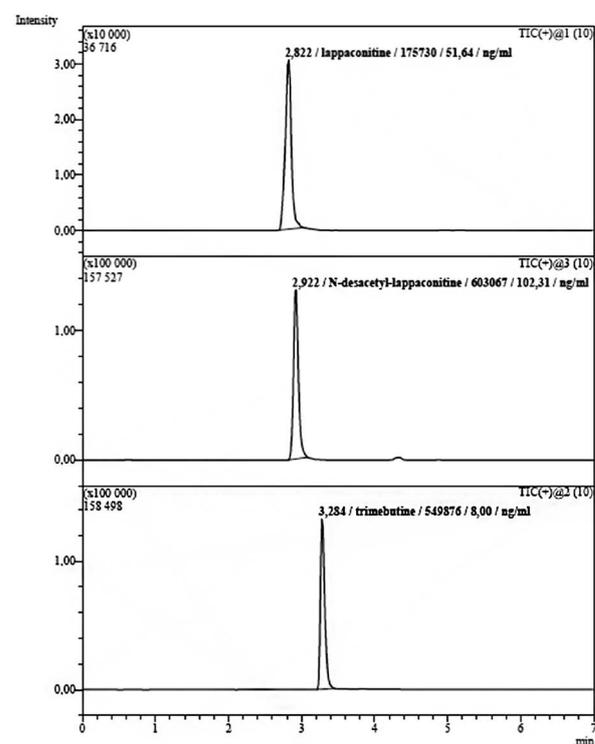
**Рисунок 11.** Хроматограмма образца плазмы крови (ЛАП – 50,00 нг/мл, ДАЛ – 100,00 нг/мл)

**Figure 11.** Chromatogram of plasma sample (LAP – 50.00 ng/ml, DAL – 100.00 ng/ml)



**Рисунок 10.** Хроматограмма образца цельной крови (ЛАП – 0,50 нг/мл, ДАЛ – 0,50 нг/мл)

**Figure 10.** Chromatogram of blood sample (LAP – 0.50 ng/ml, DAL – 0.50 ng/ml)



**Рисунок 12.** Хроматограмма образца цельной крови (ЛАП – 50,00 нг/мл, ДАЛ – 100,00 нг/мл)

**Figure 12.** Chromatogram of blood sample (LAP – 50.00 ng/ml, DAL – 100.00 ng/ml)

### Степень извлечения

Для оценки степени извлечения (СИ) анализировали по 3 образца, приготовленных из интактной плазмы, гемолизной плазмы, гиперлипидемической плазмы и цельной крови, без влияния степени извлечения на низком (уровень L), среднем (уровень M) и высоком (уровень H) уровнях, а также образцы контроля качества, приготовленные на различных интактных матрицах, для оценки степени извлечения. Данные представлены в таблицах 5, 6.

**Таблица 5.** Оценка степени извлечения ЛАП на уровнях L, M, и H из различной биологической матрицы

**Table 5.** Calculation of LAP recovery at L, M, H levels for biological matrix

Биологическая матрица Biological matrix	СИ ЛАП (L), % Recovery LAP (L), %	СИ ЛАП (M), % Recovery LAP (M), %	СИ ЛАП (H), % Recovery LAP (H), %
ИПК BP	123,03	76,35	91,22
	120,71	79,49	91,42
	123,19	85,89	84,62
ГИПК HBP	130,29	95,25	120,72
	146,42	101,47	122,88
	128,52	103,06	122,88
ГЛИПК LBP	89,53	104,27	103,59
	99,30	101,86	99,76
	118,40	103,79	98,08
Среднее Average	119,93	94,60	103,91
SD	16,79	11,11	14,76
RSD	14,00	11,74	14,20
Биологическая матрица Biological matrix	СИ ЛАП (L), % Recovery LAP (L), %	СИ ЛАП (M), % Recovery LAP (M), %	СИ ЛАП (H), % Recovery LAP (H), %
ИЦК BB	90,04	122,95	99,60
	97,04	127,90	102,09
	99,78	117,41	105,74
Среднее Average	95,62	122,76	102,47
SD	5,02	5,25	3,09
RSD	5,25	4,27	3,01

### Стабильность

Была подтверждена краткосрочная стабильность («настоящая» и «постпрепаративная»), стабильность при 3-кратной заморозке-разморозке, стабильность исходных и рабочих стандартных растворов (при хранении в течение 20 дней при температуре  $-45^{\circ}\text{C}$ ), долгосрочная стабильность (при хранении в течение 60 дней при температуре  $-45^{\circ}\text{C}$ ) исследуемых веществ на нижнем и верхнем уровнях концентраций.

### Перенос пробы

При последовательном анализе калибровочного образца с наибольшей концентрацией и образца интактной матрицы на хроматограмме образца интактной матрицы отсутствовали пики, соответствующие по временам удерживания пикам исследуемых веществ и ВС.

**Таблица 6.** Оценка степени извлечения ДАЛ на уровнях L, M, и H из различной биологической матрицы

**Table 6.** Calculation of DAL recovery at L, M, H levels for biological matrix

Биологическая матрица Biological matrix	СИ ДАЛ (L), % Recovery DAL (L), %	СИ ДАЛ (M), % Recovery DAL (M), %	СИ ДАЛ (H), % Recovery DAL (H), %
ИПК BP	124,21	86,25	101,95
	112,16	85,79	98,39
	118,16	86,13	92,13
ГИПК HBP	105,63	100,71	118,42
	115,79	98,34	129,24
	130,56	105,97	122,35
ГЛИПК LBP	97,15	104,33	105,19
	102,72	105,53	106,13
	116,17	109,69	97,97
Среднее Average	113,62	98,08	107,97
SD	10,53	9,57	12,54
RSD	9,27	9,75	11,61
Биологическая матрица Biological matrix	СИ ДАЛ (L), % Recovery DAL (L), %	СИ ДАЛ (M), % Recovery DAL (M), %	СИ ДАЛ (H), % Recovery DAL (H), %
ИЦК BB	115,63	132,83	97,71
	138,65	123,24	103,27
	105,83	118,90	109,98
Среднее Average	120,04	124,99	103,65
SD	16,85	7,13	6,14
RSD	14,04	5,71	5,93

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана и валидирована методика определения лаппаконитина и N-деацетиллаппаконитина в плазме крови и в цельной крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Подтвержденные аналитические диапазоны методики составили 0,50–50,00 нг/мл в биологической матрице для лаппаконитина и 0,50–100,00 нг/мл в биологической матрице для N-деацетиллаппаконитина. Полученные аналитические диапазоны позволяют применять разработанную методику для проведения фармакокинетических исследований препаратов лаппаконитина.

### ЛИТЕРАТУРА

1. WHO reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000–2019. Available at: <https://www.who.int/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>. Accessed: 14.07.2021.
2. Sanoev Z. I., Khamroev T. T., Djaxangirov F. N., Sadikov A. Z., Sagdullaev S. S. Antiarrhythmic Activity of N-Deacetylappaconitine when Administered Orally. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2021;25(2):2339–2346.
3. Gui Yu., Lu Y., Li S., Zhang M., Duan X., Liu C. C., Jia J., Liu G. Direct analysis in real time-mass spectrometry for rapid quantification of five anti-arrhythmic drugs in human serum: application to therapeutic drug monitoring. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1–10. DOI: 10.1038/s41598-020-72490-w.
4. Babapoor-Farrokhran S., Rasekhi R. T., Gill D., Babapoor S., Amanullah A. Arrhythmia in COVID-19. *SN Comprehensive Clinical Medicine*. 2020;2(9):1430–1435. DOI: 10.1007/s42399-020-00454-2.
5. Kochi A. N., Tagliari A. P., Forleo G. B., Fassini G. M., Tondo C. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19.

- Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2020;31(5):1003–1008. DOI: 10.1111/jce.14479.
- Hong B., He J., Le Q., Bai K., Chen Y., Huang W. Combination Formulation of Tetrodotoxin and Lidocaine as a Potential Therapy for Severe Arrhythmias. *Marine drugs*. 2019;17(12):685. DOI: 10.3390/md17120685.
  - Цорин И. Б., Зинченко В. П., Теплов И. Ю., Косенков А. М., Муринов Ю. И., Юнусов М. С., Крыжановский С. А. Изучение электрофизиологических механизмов действия соединения ЛМГ-124. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2017;2:4–11.
  - Sun M.-L., Ao J.-P., Wang Y.-R., Huang Q., Li T.-F., Li X.-Y., Wang Y.-X. Lappaconitine, a C18-diterpenoid alkaloid, exhibits antihypersensitivity in chronic pain through stimulation of spinal dynorphin A expression. *Psychopharmacology*. 2018;235(9):2559–2571. DOI: 10.1007/s00213-018-4948-y.
  - Nie J., Wang F., Ji T., Zhao J., Zhao F. Assessment of in vitro cardiotoxicity of extract fractions and diterpene Alkaloids from *aconitum leucostomum* Worosch: A short communication. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017;137:84–89. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.01.003.
  - Zhang X., Ma J., Song N., Guo Y., Hui L., Sang C. Lappaconitine Sulfate Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells through the Reactive Oxygen Species-Dependent Mitochondrial Pathway. *Pharmacology*. 2020;105(11–12):705–714. DOI: 10.1159/000506081.
  - Долгинина С. И., Дупляков Д. В. Место аллапинина в терапии нарушений сердечного ритма. *Кардиология: новости, мнения, обсуждения*. 2016;2:25–29.
  - Рудакова И. П., Гашкова О. В. Оценка антиаритмической активности и безопасности новых производных морфолиноуксусной кислоты. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;2(19):242–245.
  - Cheremnykh K. P., Savel'ev V. A., Shkurko O. P., Shults E. E. Synthesis of hybrid molecules containing pyrimidine and diterpene alkaloid lappaconitine fragments. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2018;54(12):1131–1138. DOI: 10.1007/s10593-019-02404-w.
  - Yang S., Zhang H., Beier R. C., Sun F., Cao X., Shen J., Wang Z., Zhang S. Comparative metabolism of Lappaconitine in rat and human liver microsomes and in vivo of rat using ultra high-performance liquid chromatography–quadrupole/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2015;110:1–11. DOI: 10.1016/j.jpba.2015.02.048.
  - Chen F., Shen X., Huang P., Fu H., Jin Yu., Wen C. Quantification of Lappaconitine in Mouse Blood by UPLC-MS/MS and Its Application to a Pharmacokinetic Study. *BioMed Research International*. 2019;2019:1–6. DOI: 10.1155/2019/6262105.
  - Wang Y., Han Ch., He K., Feng A. Quantitative determination of lappaconitine in plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application in the pharmacokinetic study in rabbits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013;7(12):650–657. DOI: 10.5897/AJPP12.1301.
  - Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на 14.07.2021.
  - Guidance document "Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry". *Food and Drug Administration*. Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry>. Accessed: 14.07.2021.
  - Bioanalytical method validation. *European Medicines Agency*. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation>. Accessed: 14.07.2021.
  - therapeutic drug monitoring. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1–10. DOI: 10.1038/s41598-020-72490-w.
  - Babapoor-Farrokhran S., Rasekhi R. T., Gill D., Babapoor S., Amanullah A. Arrhythmia in COVID-19. *SN Comprehensive Clinical Medicine*. 2020;2(9):1430–1435. DOI: 10.1007/s42399-020-00454-2.
  - Kochi A. N., Tagliari A. P., Forleo G. B., Fassini G. M., Tondo C. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2020;31(5):1003–1008. DOI: 10.1111/jce.14479.
  - Hong B., He J., Le Q., Bai K., Chen Y., Huang W. Combination Formulation of Tetrodotoxin and Lidocaine as a Potential Therapy for Severe Arrhythmias. *Marine drugs*. 2019;17(12):685. DOI: 10.3390/md17120685.
  - Tsorin I. B., Zinchenko V. P., Teplov I. Yu., Kosenkov A. M., Murinov Yu. I., Yunusov M. S., Kryzhanovskii S. A. The study of electrophysiological mechanisms of the action compounds LMG-124. *Farmakokinetika i Farmakodinamika = Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;2:4–11. (In Russ.)
  - Sun M.-L., Ao J.-P., Wang Y.-R., Huang Q., Li T.-F., Li X.-Y., Wang Y.-X. Lappaconitine, a C18-diterpenoid alkaloid, exhibits antihypersensitivity in chronic pain through stimulation of spinal dynorphin A expression. *Psychopharmacology*. 2018;235(9):2559–2571. DOI: 10.1007/s00213-018-4948-y.
  - Nie J., Wang F., Ji T., Zhao J., Zhao F. Assessment of in vitro cardiotoxicity of extract fractions and diterpene Alkaloids from *aconitum leucostomum* Worosch: A short communication. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017;137:84–89. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.01.003.
  - Zhang X., Ma J., Song N., Guo Y., Hui L., Sang C. Lappaconitine Sulfate Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells through the Reactive Oxygen Species-Dependent Mitochondrial Pathway. *Pharmacology*. 2020;105(11–12):705–714. DOI: 10.1159/000506081.
  - Долгинина С. И., Дупляков Д. В. Аллапинин в терапии аритмий. *Кардиология: новости, мнения, обсуждения*. 2016;2:25–29. (In Russ.)
  - Rudakova I. P., Gashkova O. V. Assessment of antiarrhythmic activity and safety of new derivatives of morpholinoacetic acid. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2017;2(19):242–245. (In Russ.)
  - Cheremnykh K. P., Savel'ev V. A., Shkurko O. P., Shults E. E. Synthesis of hybrid molecules containing pyrimidine and diterpene alkaloid lappaconitine fragments. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2018;54(12):1131–1138. DOI: 10.1007/s10593-019-02404-w.
  - Yang S., Zhang H., Beier R. C., Sun F., Cao X., Shen J., Wang Z., Zhang S. Comparative metabolism of Lappaconitine in rat and human liver microsomes and in vivo of rat using ultra high-performance liquid chromatography–quadrupole/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2015;110:1–11. DOI: 10.1016/j.jpba.2015.02.048.
  - Chen F., Shen X., Huang P., Fu H., Jin Yu., Wen C. Quantification of Lappaconitine in Mouse Blood by UPLC-MS/MS and Its Application to a Pharmacokinetic Study. *BioMed Research International*. 2019;2019:1–6. DOI: 10.1155/2019/6262105.
  - Wang Y., Han Ch., He K., Feng A. Quantitative determination of lappaconitine in plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application in the pharmacokinetic study in rabbits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013;7(12):650–657. DOI: 10.5897/AJPP12.1301.
  - Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 85 "Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза" [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of 03.11.2016 No. 85 "On approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of medicinal products within the framework of the Eurasian Economic Union"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Accessed: 14.07.2021. (In Russ.)
  - Guidance document "Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry". *Food and Drug Administration*. Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry>. Accessed: 14.07.2021.
  - Bioanalytical method validation. *European Medicines Agency*. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation>. Accessed: 14.07.2021.

## REFERENCES

- WHO reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000–2019. Available at: <https://www.who.int/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>. Accessed: 14.07.2021.
- Sanoev Z. I., Khamroev T. T., Djaxangirov F. N., Sadikov A. Z., Sagdullaev S. S. Antiarrhythmic Activity of N-Deacetyl lappaconitine when Administered Orally. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2021;25(2):2339–2346.
- Gui Yu., Lu Y., Li S., Zhang M., Duan X., Liu C. C., Jia J., Liu G. Direct analysis in real time-mass spectrometry for rapid quantification of five anti-arrhythmic drugs in human serum: application to

Сделано в России!



## АЦЕТОНИТРИЛ И МЕТАНОЛ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ОЧИСТКИ ПРОИЗВОДСТВА «ХИММЕД»



Компания «Химмед» – отечественный производитель линеек ацетонитрила и метанола высокой степени очистки. Собственная технология производства позволяет получать растворители с характеристиками, соответствующими международным общепринятым стандартам, а в ряде случаев превосходящими зарубежные аналоги. Это позволяет нам предложить продукты высочайшего качества по более выгодной цене.

Ацетонитрил и метанол выпускается различных квалификаций: химически чистый и особо чистый – предназначенный для газовой хроматографии, УФ-спектроскопии, жидкостной хроматографии, препаративной ВЭЖХ и градиентной ВЭЖХ. Растворители упакованы в 2,5-литровые бутылки в атмосфере инертного газа.

Продукты соответствуют ГФ РФ и Ph. Eur (Российской и Европейской фармакопее).

### Характеристики растворителей от «Химмед»

№	Наименование показателя	Ацетонитрил			Метанол	
		Требования ТУ 20.14.43-017-29483781-2018			Требования ТУ 20.14.22-018-29483781-2018	
		ХЧ	Для препарат. ВЭЖХ	Для градиентной ВЭЖХ	ХЧ	ОСЧ для градиентной ВЭЖХ
1	Массовая доля основного вещества (ГХ), %, не менее	99,85	99,9	99,9	99,5	99,9
2	Нелетучий остаток, не более	–	0,0005%	0,0005%	4,0 мг/л	2,0 мг/л
3	Массовая доля воды, %, не более	0,05	0,05	0,02	0,05	0,05
4	Цветность по Хазену, не более	–	10	10	–	10
5	Плотность при 20° С, г/см <sup>3</sup>	0,781	0,78	0,78	0,791-0,793	
6	Показатель преломления n <sub>D</sub> <sup>20</sup> , при 20°С	1,344	1,344	1,344	–	–
7	Кислотность, мг-экв/г, не более	–	0,0005	0,0003	0,0002	0,0002
8	Щелочность, мг-экв/г, не более	–	0,0005	0,0003	0,0001	0,0002
9	Флюоресценция (по хинину), ррб, не более: – при 254 нм – при 365 нм	–	1,0	0,5	–	1,0
		–	1,0	0,5	–	0,5
		–	–	–	–	–
10	Пропускание, %, не менее: – при 193 нм – при 195 нм – при 200 нм – при 210 нм – при 220 нм – при 230 нм – при 235 нм – при 240 нм – при 260 нм	–	–	60	–	–
		–	–	80	–	–
		–	70	–	–	–
		–	80	–	–	–
		–	90	–	–	60
		–	98	–	–	–
		–	–	–	–	83
		–	–	98	–	–
		–	–	–	–	98
11	Степень градиента, mAU, не более: 210 нм 235 нм 254 нм	–	–	1,0	–	–
		–	–	–	–	2,0
		–	–	0,5	–	1,0
12	0,2 микронная фильтрация	–	+	+	–	+

Москва, 115230, Каширское шоссе, дом 3, корпус 2, строение 4/9, БЦ «Сириус Парк»  
Тел.: +7 (499) 682 6555, доб. 2115, e-mail: konovalova@chimmed.ru, mail@chimmed.ru  
www.chimmed.ru

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-115-130>  
УДК 614.27; 614.35; 658.562



Обзорная статья / Review article

## Маркировка иммунобиологических лекарственных препаратов, выпускаемых ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора (обзор)

А. В. Комиссаров\*, О. А. Лобовикова, И. В. Шульгина, В. С. Костюченко,  
Е. Г. Абрамова, О. А. Волох, Н. В. Сеницына, В. А. Демченко, А. С. Феськова,  
А. К. Никифоров

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб"» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

\*Контактное лицо: Комиссаров Александр Владимирович. E-mail: Komissarov-9@yandex.ru

ORCID: А. В. Комиссаров – <https://orcid.org/0000-0002-1609-0384>; О. А. Лобовикова – <https://orcid.org/0000-0001-8085-2331>; И. В. Шульгина – <https://orcid.org/0000-0002-5866-4091>;  
В. С. Костюченко – <https://orcid.org/0000-0003-0271-4456>; Е. Г. Абрамова – <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>; О. А. Волох – <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>;  
Н. В. Сеницына – <https://orcid.org/0000-0001-5450-0594>; В. А. Демченко – <https://orcid.org/0000-0002-5455-9083>; А. С. Феськова – <https://orcid.org/0000-0002-3686-843X>;  
А. К. Никифоров – <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>.

Статья поступила: 05.04.2021

Статья принята в печать: 28.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Настоящая публикация посвящена описанию последовательности проектирования и внедрения технологических процедур маркировки иммунобиологических лекарственных препаратов, выпускаемых ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. В свете выполнения требований Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» материалы данной статьи, несомненно, являются актуальными.

**Текст.** В статье представлена поэтапная последовательность внедрения в процесс производства лекарственных препаратов технологических процедур маркировки и взаимодействия с системой мониторинга движения лекарственных препаратов. На подготовительном этапе (этап № 1) решались следующие основные вопросы: проверка идентичности сведений о лекарственных препаратах в Государственном реестре лекарственных средств и в системе автоматической идентификации «ЮНИСКАН/ГС1 РУС»; определение способа и возможности нанесения средства идентификации на вторичную упаковку; внесение изменений в фармакопейные статьи предприятия на каждый вид препаратов. Этап № 2 (разработка требований к системе маркировки, сериализации, верификации и агрегирования) включал в себя следующие мероприятия: разработка функциональной модели процесса маркировки в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и определение ответственных подразделений за реализацию данной схемы; определение способа упаковки во вторичную упаковку (ручной или автоматический), а также необходимой степени агрегации и требуемой автоматизации процесса, исходя из анализа функциональной модели и технологического процесса маркировки; анализ опыта внедрения систем маркировки лекарственных препаратов; анализ имеющейся IT-структуры ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»; проведение мониторинга рынка производителей оборудования и программного обеспечения; разработка технических требований к создаваемой системе маркировки, сериализации, верификации и агрегирования. Этап № 3 (реализация на производственных участках системы маркировки, сериализации, верификации и агрегирования) включал в себя следующие мероприятия: поставка оборудования и проведение пуско-наладочных работ; квалификация оборудования (IQ/OQ); обучение персонала; внесение изменений в нормативные документы. В материалах, посвященных реализации заключительного этапа, рассмотрены вопросы валидации технологических процедур маркировки лекарственных препаратов и взаимодействия с системой маркировки, сериализации, верификации и агрегирования.

**Заключение.** Проведенные работы позволили производить лекарственные препараты в соответствии с требованиями Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» и Постановления Правительства РФ от 14.12.2018 г. № 1556 «Об утверждении Положения о системе мониторинга движения лекарственных препаратов для медицинского применения». Изложенный материал может представлять интерес для производителей, выпускающих лекарственные препараты в небольшом объеме.

**Ключевые слова:** маркировка, лекарственные препараты, разработка и внедрение, квалификация и валидация

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** А. В. Комиссаровым, Н. В. Сеницыной и В. С. Костюченко осуществляли основной объем работ по разработке требований к системе маркировки, сериализации, верификации и агрегирования, а также реализации на производственных участках вышеназванной системы. О. А. Лобовикова проводила квалификацию оборудования и валидацию технологических процедур маркировки лекарственных препаратов и взаимодействия с системой мониторинга движения лекарственных препаратов. И. В. Шульгиной, А. С. Феськовой и В. А. Демченко принадлежит определяющая роль в осуществлении этапа подготовительных мероприятий к внедрению системы маркировки, сериализации, верификации и агрегирования. Е. Г. Абрамова и О. А. Волох внесли решающий вклад в разработку макетов вторичных упаковок лекарственных препаратов. А. К. Никифоров сформулировал задачи работы и подвел ее итоги. Все авторы в равной степени участвовали в подборе и обработке материалов, написании и обсуждении статьи.

**Для цитирования:** Комиссаров А. В., Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Костюченко В. С., Абрамова Е. Г., Волох О. А., Сеницына Н. В., Демченко В. А., Феськова А. С., Никифоров А. К. Маркировка иммунобиологических лекарственных препаратов, выпускаемых ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):115–130. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-115-130>

© Комиссаров А. В., Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Костюченко В. С., Абрамова Е. Г., Волох О. А., Сеницына Н. В., Демченко В. А., Феськова А. С., Никифоров А. К., 2021

© Komissarov A. V., Lobovikova O. A., Shul'gina I. V., Kostyuchenko V. S., Abramova E. G., Volokh O. A., Sinitsyna N. V., Demchenko V. A., Fes'kova A. S., Nikiforov A. K., 2021

## Labeling of Immunobiological Drugs, Produced by the Russian Research An-ti-Plague Institution "Microbe" of the Rospotrebnadzor (Review)

Alexander V. Komissarov\*, Oksana A. Lobovikova, Irina V. Shul'gina, Vera S. Kostyuchenko, Elena G. Abramova, Oksana A. Volokh, Natalia V. Sinitsyna, Victoria A. Demchenko, Anna S. Fes'kova, Alexey K. Nikiforov

Russian Research Anti-Plague Institute Microbe, 46, Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russia

\*Corresponding author: Alexander V. Komissarov. E-mail: Komissarov-9@yandex.ru

ORCID: Alexander V. Komissarov – <https://orcid.org/0000-0002-1609-0384>; Oksana A. Lobovikova – <https://orcid.org/0000-0001-8085-2331>; Irina V. Shul'gina – <https://orcid.org/0000-0002-5866-4091>; Vera S. Kostyuchenko – <https://orcid.org/0000-0003-0271-4456>; Elena G. Abramova – <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>; Oksana A. Volokh – <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>; Natalia V. Sinitsyna – <https://orcid.org/0000-0001-5450-0594>; Victoria A. Demchenko – <https://orcid.org/0000-0002-5455-9083>; Anna S. Fes'kova – <https://orcid.org/0000-0002-3686-843X>; Alexey K. Nikiforov – <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>.

Received: 05.04.2021 Revised: 28.06.2021 Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** This publication describes the design and implementation sequence of technological procedures for labeling immunobiological medicinal products produced by the FGHI RusRAPI "Microbe" of the Rospotrebnadzor. In light of meeting the requirements of the Federal Act "On the Circulation of Pharmaceutical Products", the materials of this study are undoubtedly relevant.

**Text.** The paper presents a step-by-step sequence of introducing technological procedures for labeling and interaction with the system for monitoring the movement of pharmaceutical products (MMPP) into the production process of medicines. At the preparatory stage, the following main issues were addressed: verification of the identity of information about medicinal products in the State Register of Medicines and in the automatic identification system "UNISCAN/GS1 RUS"; determination of the method and possibility of applying the identification means onto the secondary packaging; amendments to the pharma-copoeial monographs of the enterprise for each type of drug. Stage 2 [development of requirements for the system of labeling, serialization, verification and aggregation (LSVAS)] included the following activities: development of a functional model of the labeling process in the FGHI RusRAPI "Microbe" and determination of the responsible for the implementation of this scheme units; determination of the method of secondary packaging (manual or automatic), as well as the required degree of aggregation and the required automation of the process, based on the analysis of the functional model and the technological process of labeling; analysis of the experience of introducing drug labeling systems; analysis of the existing IT-structure of the FGHI RusRAPI "Microbe"; monitoring of the market of hardware and software manufacturers; development of technical requirements for the created system of marking, serialization, verification and aggregation. Stage 3 (implementation of the labeling, serialization, verification and aggregation system at the production sites) included the following activities: equipment supply and commissioning; equipment qualification (IQ/OQ); training of the personnel; amendments to regulatory documents. In the materials devoted to the implementation of the final stage, the issues of validation of technological procedures for drug labeling and interaction with the system of labeling, serialization, verification and aggregation are considered.

**Conclusion.** The works performed made it possible to produce medicines in accordance with the requirements of the Federal Act "On the Circulation of Pharmaceutical Products" and the Decree of the Government of the Russian Federation dated December 14, 2018 № 1556 "On Approval of the Regulation on the System for Monitoring the Movement of Drugs for Medical Use". The material presented may be of interest to manufacturers who produce medicines in small amounts.

**Keywords:** labeling, pharmaceuticals, development and implementation, qualification and validation

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Alexander V. Komissarov, Natalia V. Sinitsyna and Vera S. Kostyuchenko carried out the bulk of work on the development of requirements for the labeling, serialization, verification and aggregation system, as well as the implementation of the above-mentioned system at the production sites. Oksana A. Lobovikova carried out the qualification of equipment and validation of technological procedures for labeling drugs and interaction with the drug movement monitoring system. Irina V. Shul'gina, Anna S. Fes'kova and Victoria A. Demchenko played a key role in the preparatory stage for the implementation of the marking, serialization, verification and aggregation system. Elena G. Abramova and Oksana A. Volokh made a crucial contribution to the development of layouts for secondary packaging of medicines. Alexey K. Nikiforov formulated the tasks of the work and summed up its results. All authors equally participated in the selection and processing of materials, writing and discussion of the manuscript.

**For citation:** Komissarov A. V., Lobovikova O. A., Shul'gina I. V., Kostyuchenko V. S., Abramova E. G., Volokh O. A., Sinitsyna N. V., Demchenko V. A., Fes'kova A. S., Nikiforov A. K. Labeling of immunobiological drugs, produced by the Russian research an-ti-plague institution "Microbe" of the rospotrebnadzor. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):115–130. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-115-130>

### ВВЕДЕНИЕ

Согласно сведениям, представленным А. Ю. Самусик «...по данным Всемирной организации здравоохранения, обнаружено более 920 наименований поддельных лекарств во всем мире...» [1].

Проблема нелегальной продукции является крайне острой и для России. Так, по данным сайта государственной системы маркировки и прослеживания

«Честный ЗНАК», доля незаконного оборота на рынке лекарственных средств достигает до 10 %. По заявлению руководителя Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, ныне министра здравоохранения РФ, М. А. Мурашко по состоянию на середину 2018 г. «...выявлены преступления в сфере обращения лекарственных препаратов на общую сумму около 500 млн рублей...» [2].

Данные, предоставленные Н. В. Мининой, свидетельствуют о том, что на сегодняшний день проект по маркировке лекарственных средств реализован в следующих странах мира: Аргентина, Индия, Китай, Южная Корея, Турция, Италия. Процесс активного внедрения маркировки в настоящее время ведется в следующих странах: США (с 2015 г.), Канада (с 2015 г.), Евросоюз (начат во Франции в 2012 г., с 2016 г. внедряется в Германии), Бразилия, Египет, Саудовская Аравия, Иордания. Говоря о том, что их подвигло к внедрению маркировки лекарственных препаратов (ЛП) на территории своих стран, регуляторы фармацевтического рынка, прежде всего, отмечали огромную долю теневого рынка ЛП в своих странах [3].

В начале 2017 г. Правительством РФ был спланирован и реализован эксперимент по маркировке контрольными (идентификационными) знаками и мониторингу за оборотом отдельных видов ЛП для медицинского применения [4].

По результатам проведенного эксперимента были разработаны поправки в Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». В конце 2017 г. эти поправки в виде Федерального закона от 28.12.2017 г. № 425-ФЗ были подписаны президентом РФ В. В. Путиным [5], предусматривающей создание системы мониторинга движения лекарственных препаратов (МДЛП) от производителя до конечного потребителя с использованием средств идентификации, нанесенных на упаковку лекарства. МДЛП планировалось внедрить с 1 января 2020 г.

В соответствии с Распоряжением Правительства РФ от 18.12.2018 г. № 2828-р [6] определено, что общество с ограниченной ответственностью «Оператор-ЦРПТ» является организацией, уполномоченной на осуществление функций оператора системы МДЛП. «Оператор-ЦРПТ» реализовал систему МДЛП в государственной системе маркировки и прослеживания «Честный ЗНАК», в которую входят, наряду с ЛП, такие товары (по состоянию на конец 2020 г.), как табак, шубы, обувь, фотоаппараты и лампы-вспышки, шины и покрышки, товары легкой промышленности, духи и туалетная вода.

В связи с неготовностью части участников оборота ЛП, маркированных средствами идентификации, к работе с ними, Федеральным законом от 27 декабря 2019 г. № 462-ФЗ [7] старт обязательной маркировки для всех ЛП был перенесен на 1 июля 2020 г.

В ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора производятся два ЛП для медицинского применения: иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий, раствор для инъекций, (АИГ) и вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой (ХХВ). ХХВ производится более 30 лет, а АИГ более 20 лет. ХХВ включена в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям,

а АИГ входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. Высокое качество данных ЛП подтверждено рядом исследований [8–13].

При этом ХХВ выпускается в следующих формах выпуска: 210 или 150 таблеток во флаконе стеклянном, 60 или 30 таблеток в банке полимерной. В связи с этим проведение работ по внедрению в процесс производства названных ЛП технологических процедур маркировки средствами идентификации и взаимодействия с МДЛП было актуальной задачей, решение которой было неизбежно.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перед началом работ по внедрению в производственный процесс приготовления названных ЛП технологических процедур маркировки и взаимодействия с МДЛП нами в 2017 г. был разработан поэтапный план проведения необходимых мероприятий. Кстати, ретроспективно можно сказать, что наш план во многом перекликается с пошаговой инструкцией по внедрению маркировки ЛП, описанной в одной из статей генерального директора АО «Промис» Е. Е. Слиякова [14]. Нами была определена следующая поэтапность выполнения работ:

- этап № 1 – подготовительные мероприятия;
- этап № 2 – разработка требований к системе маркировки, сериализации, верификации и агрегирования (СМСВА);
- этап № 3 – реализация на производственных участках вышеназванной системы;
- этап № 4 – квалификация оборудования и валидация технологических процедур маркировки ЛП и взаимодействия с МДЛП.

**Этап № 1** включал в себя следующие мероприятия:

- создание рабочей группы. В состав данной группы были включены специалисты следующих подразделений: производства (участок упаковки), отдела стандартизации, качества и метрологии, отдела биологического и технологического контроля, отдела информационно-коммуникационных технологий, отдела материального технического снабжения и сбыта, секторов обслуживания технологического оборудования и автоматизированных систем управления.

Рабочая группа должна была выполнить следующие мероприятия:

- изучить требования нормативных документов;
- проверить идентичность сведений о ЛП в Государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС) и в системе автоматической идентификации «ЮНИСКАН/ГС1 РУС»;
- приобрести усиленную квалифицированную электронную подпись руководителя предприятия (УКЭП), необходимую для совершения юридически значимых действий и зарегистрировать предприятие в ИС МДЛП;

- определить способ и возможность нанесения средства идентификации на вторичную упаковку.

Основным документом, определяющим порядок нанесения средства идентификации и его характеристики; правила создания и эксплуатации системы МДЛП; порядок взаимодействия системы с иными информационными системами; правила внесения в систему МДЛП информации о ЛП и ее состав; порядок предоставления сведений, содержащихся в системе МДЛП, является Постановление Правительства РФ от 14.12.2018 г. № 1556 [15].

Как показал анализ вышеназванного документа, для начала работ по маркировке ЛП и взаимодействия с информационной системой МДЛП необходимы:

- личный кабинет в информационной системе МДЛП;
- усиленная квалифицированная электронная подпись руководителя предприятия (УКЭП), необходимая для совершения юридически значимых действий;
- программное обеспечение, совместимое с информационной системой МДЛП;
- оборудование для маркировки, верификации, сериализации и агрегации ЛП.

Нам, как производителям ЛП, было необходимо обеспечить полную идентичность сведений о ЛП в Государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС) и в системе автоматической идентификации «ЮНИСКАН/ГС1 РУС», а также проверить возможность размещения кода DataMatrix на вторичную упаковку ЛП, при этом если такая возможность отсутствует, то нужно внести изменения в размеры вторичной упаковки ЛП.

Начиная с июля 2019 г. была проведена работа по взаимодействию с системой мониторинга движения лекарственных препаратов, в частности с электронным порталом «Честный ЗНАК». Для автоматической выгрузки сведений об ЛП на этот портал было необходимо проверить их актуальность в Едином структурированном справочнике-каталоге лекарственных препаратов для медицинского применения (ЕСКЛП). Были предприняты неоднократные безуспешные попытки внесения изменений в ЕСКЛП. Проверена и подтверждена актуальность данных об ЛП в ГРЛС, а также в государственном реестре предельных отпускных цен производителей на лекарственные препараты, включенные в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ГРПОЦ). В итоге было выяснено, что внесение изменений в ЕСКЛП не удастся из-за некорректных сведений в системе автоматической идентификации «ЮНИСКАН/ГС1 РУС».

ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора является членом Ассоциации автоматической идентификации «ЮНИСКАН/ГС1 РУС» с июля 2007 года. Первоначально работу по внесению информации о лекарственных средствах в базу данных «ЮНИСКАН/ГС1 РУС» с целью присвоения уникальных номеров (кодов EAN-13) осуществлял Научный центр экспертизы

средств медицинского применения. Частично информация была представлена неверно и не соответствовала документам регистрационного досье на ИЛП.

После приведения в соответствие всех сведений в «ЮНИСКАН/ГС1 РУС» лекарственным препаратам были присвоены новые GTIN (глобальные номера товарной продукции в единой международной базе товаров GS1), а данные в ЕСКЛП автоматически обновались. Далее аналогичная информация об ИЛП в ручном режиме была внесена в систему «Честный ЗНАК». Итогом проведенной работы стало включение пяти позиций («Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий» и «Вакцина холерная бивалентная химическая» в четырех вариантах формы выпуска) в реестр лекарственных препаратов системы МДЛП 14 ноября 2019 года.

Одной из задач, которую было необходимо решить – определение способа нанесения средства идентификации на вторичную упаковку. Постановление Правительства РФ от 14.12.2018 г. № 1556 регламентирует: «...сведения, содержащиеся в средстве идентификации, наносятся производителем в виде двухмерного штрихового кода методами печати на вторичную (потребительскую) упаковку лекарственного препарата (в случае ее отсутствия – на первичную упаковку лекарственного препарата) или печати на материальный носитель (этикетку), не допускающими отделения материального носителя, содержащего средства идентификации, от упаковки лекарственного препарата без повреждений...» [15].

Годовые производственные планы ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора предусматривают следующие объемы выпуска ЛП: АИГ – до 400 дм<sup>3</sup>; ХХВ – до 40 000 человеко-доз. Соответственно, количество вторичных упаковок, а следовательно, и средств идентификации составляет:

- АИГ – до 20 000 шт. (распределенных равномерно в течение года на 6 серий);
- ХХВ в фасовке 210 таблеток во флаконе стеклянном – до 600 шт.;
- или ХХВ в фасовке 150 таблеток во флаконе стеклянном – до 800 шт.;
- или ХХВ в фасовке 60 таблеток в банке полимерной – до 2000 шт.;
- или ХХВ в фасовке 30 таблеток в банке полимерной – до 4000 шт.

Таким образом, максимальное количество средств идентификации, наносимых на ЛП, составляет 24 000 шт. распределенных равномерно в течение года.

Следовательно, предпочтительным способом нанесения средств идентификации на вторичную упаковку является способ печати на этикетке с последующим ее наклеиванием, как указано в Постановлении Правительства РФ от 14.12.2018 г. № 1556 [15], не допускающими отделения материального носителя, содержащего средства идентификации, от упаковки лекарственного препарата без повреждений.

Необходимо было определить размер этикетки, используемой для изготовления средства идентификации. В данном случае ограничивающими факторами были: геометрические размеры вторичной упаковки ЛП и требования Постановления Правительства РФ от 14.12.2018 г. № 1556 [15] к характеристике средства идентификации, содержащейся в нем информации и его структуре. При этом глобальный идентификационный номер (GTIN) ЛП и индивидуальный серийный номер торговой единицы ЛП дублируются в виде читаемого печатного текста.

При анализе геометрических размеров макетов вторичной упаковки ЛП было выявлено, что максимальный размер средства идентификации в виде этикетки ограничивается высотой 2,0 см и шириной 5,0 см.

Нанесение этикетки не исключает необходимости корректировки габаритов вторичной упаковки. Это может быть вызвано недостаточным для считывания средствами идентификации размером кода «Data Matrix». Различные источники рекомендуют минимальный размер кода DataMatrix – от 0,5 × 0,5 см до 1,0 × 1,0 см. Так, АО «Промис», являющийся одним из производителей картонной продукции для ЛП, в том числе готовых вторичных упаковок с нанесенным кодом DataMatrix, рекомендует в качестве минимального размера – от 0,7 × 0,7 см [16]. Основываясь на вышеизложенном, размер этикетки 2,0 × 5,0 см является достаточным для размещения на ней кода DataMatrix.

Нами определено, что на этикетках, кроме кода DataMatrix и человекочитаемой информации в виде GTIN и индивидуального серийного номера торговой единицы ЛП, должны также присутствовать в виде читаемого печатного текста – номер серии и срок годности ЛП. На рисунке 1 представлены макеты вторичной упаковки ЛП.

В соответствии с требованиями статьи 67 «Информация о лекарственных препаратах. Система мониторинга движения лекарственных препаратов

для медицинского применения» Федерального закона от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и Постановления Правительства РФ от 14 декабря 2018 г. № 1556, нами были внесены изменения Р N001465/01-111119 в ФСП «Вакцина холерная бивалентная химическая» и Р N002639/01-121119 в ФСП «Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий». В разделы ФСП «Маркировка. Вторичная упаковка» на вышеуказанные ЛП добавлена информация о нанесении на пачку неотделимого от упаковки стикера с двумерным штриховым кодом, который является средством автоматической идентификации лекарственного препарата для внесения информации в систему мониторинга движения лекарственных препаратов для медицинского применения.

**Этап № 2** (разработка требований к СМСВА) включал в себя следующие мероприятия:

- разработка функциональной модели процесса маркировки в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора и определение ответственных подразделений за реализацию данной схемы;
- определение способа упаковки во вторичную упаковку (ручной или автоматический), а также необходимой степени агрегации и требуемой автоматизации процесса, исходя из анализа функциональной модели и технологического процесса маркировки;
- анализ опыта внедрения систем маркировки ЛП;
- анализ имеющейся ИТ-структуры ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора;
- проведение мониторинга рынка производителей оборудования и программного обеспечения;
- разработка технических требований к создаваемой СМСВА.

Разработанная функциональная модель процесса маркировки в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора представлена на рисунке 2.

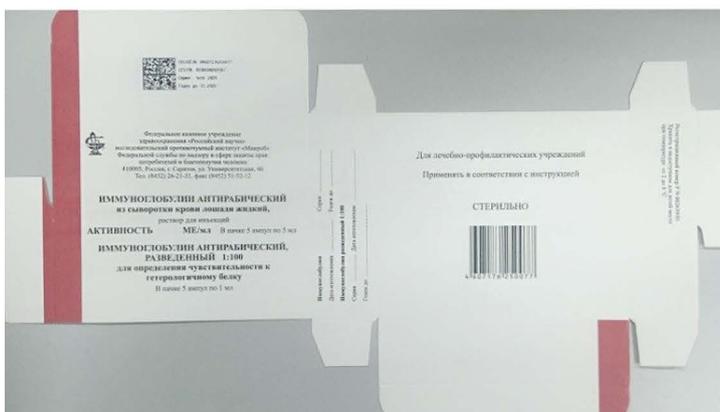


Рисунок 1. Макеты вторичной упаковки

Figure 1. Layouts of secondary packaging



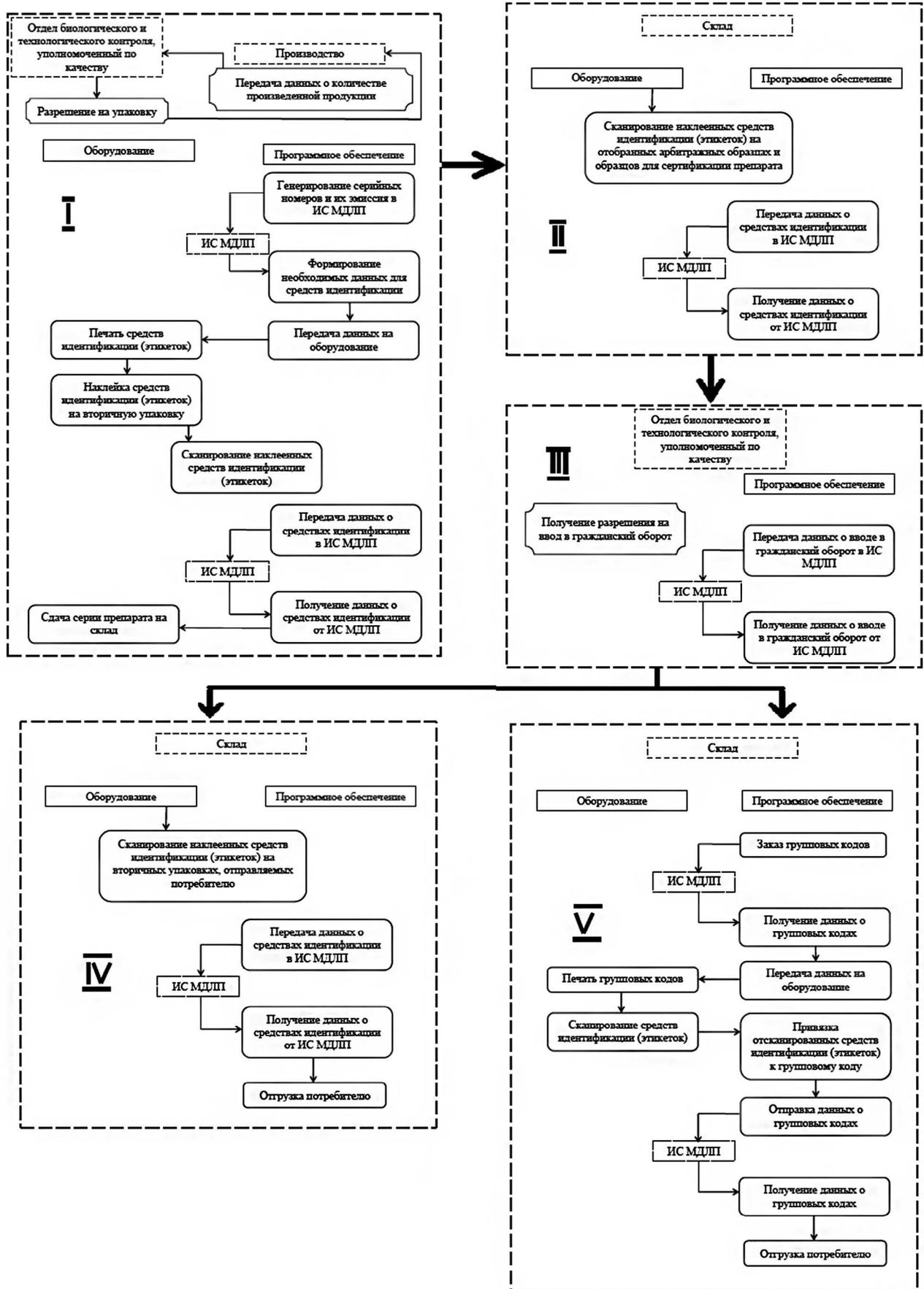


Рисунок 2. Функциональная модель процесса маркировки в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора

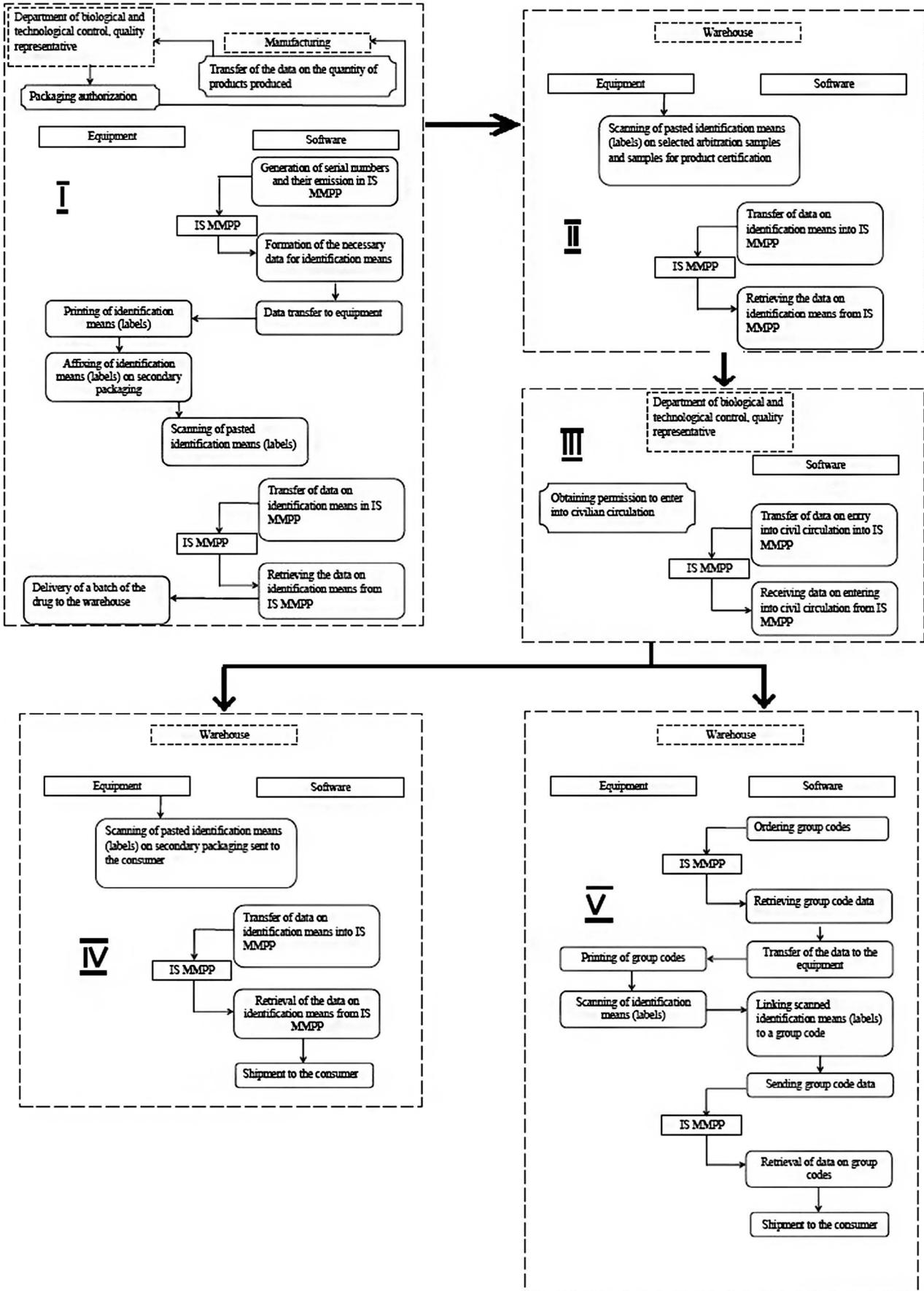


Figure 2. Functional model of the labeling process at the FGHI RusRAPI "Microbe" of the Rospotrebnadzor

Функциональная модель процесса маркировки состоит из 5 стадий, представленных на рисунке. Следует отметить основные отличия разработанной модели от реализованных на других фармацевтических предприятиях, связанные с малым объемом выпускаемой продукции. Так, препараты сдаются на склад не агрегированными в транспортную упаковку. Это обусловлено количеством отгружаемой потребителю продукции. Проведенный анализ выявил, что препараты поставляются в количестве от 1 до 500 вторичных упаковок. Соответственно, процедуру агрегации целесообразно проводить, при необходимости, на складе готовой продукции. Из стадий 4 и 5, завершающихся отгрузкой препаратов потребителю, выполняется один из них. Стадия 4 – в случае отгрузки товара в небольших количествах, не требующих агрегирования вторичных упаковок. Стадия 5 – при отгрузке товара в транспортных упаковках.

На основании анализа функциональной модели процесса маркировки были определены ответственные подразделения за его реализацию: производство (участок упаковки), отдел биологического и технологического контроля, склад (отдел материального технического снабжения и сбыта).

Анализ функциональной модели и технологического процесса маркировки выявил, что ручной способ упаковки во вторичную упаковку является более предпочтительным. При необходимости осуществляется ручная агрегация вторичных упаковок в транспортные, при этом количество агрегированных вторичных упаковок не является постоянной величиной. Требуемой степенью автоматизации процесса является ручное сканирование.

Анализ опыта предприятий, участвовавших в эксперименте по маркировке контрольными (идентификационными) знаками и мониторингу за оборотом отдельных видов ЛП для медицинского применения, выявил, что ни одно из реализованных решений по маркировке неприемлемо для нашего учреждения. Данный вывод мы сделали на основании того, что в ходе эксперимента производителями маркировались серии ЛП, в десятки и сотни раз превышающие весь годовой объем производства нашего института.

Анализ имеющейся IT-структуры ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора выявил, что программное обеспечение СМСВА должно быть построено на базе программы «1С:Предприятие», которая широко используется для хранения и передачи различной информации как внутри учреждения, так и за его пределами. Имеющийся в институте сервер (виртуальная машина Astra Linux «Брест») позволяет обеспечить вычислительные мощности для программного обеспечения СМСВА. В целях обеспечения информационной безопасности рабочие места СМСВА должны быть связаны посредством существующей на предприятии проводной локальной вычислительной сети. Также было выдвинуто требование о том, что компания поставщик программного обеспечения СМСВА долж-

на принять обязательства обновлять/дополнять свое программное обеспечение в случае появления новых требований со стороны регулятора РФ к маркировке, отслеживанию, передаче данных о лекарственных препаратах.

Проведенный анализ рынка поставщиков программного обеспечения, необходимого для создания СМСВА в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, выявил наличие следующих компаний: АО «Промис» (Нижний Новгород), ООО «РЛС-Патент» (Москва), ООО «Актив Компьютерс» (Москва), ООО «Трекарк» (Москва), ЦТО «К-сервис» (Москва), АО «Оригинал» (Москва), ООО «Ин-Сток Текнолоджис» (Москва), ЗАО «НТЦ АТ «Форинтек» (Москва), ООО «Медтех ТД» (Москва), ООО «ЦентрТрейс» (Санкт-Петербург), ООО «Меридиан» (Пермь). Следует сказать, в Роспатенте, по состоянию на начало 2021 г., имеется информация о следующих зарегистрированных программах для ЭВМ, которые могут быть использованы в системе маркировки, сериализации, верификации и агрегирования ЛП:

- ✓ Система прослеживаемости лекарственных препаратов CenterTrace: Pharm (ЦентрТрейс: Фарм), правообладатель – ООО «ЦентрТрейс» (Россия) [17]. Предназначена для использования фармацевтическими предприятиями в целях автоматизации процессов сериализации, агрегирования и прослеживаемости ЛП. Программа реализуется ООО «ЦентрТрейс».
- ✓ ITrack Track&Trace, правообладатель – АО «Оригинал» (Россия) [18]. Предназначена для фиксации этапов жизненного цикла ЛП и иных изделий. Программа реализуется АО «Оригинал».
- ✓ ПРОСАЛЕКС, правообладатель – АО «Промис» (Россия) [19]. Предназначена для мониторинга движения ЛП для медицинского применения от производителя до конечного потребителя с использованием маркировки и идентификации упаковок ЛП. В программе реализованы следующие основные бизнес-процессы: сериализация, производство, перемещение, регистрация. Программа разделена на отдельные функциональные блоки, информационно связанные между собой. В программе поддерживаются инструменты интеграции с внешними информационными системами. Программа реализуется АО «Промис».
- ✓ Автоматизированная система маркировки и прослеживаемости лекарственных препаратов «ФармТрек», правообладатель – ООО «Трекарк» (Россия) [20]. Предназначена для автоматизации процессов нанесения кодов маркировки на упаковки ЛП; отслеживания движения упаковок ЛП в пределах организации и места осуществления деятельности; формирования и отправки уведомлений в ИС МДЛП; формирования отчетов о движении упаковок ЛП в пределах организации и места осуществления деятельности. Программа реализуется ООО «Трекарк».

- ✓ Программа АСУТП маркировка, сериализация и агрегация, правообладатель – А.В. Кипчарский (Россия) [21]. Представляет собой программу управления технологическими процессами производства, маркировки, сериализации и агрегации продукции. Программа позволяет управлять производственным процессом нанесения маркировки на любой вид упаковочного материала и групповой упаковки. Программа реализуется ООО «Медтех ТД».
  - ✓ MES ASPECTUS PHARMA, правообладатель – ООО «Аспектус Фарма» (Россия) [22]. Программа является корпоративной автоматизированной системой управления фармацевтическим производством и предназначена для автоматизации процесса управления обязательной маркировкой лекарственных препаратов. Основные функции программы: оформление заявки на крипто-коды для последующей передачи в крипто-облако; формирование заказа в производство на маркирование DataMatrix кодами партии товара; осуществление интеграции с крипто-облаком, предоставляемым оператором маркировки, интеграции с маркировочной машиной Marchesini Track&Trace, интеграции с системой мониторинга движения ЛП; поиск заявок на крипто-коды/заказов на производство. Сведения о реализации программы отсутствуют.
  - ✓ Меридиан L3, правообладатель – ООО «Меридиан» (Россия) [23]. Программа для управления операциями маркировки продукции на производстве, поставляющая уникальные коды маркировки конечному оборудованию, а также осуществляющая сбор и хранение результатов операций. Область применения: маркировка фармацевтической продукции. Функциональность: получение кодов маркировки; формирование заданий для оборудования маркировки; хранение информации о проведенных заданиях; взаимодействие с оборудованием маркировки; формирование и отправка результирующих данных во внешние источники; отображение в пользовательском интерфейсе информации о текущих данных и статистике выполнения задания. Программа реализуется ООО «Меридиан».
  - ✓ KCM:LINE, правообладатель – ООО «Кей Софт» (Россия) [24]. Программа предназначена для установки на промышленные компьютеры и контроллеры производственных линий. Область применения программы: промышленные предприятия по производству любых видов продукции, с нанесением переменной маркировки с использованием штриховых кодов, а также систем радиочастотной идентификации. Программа обеспечивает выполнение следующих функций: сбор информации от сканирующего оборудования, управление конвейерными и прочими устройствами с функцией обработки дискретных сигналов, агрегирование данных по маркированной продукции и формирования отчетов в формате информационных систем предприятия. Программа реализуется компанией ЦТО «К-сервис».
- С целью выбора потенциальных организаций – возможных претендентов для создания системы маркировки, сериализации и агрегации в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора был проведен анализ возможностей поставщиков программного обеспечения. Основные критерии для выбора и соответствие им представлены в таблице 1.
- Следует сказать о том, что ряд поставщиков уже реализовали свои решения на ряде фармацевтических предприятий. Данные об этих решениях, предоставленных поставщиками, представлены в таблице 2 (по состоянию на начало 2021 г.).
- Для нас, исходя из анализа возможностей поставщиков программного обеспечения, были более предпочтительными 4 компании: АО «Промис», ООО «Актив Компьютерс», ООО «Трекмарк», ООО «Медтех ТД».
- Итогом мероприятий, проводимых в рамках этапа № 2, явилась подготовка планировочных решений размещения оборудования и разработка технических требований к создаваемой СМСВА. Было решено, что необходимо создание 3 рабочих мест:
- ✓ **рабочее место № 1** – участок упаковки ЛП со следующими основными выполняемыми функциями: формирование заданий на маркировку серий ЛП и других плановых операций от имени администратора системы; генерирование уникальных серийных номеров вторичной упаковки; хранение в базе данных всех сгенерированных уникальных серийных номеров в течение не менее 5 лет; автоматическая верификация (проверка) отпечатанного средства идентификации с помощью сканера-верификатора; сканирование вторичных упаковок с нанесенными средствами идентификации ручным сканером и формирование файла с серийными номерами вторичной упаковки; переупаковка лекарственных препаратов; замена испорченной упаковки на новую; отбраковка упаковки с некачественным нанесением средства идентификации; добавление в файл с серийными номерами вторичной упаковки новых серийных номеров вторичной упаковки; отправка данных в ФГИС «МДЛП» при завершении стадии упаковки лекарственных препаратов во вторичную упаковку. Основное оборудование – персональный компьютер, термо-трансферный принтер с верификатором этикеток, беспроводной сканер этикеток.
  - ✓ **рабочее место № 2** – склад готовой продукции со следующими основными выполняемыми функциями: приемка лекарственных средств на склад; агрегирование вторичной упаковки ЛП и печать транспортной этикетки для третичной упаковки; деагрегация; отбор проб для внутреннего контроля и в архив; переупаковка замятых транспорт-

Таблица 1. Анализ возможностей поставщиков программного обеспечения  
Table 1. Analysis of the capacities of software providers

Поставщик Supplier	Критерии Criteria									
	Возможность соединения рабочих мест СМБВ посредством проводной ЛВС предприятия и взаимодействия через нее с системой МДПТ Possibility of connecting LVS workspaces by means of a wired LAN of the enterprise and interaction through it with the MPP system	Возможность самостоятельного генерирования индивидуального серийного номера торговой единицы ЛП и группового кода третьей (транспортной) упаковки Possibility of autonomous generation of an individual serial number of a medicinal product (transport) package. trade unit and a group code of a tertiary	Соответствие структуры информации в средствах идентификации и групповых кодах третичной (транспортной) упаковки, создаваемых программным обеспечением, требованиям Постановления Правительства РФ от 14.12.2018 г. Compliance of the information contained on the means of identification and group codes of tertiary (transport) packaging generated by the software with the requirements of the Decree of the Government of the Russian Federation dated 12/14/2018	Возможность выполнения всех операций, предусмотренных требованиями Постановления Правительства РФ от 14.12.2018 г. Feasibility to perform all operations provided for by the requirements of the Decree of the Government of the Russian Federation dated 12/14/2018	Доработка возможностей программного обеспечения по изменению со стороны регулятора Refinement of the software capabilities according to changes made by the regulator	Наличие оборудования для ручной сериализации и агрегации и соответствие оборудования для печати средств идентификации требованиям Постановления Правительства РФ от 14.12.2018 г. Availability of equipment for manual serialization and aggregation and compliance of the equipment for printing identification notes with the requirements of the Decree of the RF Government dated 12/14/2018	Квалификация оборудования (IQ/PQ) Equipment qualification (IQ/PQ)			
АО «Промис» JSC "Promise"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ООО «РПС-патент» LLC "RLS-patent"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ООО «Актив Компьютерс» LLC "Active Computers"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ООО «Трекмарк» LLC "Trekmark"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ЦТО «К-сервис» TSC "K-Service"	±	+	-	-	±	-	-	-	-	-
АО «Оригинал» JSC "Original"	±	+	-	-	±	-	-	-	-	-
ООО «Ин-Сток Технолджис» LLC "In-Stock Technologies"	Предназначено для работы на складах с системой управления складом Designed to work in warehouses with a warehouse management system									
ЗАО «НТЦ АТ «Форинтек» Forintek STC AI, CJSC	±	+	-	-	±	-	-	-	-	-
ООО «Медтех ТД» LLC "Medtech TD"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ООО «Центр Трейс» LLC "CenterTrace"	±	+	-	-	±	-	-	-	-	-
ООО «Меридиан» LLC "Meridian"	±	+	+	±	±	+	+	+	+	±

Примечание. «+» – соответствие критерию; «-» – несоответствие критерию; «±» – не определено.

Note. «+» – compliance with the criterion; «-» – non-compliance with the criterion; «±» – not defined.

Таблица 2. Поставщики программного обеспечения для сериализации и агрегации ЛП

Table 2. Software vendors for serialization and LP aggregation

Поставщик Supplier	Реализованные решения Implemented solutions
АО «Промис» JSC "Promise"	ООО «НПО ПЕТРОВАКС ФАРМ», АО «ОРГАНИКА», ЗАО «СЕВЕРНАЯ ЗВЕЗДА», ООО «НАТИВА», ГБУЗ «Брянская областная станция переливания крови», ГБУЗ Свердловской области «Областная станция переливания крови», ГБУЗ Нижегородской области «Нижегородский областной центр крови им. Н. Я. Климовой», ЗАО «МЕДМИНИПРОМ», ЗАО «ИНТЕЛФАРМ», ГБУЗ «Липецкая областная станция переливания крови», ООО «Константа-Фарм М», ГБУЗ Тюменской области «Областная станция переливания крови», ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, ООО Медицинская Корпорация «РАНА», ООО «Олимп», ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии, ООО «Акафарм», АО «ИльмиксГрупп», ООО «БИОСУРФ», ООО «29 февраля», ЗАО «Радуга Продакшн», ООО «Восток», АО «Фармцентр ВИЛАР» LLC "NPO PETROVAX FARM", JSC "ORGANIKA", CJSC "SEVERNAYA ZVEZDA", LLC "NATIVA", GBUZ "Bryansk regional blood transfusion station", GBUZ Sverdlovsk region "Regional blood transfusion station", GBUZ Nizhny Novgorod region "Nizhny Novgorod Regional Blood Center named after N. Ya. Klimovoy", CJSC "MEDMINIPROM", CJSC "INTELFARM", GBUZ "Lipetsk Regional Blood Transfusion Station", LLC "Constanta-Farm M", GBUZ Tyumen Region "Regional Blood Transfusion Station", FGBU "48 Central Research Institute" of the Ministry of Defense of Russia, LLC Medical Corporation "RANA", LLC "Olimp", FBUN Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology, LLC "Akapharm", JSC "IlmiksGroup", LLC "BIOSURF", LLC "February 29", CJSC "Raduga Production", LLC "Vostok", JSC "Pharmcenter VILAR"
ООО «РЛС-Патент» LLC "RLS-Patent"	ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», ООО «Рада-Фарма», ЗАО «БИС», ОАО «Тверская фармацевтическая фабрика», ОАО «Ивановская фармацевтическая фабрика» FSUE "SSC" NIOPIK, LLC "Rada-Pharma", CJSC "BIS", OJSC "Tverskaya Pharmaceutical Factory", OJSC "Ivanovskaya Pharmaceutical Factory"
ООО «Актив Компьютерс» LLC "Active Computers"	ООО «НПО ПЕТРОВАКС ФАРМ», АО «Мединторг», «Panbio Pharm», «Stallergenes Greer», «Вимед», ООО «Буарон», «АСФАРМА-РОС», ООО «Сайлент 2000», ООО «Мединторг СПб», ООО «Фармтрансфер» LLC "NPO PETROVACS PHARM", JSC "Medintorg", "Panbio Pharm", "Stallergenes Greer", "Vimed", LLC "Boiron", "ASFARMA-ROS", LLC "Silent 2000", LLC "Medintorg SPB", LLC "Pharmtransfer"
ООО «Трекмарк» LLC "Trekmark"	ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», ГНЦВБ «Вектор», ФКУЗ Ставропольский противочумный институт, ФГБУ «НМИЦ кардиологии», АО ИНПЦ «Пептоген», ООО «Краснодарский завод инфузионных растворов «СТЕРИТЕК», фармацевтический оператор «Сантэнс Сервис», АО «Алтайвитамины», ПАО «Фармсинтез», ЗАО «Зеленая дубрава», филиал НПО «Микроген» предприятие «Иммунопрепарат», г. Уфа FKUZ RosNIPCHI "Microbe", State Research Center for Biochemistry "Vector", FKUZ Stavropol Anti-Plague Institute, FGBU "National Medical Research Center of Cardiology", JSC INPC "Peptogen", LLC "Krasnodar Plant of Infusion Solutions "STERITEK", pharmaceutical operator "Santens Service", JSC "Altayvitamins", PJSC "Pharmsintez", CJSC "Green Dubrava", a branch of NPO "Microgen", the enterprise "Immunopreparat", Ufa
ЦТО «К-сервис» TSC "K-Service"	Данные отсутствуют No data available
АО «Оригинал» JSC "Original"	Данные отсутствуют No data available
ЗАО «НТЦ АТ «Форинтек» JSC "STC AI "Forintek"	ГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, ООО «Гритвак», ООО «Ивановская ФармФабрика», ЗАО «Эдас», ООО «Фирма ВИПС-Мед», ООО «Гомеофарм», ОАО «Фирма Медполимер», АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», АО «Вектор-Медика», ООО «Вектор-Фарм» GBU NITSEM named after N.F. Gamalei, LLC "Gritvak", LLC "Ivanovskaya PharmFabrika", CJSC "Edas", JSC "Firma VIP-Med", LLC "Gomeopharm", OJSC "Firma Medpolymer", OJSC "Siberian Center for Pharmacology and Biotechnology", JSC "Vector- Medica", LLC "Vector-Pharm"
ООО «Медтех ТД» LLC "Medtech TD"	АО «Генериум», ОАО «Фармстандарт-Лексредства», ОАО «Фармстандарт-УфаВИТА», ОАО «Фармстандарт-Томскхимфарм», АО «Эс Джи Биотех», ООО «Тулская фармацевтическая фабрика» JSC "Generium", JSC "Pharmstandard-Leksredstva", JSC "Pharmstandard-UfaVITA", JSC "Farmstan-dart-Tomskkhimfarm", JSC "ES Biotech", LLC "Tula Pharmaceutical Factory"
ООО «ЦентрТрейс» LLC "CenterTrais"	Данные отсутствуют No data available
ООО «Меридиан» LLC "Meridian"	Данные отсутствуют No data available

ных коробов; формирование заказа на отгрузку путем сканирования упаковок с помощью беспроводных терминалов сбора данных; замена замятых пачек; разукomплектование коробов с печатью новых этикеток; отгрузка и возврат готовой продукции; уничтожение готовой продукции. Основное оборудование – персональный компьютер, термотрансферный принтер, беспроводной терминал сбора данных.

✓ **рабочее место № 3** – участок администратора со следующими основными выполняемыми функциями: получение из базы данных информации о приемке лекарственных средств на склад и об отгрузке лекарственных препаратов со склада, полученных с беспроводных терминалов сбора данных на складе готовой продукции; отправка данных о приемке и об отгрузке лекарственных препаратов в ФГИС «МДЛП». Кроме того, рабо-

чее место должно иметь доступ ко всем функциям СМСВА. Основное оборудование – персональный компьютер.

Рабочие места должны быть связаны посредством проводной локальной вычислительной сети через сервер (виртуальная машина Astra Linux «Брест»).

По итогам проведенных работ на этапах 1 и 2 было разработано техническое задание на поставку СМСВА ЛП, выполнение монтажных, пусконаладочных, приемо-сдаточных работ, ввод в эксплуатацию, обучение работников заказчика работе с системой. По итогам проведенных торгов поставщиком был определен ООО «Трекмарк».

**Этап № 3** (реализация на производственных участках СМСВА) включал в себя следующие мероприятия:

- поставка СМСВА и проведение пусконаладочных работ;
- квалификация оборудования (IQ/OQ);
- обучение персонала;
- внесение изменений в нормативные документы (должностные инструкции, производственные регламенты, стандартные операционные процедуры).

Поставленная ООО «Трекмарк» СМСВА включала два решения: программная часть – автоматизированная система управления процессами маркировки «ФармТрек», обеспечивающая связь с системой «Честный ЗНАК» и формирование задания для маркировочного оборудования; аппаратная часть – термо-трансферный принтер-верификатор для маркировки препаратов DataMatrix-кодами, ручной сканер с программным обеспечением индивидуальной разработки для отправки отчетов об использованных кодах, комплекс складских операций (ручной терминал сбора данных, принтера для печати этикеток группового кода и программного приложения «ХТрек: ТСД»/«ФармТрек ТСД», интегрированного с программным обеспечением «ФармТрек») для агрегации вторичных упаковок. Проведение пусконаладочных работ и квалификации оборудования, осуществленное совместно с сотрудниками ООО «Трекмарк», выявило полную работоспособность поставленной СМСВА.

На рабочем месте № 1 показана возможность выполнения следующих процедур: предварительная генерация серийных номеров; эмиссия серийных номеров в МДЛП; печать этикеток со средствами идентификации; сканирование этикеток со средствами идентификации; отправка отчета в МДЛП об использовании этикеток со средствами идентификации. Было выявлено, что комплекс складских операций (рабочее место № 2) совместно с программным обеспечением «ФармТрек» обеспечивает выполнение следующих операций: отгрузка товаров со склада и отгрузка продукции собственнику; поступление товаров на склад; вывод товаров из оборота по различным причинам; агрегирование упаковок товаров; расформирование (уничтожение) упаковок товаров;

изъятие упаковок товаров; вложение упаковок товаров; передача на уничтожение и уничтожение товаров; отбор образцов товаров; повторный ввод в оборот товаров; инвентаризация; формирование заданий на терминал сбора данных. На рабочем месте № 3 показана возможность отправки отчета в МДЛП о вводе в гражданский оборот.

Без сомнения, провести полномасштабное обучение персонала за время, отведенное для этой цели, не представлялось возможным. Однако разработанная ООО «Трекмарк» техническая документация (инструкция пользователя «Автоматизированной системы маркировки и прослеживаемости лекарственных препаратов «ФармТрек»; руководство администратора автоматизированной системы маркировки и прослеживаемости лекарственных препаратов «ФармТрек»), а также последующие консультации в режиме онлайн позволили успешно решить данную задачу.

Введение новых технологических процедур маркировки ЛП и взаимодействия с МДЛП потребовало внесения изменений в положения о структурных подразделениях, осуществляющих и контролирующих их проведение, а также в должностные инструкции сотрудников этих подразделений. Положения о подразделениях были дополнены обязанностью выполнения операций в соответствии с функциональной моделью процесса маркировки в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

Изменение фармакопейных статей предприятия, а также внедрение новых технологических процедур потребовало отражения их в промышленном регламенте на производство иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади жидкого, раствора для инъекций, а также в промышленном регламенте на производство вакцины холерной бивалентной химической, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой. Изменения коснулись следующих разделов и пунктов в них: характеристика готового продукта (нормативные требования к упаковке, маркировке, транспортированию, хранению); технологическая схема производства (схема технологического процесса); аппаратная схема производства и спецификация оборудования (спецификация оборудования контрольно-измерительных и регулирующих приборов; аппаратная схема производства); изложение технологического процесса (подготовка вторичных упаковок; упаковка препарата; сдача препарата на склад; отбор образцов для проведения испытаний качества иммунобиологического лекарственного препарата); информационные материалы (методы контроля препарата).

Также существенной корректировке подверглись стандартные операционные процедуры: упаковка ЛП «Имуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий, раствор для инъекций»; упаковка ЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая, таб-

летки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» в фасовке 30 таблеток в банке полимерной; упаковка ЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» в фасовке 60 таблеток в банке полимерной; упаковка ЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» в фасовке 150 таблеток во флаконе стеклянном; упаковка ЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» в фасовке 210 таблеток во флаконе стеклянном; процедура «Порядок передачи готовой продукции потребителю»; процедура «Порядок приема готовой продукции на склад готовой продукции».

**Этап № 4** (валидация технологических процедур маркировки ЛП и взаимодействия с МДЛП).

Валидация технологических процедур маркировки и взаимодействия с МДЛП проводилась на трех рабочих местах. Маркировка упаковок, работа в системе маркировки, верификации, сериализации и агрегации лекарственных препаратов «ФармТрек» и взаимодействие с ФГИС МДЛП, маркировка и комплектовка вторичной упаковки осуществлялись в соответствии с стандартными операционными процедурами, разработанными на 5 видов вторичных упаковок ЛП: АИГ и ХХВ в фасовках: 210 таблеток во флаконе стеклянном, 150 таблеток во флаконе стеклянном, 60 таблеток в банке полимерной, 30 таблеток в банке полимерной. Все работы проводились в тестовых контурах: ФармТрек «Песочница» и ФГИС МДЛП «Песочница». Определение объема выборки проверяемой серии антирабического иммуноглобулина проводили в соответствии ГОСТ Р ИСО 2859-1-2007 [25].

Основные валидируемые характеристики и критерии приемлемости для них представлены в таблице 3.

Следует отметить, что проведенные квалификация оборудования и валидация технологических процедур маркировки ЛП и взаимодействия с МДЛП не выявили проблем, препятствующих началу работы с реальными сериями ЛП.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлена последовательность внедрения технологических процедур маркировки и взаимодействия с МДЛП при производстве ЛП во ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. Последовательность включала в себя поэтапный план проведения необходимых мероприятий: этап № 1 – подготовительные мероприятия; этап № 2 – разработка требований к системе маркировки, сериализации, верификации и агрегирования; этап № 3 – реализация на производственных участках вышеназванной системы; этап № 4 – валидация технологических процедур маркировки ЛП и взаимодействия с МДЛП.

Проведенные работы позволили производить ЛП в соответствии с требованиями Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» и Постановления Правительства РФ от 14.12.2018 г. № 1556 «Об утверждении Положения о системе мониторинга движения лекарственных препаратов для медицинского применения». Изложенный материал может представлять интерес для производителей, выпускающих ЛП в небольшом объеме.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Самусик А. Ю. Правовые аспекты регулирования пилотного проекта маркировки лекарственных препаратов при помощи двухмерного штрихкода в России. *Funomeza*. 2018;1(2):66–70.
2. Михаил Мурашко: «Благодаря маркировке обеспечивается защита населения от фальсифицированных, недоброкачественных и контрафактных лекарственных препаратов». *Ремедиум*. 2018;6:6–7. Доступно по: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_35384560\\_57025277.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_35384560_57025277.pdf). Ссылка активна на 25.05.2021.
3. Маркировка лекарственных препаратов: грядущая неизбежность. Доступно по: [https://provizor24.ru/blog/about-markirovka\\_lp](https://provizor24.ru/blog/about-markirovka_lp). Ссылка активна на 25.05.2021.
4. Постановление Правительства РФ от 24 января 2017 г. № 62 «О проведении эксперимента по маркировке контрольными (идентификационными) знаками и мониторингу за оборотом отдельных видов лекарственных препаратов для медицинского применения». Доступно по: <https://base.garant.ru/71598840/> Ссылка активна на 25.05.2021.
5. Федеральный закон от 28 декабря 2017 г. № 425-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Доступно по: <https://garant.ru/products/ipo/prime/doc/71746624/> Ссылка активна на 25.05.2021.
6. Распоряжение Правительства РФ от 18 декабря 2018 г. № 2828-р Об определении ООО «Оператор-ЦРПТ» организацией, уполномоченной на осуществление функций оператора системы мониторинга движения лекарственных препаратов для медицинского применения. Доступно по: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72036180/> Ссылка активна на 25.05.2021.
7. Федеральный закон от 27 декабря 2019 г. N 462-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и Федеральный закон «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Доступно по: <https://base.garant.ru/73355363/> Ссылка активна на 25.05.2021.
8. Абрамова Е. Г., Никифоров А. К., Мовсесянц А. А., Жулидов И. М. Бешенство и антирабические иммунобиологические препараты: от прививки Пастера к современным биотехнологиям. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019;5:83–94. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-5-83-94.
9. Мовсесянц А. А., Бутырский А. Ю., Бондарев В. П., Олфир Ю. В., Постнова Е. Л., Мухачева А. В. К вопросу о применении гетерологичного антирабического иммуноглобулина для специфической профилактики бешенства у людей. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015;14(5):85–89. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-85-89.
10. Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Абрамова Е. Г., Никифоров А. К., Комиссаров А. В., Демченко В. А., Селезнева А. Г., Феськова А. С., Галетова С. С., Миронова Н. П. Регистрационная документация и изменения к ней как элемент системы менеджмента качества при производстве антирабического иммуноглобулина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(1):92–96. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-92-96.
11. Шульгина И. В., Лобовикова О. А., Волох О. А., Громова О. В., Никифоров А. К., Комиссаров А. В., Демченко В. А., Феськова А. С., Галетова С. С., Миронова Н. П., Павлова В. И. Обзор регистрационных изменений в процессе жизненного цикла вакцины холерной бивалентной химической. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(1):109–114. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-109-114.

Таблица 3. Основные валидируемые характеристики и критерии приемлемости для них

Table 3. Main validated characteristics and acceptance criteria for them

Валидируемые характеристики Validated characteristics	Критерии приемлемости Eligibility criteria
<i>Операции на рабочем месте № 1 Workplace operations № 1</i>	
Предварительная генерация серийных номеров Pre-generation of serial numbers	Количество сгенерированных серийных номеров должно соответствовать заданному The number of generated serial numbers must correspond to the specified one
Эмиссия серийных номеров в МДЛП Issue of serial numbers in the MMPP system	<ol style="list-style-type: none"> <li>Сгенерированные серийные номера должны принять статус «Эмитированы».</li> <li>Количество эмитированных серийных номеров должно соответствовать заданному в программном обеспечении «ФармТрек» и в ФГИС МДЛП.</li> <li>Общая длина эмитированного серийного номера (средства идентификации) должна содержать 83 символа, расположенных в следующей последовательности: код товара: «01» + 14 символов GTIN; индивидуальный серийный номер: «21» + 13 символов; ключ проверки: «91» + 4 символа и код проверки: «92» + 44 символа (генерируются оператором системы ФГИС МДЛП)</li> </ol> <ol style="list-style-type: none"> <li>The generated serial numbers must assume the Issued status.</li> <li>The number of issued serial numbers must correspond to that specified in the FarmTrack software and in the FSIS MMPP.</li> <li>The total length of the issued serial number (identification means) must contain 83 characters in the following sequence: product code: «01» + 14 GTIN characters; individual serial number: «21» + 13 characters; check key: «91» + 4 characters and check code: «92» + 44 characters (generated by the operator of the FSIS MMPP)</li> </ol>
Печать этикеток со средствами идентификации Printing of product labels with identification means	<ol style="list-style-type: none"> <li>Количество отпечатанных этикеток должно соответствовать заданному в программном обеспечении «ФармТрек».</li> <li>На этикетках должен быть код DataMatrix и человекочитаемая информация: GTIN, серийный номер, номер серии препарата, дата годности без видимых дефектов печати.</li> <li>Наличие ответа от программного обеспечения «ФармТрек» по напечатанным этикеткам со статусом «Напечатан» или «Брак».</li> <li>Наличие ответа от программного обеспечения «ФармТрек» по напечатанным этикеткам по содержанию кода DataMatrix: должна содержать 83 символа, расположенных в следующей последовательности: код товара: «01» + 14 символов GTIN; индивидуальный серийный номер: «21» + 13 символов; ключ проверки: «91» + 4 символа и код проверки: «92» + 44 символа</li> </ol> <ol style="list-style-type: none"> <li>The number of printed labels must correspond to that specified in the FarmTrack software.</li> <li>Labels must have DataMatrix code and human-readable information: GTIN, serial number, batch number of the drug, expiration date without visible print defects.</li> <li>Availability of a response from the FarmTrack software for printed labels with the «Printed» or «Rejected» status.</li> <li>Availability of a response from the PharmTrack software based on the printed labels on the content of the DataMatrix code: must contain 83 characters in the following sequence: product code: «01» + 14 GTIN characters; individual serial number: «21» + 13 characters; verification key: «91» + 4 characters and verification code: «92» + 44 characters</li> </ol>
Сканирование этикеток со средствами идентификации Scanning of labels with identification means	Наличие ответа от программного обеспечения «ФармТрек» по отсканированным этикеткам со статусом «Нанесен» Rresponse from the FarmTrack software for the scanned labels with the «Applied/labeled» status
Отправка отчета в МДЛП об использовании этикеток со средствами идентификации Sending a report to MMPP system on the use of labels with identification means	<ol style="list-style-type: none"> <li>Статус вторичных упаковок со средствами идентификации должен измениться на «Ожидает выпуска».</li> <li>Количество принятых средств идентификации в ФГИС МДЛП должно соответствовать отправленному из «ФармТрек»</li> </ol> <ol style="list-style-type: none"> <li>The status of secondary packages with identification means should change to «Awaiting release».</li> <li>The number of identification means accepted in FSIS MMPP must correspond to that sent from FarmTrack</li> </ol>
Соответствие расположения этикеток со средствами идентификации на вторичной упаковке ее макету Correspondence of the location of labels with identification means on the secondary packaging to the layout	Этикетки со средствами идентификации на вторичной упаковке должны располагаться согласно ее макета Labels with identification means on the secondary packaging should be located according to its layout
Невозможность отделения этикеток со средствами идентификации от вторичной упаковки без нарушения ее целостности The impossibility of separating the labels with identification means from the secondary packaging without violating its integrity	При отделении этикеток со средствами идентификации должна нарушаться целостность вторичной упаковки When separating the labels with identification means, the integrity of the secondary packaging must be damaged

Валидируемые характеристики Validated characteristics	Критерии приемлемости Eligibility criteria
<i>Операции на рабочем месте № 2 Workplace operations № 2</i>	
Сканирование вторичных упаковок со средствами идентификации Scanning of secondary packages with identification means	Наличие ответа от программного обеспечения «ФармТрек» по отсканированным вторичным упаковкам со средствами идентификации статусом «Ожидает выпуска», «В обороте» «In circulation» response from the PharmTrack software for scanned secondary packages with identification means with the status «Awaiting release»
Печать групповых кодов для выполнения агрегации первого уровня Printing group codes for first level aggregation	1. Количество отпечатанных этикеток должно соответствовать заданному в программном обеспечении «ФармТрек». 2. На этикетках должен быть код SSCC и человекочитаемая информация: наименование производителя ЛС, юридический адрес, контактные телефоны, наименование ЛС. Печать должна быть произведена без видимых дефектов печати. 3. Наличие ответа от программного обеспечения программного обеспечения «ФармТрек» по напечатанным этикеткам с кодом SSCC 1. The number of printed labels must correspond to that specified in the FarmTrack software. 2. The labels must contain the SSCC code and human-readable information: the name of the drug manufacturer, legal address, contact telephones, the name of the drug. Printing must be done without visible printing defects. 3. Availability of a response from the FarmTrack software for printed labels with the SSCC code
Сканирование третичных упаковок со средствами идентификации Scanning of tertiary packages with identification means	Наличие ответа от программного обеспечения «ФармТрек» по отсканированным третичным упаковкам Response from the FarmTrack software for scanned tertiary packages
<i>Операции на рабочем месте № 3 Workplace operations № 3</i>	
Отправка отчета в МДЛП об отобранных образцах Sending a report to MMPP system on the samples taken	1. Статус вторичных упаковок со средствами идентификации должен измениться с «Ожидает выпуска» на «Отобран образец». 2. Количество отобранных вторичных упаковок со средствами идентификации в ФГИС МДЛП должно соответствовать отправленному из «ФармТрек» 1. The status of secondary packages with means of identification should change from «Awaiting release» to «Sample taken». 2. The number of selected secondary packages with identification means in FSIS MMPP must correspond to that sent from FarmTrek
Отправка отчета в МДЛП о вводе в гражданский оборот Sending a report to MMPP system on putting into civil circulation	1. Статус вторичных упаковок со средствами идентификации должен измениться с «Ожидает выпуска» на «В обороте». 2. Количество введенных в оборот вторичных упаковок со средствами идентификации в ФГИС МДЛП должно соответствовать отправленному из «ФармТрек» 1. The status of secondary packages with means of identification should change from «Awaiting release» to «In circulation». 2. The number of secondary packages put into circulation with identification means in FSIS MMPP must correspond to that sent from PharmTrack
Отправка уведомления в МДЛП об отгрузке лекарственных препаратов Sending a notification to MMPP system about the shipment of medicinal products	Количество отгруженных вторичных упаковок со средствами идентификации в ФГИС МДЛП должно соответствовать отправленному из «ФармТрек» The number of shipped secondary packages with identification means in FSIS MMPP must correspond to that sent from FarmTrack

12. Комиссаров А. В., Еремин С. А., Задохин С. Н., Шульгина И. В., Лобовикова О. А., Ливанова Л. Ф., Никифоров А. К. Новые подходы в технологии получения таблетки вакцины холерной бивалентной химической. *Биофармацевтический журнал*. 2015;7(1):30–39.
13. Комиссаров А. В., Волох О. А., Громова О. В., Алешина Ю. А., Гаева А. В., Ливанова Л. Ф., Никифоров А. К. Технология получения препаратов О-антигена невирулентных штаммов *Vibrio cholerae*. *Биофармацевтический журнал*. 2015;7(6):20–32.
14. Слиянок Е. Е. Маркировка лекарственных препаратов: опыт внедрения и перспективы. *Ремедиум*. 2018;6:8–13.
15. Постановление Правительства РФ от 14 декабря 2018 г. № 1556 «Об утверждении Положения о системе мониторинга движения лекарственных препаратов для медицинского применения». Доступно по: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72036156/> Ссылка активна на 25.05.2021.
16. Требования к Data Matrix коду. Доступно по: <https://saleks.pro/marking/trebovaniya-k-data-matrix-kodu/> Ссылка активна на 25.05.2021.
17. Программное обеспечение. Система прослеживаемости лекарственных препаратов CenterTrace: Pharm (ЦентрТрейс: Фарм). Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39295848>. Ссылка активна на 25.05.2021.
18. Программное обеспечение. ITrack Track & Trace. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39303624>. Ссылка активна на 25.05.2021.
19. Программное обеспечение. ПРОСАЛЕКС. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39371133>. Ссылка активна на 25.05.2021.
20. Программное обеспечение. Автоматизированная система маркировки и прослеживаемости лекарственных препаратов «ФармТрек». Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=40880373>. Ссылка активна на 25.05.2021.
21. Программное обеспечение. Программа АСУТП маркировка, сериализация и агрегация. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39293806>. Ссылка активна на 25.05.2021.

22. Программное обеспечение. MES ASPECTUS PHARMA. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43886055>. Ссылка активна на 25.05.2021.
23. Программное обеспечение. Меридиан L3. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39316380>. Ссылка активна на 25.05.2021.
24. Программное обеспечение. KCM LINE. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39301594>. Ссылка активна на 25.05.2021.
25. Статистические методы. Процедуры выборочного контроля по альтернативному признаку. Часть 1. Планы выборочного контроля последовательных партий на основе приемлемого уровня качества. М.: Стандартинформ; 2008. 104 с.

## REFERENCES

1. Samusik A. Yu. *Pravovye aspekty regulirovaniya pilotnogo proekta markirovki lekarstvennykh preparatov pri pomoshchi dvukhmernogo shtrikhkoda v Rossii* [Legal aspects of the regulation of the pilot project of drug labeling using a two-dimensional barcode in Russia]. *Gipoteza = Hypothesis*. 2018;1(2):66–70. (In Russ.)
2. Mikhail Murashko: «Blagodarya markirovke obespechivaetsya zashchita naseleniya ot fal'sifitsirovannykh, nedobrokachestvennykh i kontrafaktnykh lekarstvennykh preparatov» [Mikhail Murashko: "Thanks to the labeling, the population is protected from counterfeit, substandard and counterfeit drugs"]. *Remedium*. 2018;6:6–7. Available at: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_35384560\\_57025277.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_35384560_57025277.pdf). Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
3. *Markirovka lekarstvennykh preparatov: gryadushchaya neizbezhnost'* [Drug labeling: an imminent inevitability]. Available at: [https://provizor24.ru/blog/about\\_markirovka\\_lp/](https://provizor24.ru/blog/about_markirovka_lp/) Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
4. *Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 24 yanvarya 2017 g. № 62 «O provedenii eksperimenta po markirovke kontrol'nymi (identifikatsionnymi) znakami i monitoringu za oborotom otdel'nykh vidov lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya»* [Decree of the Government of the Russian Federation of January 24, 2017 No. 62 "On conducting an experiment on labeling with control (identification) marks and monitoring the circulation of certain types of drugs for medical use"]. Available at: <https://base.garant.ru/71598840/> Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
5. *Federal'nyy zakon ot 28 dekabrya 2017 g. № 425-FZ "O vnosenii izmeneniy v Federal'nyy zakon "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv"* [Federal Law of December 28, 2017 No. 425-FZ "On Amendments to the Federal Law" On the Circulation of Medicines"] Available at: <https://garant.ru/products/ipo/prime/doc/71746624/> Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
6. *Rasporyazhenie Pravitel'stva RF ot 18 dekabrya 2018 g. N 2828-r Ob opredelenii OOO "Operator-TsRPT" organizatsiyey, upolnomochennoy na osushchestvlenie funktsiy operatora sistemy monitoringa dvizheniya lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya* [Order of the Government of the Russian Federation of December 18, 2018 N 2828-r On the definition of Operator-CRPT LLC as an organization authorized to act as an operator of a system for monitoring the movement of drugs for medical use]. Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72036180/> Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
7. *Federal'nyy zakon ot 27 dekabrya 2019 g. N 462-FZ "O vnosenii izmeneniy v Federal'nyy zakon "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv" i Federal'nyy zakon "O vnosenii izmeneniy v Federal'nyy zakon "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv"* [Federal Law of December 27, 2019 N 462-FZ "On Amendments to the Federal Law "On the Circulation of Medicines" and the Federal Law "On Amendments to the Federal Law "On the Circulation of Medicines""]. Available at: <https://base.garant.ru/73355363/> Accessed: 17.11.2020.
8. Abramova E. G., Nikiforov A. K., Movsesyants A. A., Zhulidov I. M. Rabies and rabies immunobiological preparations: vaccinations Pasteur to the contemporary biotechnology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2019;5:83–94. (In Russ.) DOI:10.36233/0372-9311-2019-5-83-94.
9. Movsesyants A. A., Butyrskiy A. Yu., Bondarev V. P., Olefir Yu. V., Postnova E. L., Mukhacheva A. V. The Use of a Heterologous Anti-Rabies Immunoglobulin for Specific Prevention of Human Rabies. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2015;14(5):85–89. (In Russ.) DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-85-89.
10. Lobovikova O. A., Shul'gina I. V., Abramova E. G., Nikiforov A. K., Komissarov A. V., Demchenko V. A., Selezneva A. G., Fes'kova A. S., Galetova S. S., Mironova N. P. Registration documentation and amendments to it as an element of a quality management system in production of anti-rabies immunoglobulin. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2019;8(1):92–96. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-92-96.
11. Shul'gina I. V., Lobovikova O. A., Voloh O. A., Gromova O. V., Nikiforov A. K., Komissarov A. V., Demchenko V. A., Fes'kova A. S., Galetova S. S., Mironova N. P., Pavlova V. I. Review of post-registration changes in the life cycle of cholera bivalent chemical vaccine. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(1):109–114. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-109-114.
12. Komissarov A. V., Eremin S. A., Zadokhin S. N., Shul'gina I. V., Lobovikova O. A., Livanova L. F., Nikiforov A. K. New approaches in technology of manufacturing of the tablet of cholera chemical bivalent vaccine. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2015;7(1):30–39. (In Russ.)
13. Komissarov A. V., Voloch O. A., Gromova O. V., Aleshina Ya. A., Gaeva A. V., Livanova L. F., Nikiforov A. K. Method of manufacturing of O-antigen preparations obtained from avirulent *Vibrio cholerae* strains. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2015;7(6):20–32. (In Russ.)
14. Slinyakov E. E. Drug labeling: experience of implementation and prospects. *Remedium*. 2018;6:8–13. (In Russ.) DOI: 10.21518/1561-5936-2018-6-8-13.
15. *Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 14 dekabrya 2018 g. № 1556 "Ob utverzhdenii Polozheniya o sisteme monitoringa dvizheniya lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya"* [Decree of the Government of the Russian Federation of December 14, 2018 No. 1556 "On approval of the Regulation on the system for monitoring the movement of drugs for medical use"]. Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72036156/> Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
16. *Trebovaniya k Data Matrix kodu* [Data Matrix code requirements]. Available at: <https://saleks.pro/marking/trebovaniya-k-data-matrix-kodu/> Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
17. *Programmnoe obespechenie. Sistema proslzhivaemosti lekarstvennykh preparatov CenterTrace: Pharm (TsentriTreys: Farm)* [Software. CenterTrace: Pharm drug traceability system Farm]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39295848>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
18. *Programmnoe obespechenie. ITrack Track & Trace* [Software. ITrack Track & Trace]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39303624>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
19. *Programmnoe obespechenie. PROSALEKS* [Software. PROSALEX]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39371133>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
20. *Programmnoe obespechenie. Avtomatizirovannaya sistema markirovki i proslzhivaemosti lekarstvennykh preparatov «FarmTrek»* [Software. PharmTrak automated drug labeling and traceability system]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=40880373>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
21. *Programmnoe obespechenie. Programma ASUTP markirovka, serializatsiya i agregatsiya* [Software. Process control software labeling, serialization and aggregation]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39293806>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
22. *Programmnoe obespechenie. MES ASPECTUS PHARMA* [Software. MES ASPECTUS PHARMA]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43886055>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
23. *Programmnoe obespechenie. Meridian L3* [Software. Meridian L3]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39316380>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
24. *Programmnoe obespechenie. KSM LINE* [Software. KSM LINE]. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39301594>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
25. *Statisticheskie metody. Protseydury vyborochnogo kontrolya po al'ternativnomu priznaku. Chast' 1. Plany vyborochnogo kontrolya posledovatel'nykh partiy na osnove priemlemogo urovnya kachestva* [Statistical methods. Sampling procedures on an alternative basis. Part 1. Plans for the sampling of consecutive lots based on an acceptable level of quality]. Moscow: Standartinform; 2008. 104 p. (In Russ.)

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-131-137>  
УДК 615.014.21



Оригинальная статья / Research article

## Масштабирование процесса гранулирования в условиях GMP тренинг-центра и оценка возможных рисков

О. Н. Абросимова\*, М. А. Буракова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

\*Контактное лицо: Абросимова Олеся Николаевна. E-mail: olesya.abrosimova@pharminnotech.com

ORCID: О. Н. Абросимова – <https://orcid.org/0000-0002-0274-0139>; М. А. Буракова – <https://orcid.org/0000-0002-3880-0359>.

Статья поступила: 12.05.2021

Статья принята в печать: 30.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В технологии твердых лекарственных форм часто используют стадию влажного гранулирования. К наиболее сложному с инженерной и технологической точки зрения способу ее реализации можно отнести метод влажной грануляции в смесителе-грануляторе с высоким усилием сдвига. Смеситель-гранулятор имеет две мешалки, расположенные во взаимно перпендикулярных плоскостях. С помощью импеллера осуществляется смешивание сухих компонентов, а чоппер, включаясь при распылении увлажнителя, обеспечивает формирование гранулята. Задавая разную частоту вращения чоппера, можно получать гранулят разного размера. Данный гранулятор имеет следующие преимущества: обеспечивает высокий выход продукта ( $\geq 99\%$ ), занимает небольшие рабочие пространства, а замкнутая конструкция обеспечивает защиту окружающей среды.

**Цель.** Цель исследования – масштабирование процесса гранулирования на примере технологии производства твердых лекарственных форм с использованием стадии влажного гранулирования в смесителе-грануляторе с высоким усилием сдвига.

**Материалы и методы.** В качестве фармацевтической субстанции использовали сухой экстракт «N» и вспомогательные вещества: лактоза моногидрат, микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) (MICROCEL® MC-102), крахмал картофельный, повидон (Plasdone™ K-29/32), стеарат кальция. Гранулят в условиях масштабирования получали в смесителе-грануляторе с высоким усилием сдвига SMG3-6-1 (Chongqing Jinggong Pharmaceutical Machinery Co., Ltd., Китай). Технологические свойства сухого экстракта «N» и гранулята определяли по методикам, описанным в ГФ XIV.

**Результаты и обсуждение.** На основании проведенных экспериментальных исследований установлено, что полученный гранулят как и при получении в лабораторных условиях, так и в условиях масштабирования обладает хорошей сыпучестью, а также имеет однородный фракционный состав. Наличие чоппера в смесителе-грануляторе позволило получить более однородный фракционный состав гранулята. Увеличение загрузки в 10 раз не влияло на состав гранулята. При масштабировании процесса гранулирования был проведен анализ рисков, определены и структурированы факторы, влияющие на технологический процесс. Установлено, что наиболее важными являются стадии смешения и непосредственно гранулирование. Для получения однородной смеси была задействована дополнительная единица оборудования – смеситель.

**Заключение.** В результате масштабирования процесса гранулирования подобраны параметры проведения влажного гранулирования в смесителе-грануляторе (оптимальная загрузка, скорость вращения импеллера и чоппера), оценены технологические свойства полученного гранулята, риски, влияющие на технологический процесс, составлена причинно-следственная диаграмма (диаграмма Исикавы).

**Ключевые слова:** перенос технологии, масштабирование, гранулирование в смесителе-грануляторе, гранулят, диаграмма Исикавы

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** М. А. Буракова, О. Н. Абросимова сделали постановку задачи, выполнение эксперимента, обработку полученных данных, обсуждали результаты и написание текста статьи.

**Для цитирования:** Абросимова О. Н., Буракова М. А. Масштабирование процесса гранулирования в условиях GMP тренинг-центра и оценка возможных рисков. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):131–137. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-131-137>

## Scaling of the Granulation Process in the Conditions of GMP Training Center and Assessment of Possible Risks

Olesya N. Abrosimova\*, Marina A. Burakova

Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

\*Corresponding author: Olesya N. Abrosimova. E-mail: olesya.abrosimova@pharminnotech.com

ORCID: Olesya N. Abrosimova – <https://orcid.org/0000-0002-0274-0139>; Marina A. Burakova – <https://orcid.org/0000-0002-3880-0359>.

Received: 12.05.2021

Revised: 30.06.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** The stage of wet granulation is often used in the technology of solids. The method of wet granulation in a mixer-granulator with high shear force can be regarded as the most complicated method of its implementation from the engineering and technological point of view. The mixer-granulator has two mixers located in mutually perpendicular planes. Using an impeller, dry components are mixed, and the chopper, turning on when spraying a humidifier, ensures the formation of granules. By setting different chopper rotational speed, granules of different sizes

© Абросимова О. Н., Буракова М. А., 2021

© Abrosimova O. N., Burakova M. A., 2021

can be obtained. This granulator has the following advantages: it provides a high product yield ( $\geq 99\%$ ), takes up small workspaces, and the closed design ensures environmental protection.

**Aim.** The aim of the research is to scale the granulation process, on the example of the solids production technology, using the wet granulation stage – in a mixer-granulator with high shear force.

**Materials and methods.** Dry extract «N» and auxiliary substances were used as a pharmaceutical substance: lactose monohydrate, microcrystalline cellulose (MCC) (MICROCEL® MC-102), potato starch, povidone (Plasdone™ K-29/32), calcium stearate. Granulate under scaling conditions was produced in a mixer-granulator with high shear force. Technological properties of dry extract «N» and granulate were determined by the methods described in National pharmacopeia XIV.

**Results and discussion.** On the basis of experimental studies, it was found that the resulting granulate, both when obtained under laboratory conditions and under scaling conditions, has good flowability, and also has a homogeneous fractional composition. The presence of a grinder in the mixer-granulator made it possible to obtain a more uniform fractional composition of the granulate. A 10-fold increase in loading did not affect the composition of the granulate. When scaling the pelletizing process, a risk analysis was carried out, factors influencing the technological process were identified and structured. It turned out that the most important stages are mixing and the actual granulation. To obtain a homogeneous mixture, additional equipment was used – a mixer.

**Conclusion.** As a result of scaling up the granulation process, the parameters of wet granulation in the mixer-granulator (optimal loading, impeller and grinder rotation frequency), technological properties of the resulting granulate, and risks affecting the technological process were selected. were evaluated and a causal diagram (Ishikawa diagram) was drawn.

**Keywords:** transfer of technology, scaling, granulation in a mixer-granulator, granulate, Ishikawa diagram

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Marina A. Burakova, Olesya N. Abrosimova made the statement of the problem, implementation of the experiment, processing of obtained data, discussion of the results, and writing the text of the article.

**For citation:** Abrosimova O. N., Burakova M. A. Scaling of the granulation process in the conditions of GMP training center and assessment of possible risks. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):131–137. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-131-137>

## ВВЕДЕНИЕ

В технологии твердых лекарственных форм (ТЛФ) часто используют стадию влажного гранулирования. К наиболее сложному, с инженерной и технологической точки зрения, способу ее реализации можно отнести метод влажной грануляции в смесителе-грануляторе с высоким усилием сдвига. Смеситель-гранулятор имеет две мешалки, расположенные во взаимно перпендикулярных плоскостях. С помощью импеллера осуществляется смешивание сухих компонентов, а чоппер, включаясь при распылении увлажнителя, обеспечивает формирование гранулята. Задавая разную частоту вращения чоппера, можно получать гранулят разного размера [1]. Данный гранулятор имеет следующие преимущества: обеспечивает высокий выход продукта ( $\geq 99\%$ ), занимает небольшие рабочие пространства, а замкнутая конструкция обеспечивает защиту окружающей среды. При переувлажнении смеси происходит остановка технологического процесса за счет остановки импеллера.

*Трансфер технологии (передача технологии, technology transfer)* – логическая процедура, которая обеспечивает передачу какого-либо процесса вместе с документацией и профессиональной экспертизой от разработчика к производителю [2, 3].

Важной частью переноса технологии является масштабирование процесса, которое в основном определяется как увеличение объема серии от лабораторного до промышленного [4, 5].

Как в российской, так и в международной практике выделяют три последовательные основные фазы масштабирования, каждая из которых имеет свои задачи и свое обоснование [4, 6].

*Лабораторная фаза* – стадия, на которой в лабораторных условиях проводятся научные исследования по разработке метода производства (технологического процесса) лекарственного средства. Как правило, лабораторный масштаб серии составляет от 1/1000 до 1/100 от промышленного масштаба [4].

Для серий промежуточного масштаба, необходимых для клинических исследований, часто используют *пилотную фазу*, в ходе которой лекарственное средство производится при помощи процедуры, полностью представляющей и воспроизводящей процесс, используемый для промышленных серий. Обычно пилотный масштаб составляет 1/10 промышленной серии [4].

Для производства коммерческих (товарных) серий процесс масштабируется до окончательного промышленного объема (*промышленная фаза*). В некоторых случаях изменение технологического процесса от лабораторного масштаба к промышленному требует изменения состава и содержания вспомогательных веществ по сравнению с заявленными при регистрации значениями. Эти изменения могут влиять на качество лекарственных препаратов [4].

Таблетки и капсулы являются наиболее часто используемыми лекарственными формами (ЛФ) при лечении и профилактике различных заболеваний. Пред-

почтительными методами получения указанных ЛФ являются прямое прессование и капсулирование, предусматривающие только смешение активного фармацевтического ингредиента (АФИ) и вспомогательных веществ. Однако в технологическом процессе выпуска ТЛФ производители прибегают к стадии влажного гранулирования в силу таких причин, как высокое или низкое процентное содержание АФИ в ЛФ, сегрегация массы для таблетирования, плохая сыпучесть и/или прессуемость, высокая адгезия к прессующему инструменту [7]. Кроме того, метод влажного гранулирования позволяет свести содержание пылевой фракции к минимуму, что может снизить процент потерь [8, 9].

При разработке рецептуры и режимов гранулирования преимущественно учитывают: размер частиц гранулируемого материала, свойства связующего вещества (вязкость раствора, поверхностное натяжение) и его концентрацию в растворе, соотношение связующего вещества к гранулируемой массе и способ его введения, влияние скорости и длительности воздействия перемешивающих лопастей и чоппера.

Оснащение и мощность участка ТЛФ симуляционного GMP тренинг-центра Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (Россия) позволяет осуществить передачу технологии с лабораторной фазы на пилотное производство с масштабированием процесса.

**Цель.** Цель исследования – масштабирование процесса гранулирования на примере технологии производства ТЛФ с использованием стадии влажного гранулирования в смесителе-грануляторе с высоким усилием сдвига.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

Сухой экстракт «N» (Россия), лактоза моногидрат (CAS № 10039-26-6, Meelunie B.V., Нидерланды), микрористаллическая целлюлоза (МКЦ) (MICROCEL® MC-102) (CAS № 9004-34-6, Blanver Farmoquimica Ltda, Бразилия), крахмал картофельный (CAS № 65996-62-5, Lysckeyb Amylex, Чехия), повидон (Plasdone™ K-29/32) (CAS № 9003-39-8, Ashland Inc., США), стеарат кальция (х.ч., ООО «Реактив», Россия).

### Методы

#### 1. Получение гранулята в лабораторных условиях.

Сухой экстракт «N» и вспомогательные вещества просеивали через сито с размером ячеек 0,5 мм. Компоненты, входящие в состав гранулята, взвешивали на весах САРТОГОСМ СЕ 623-С (ООО «Сартогосм», Россия) с точностью 0,001 г, в лабораторном смесителе объемом 0,5 литра (Bosch GmbH, Германия) предварительно осуществляли смешение компонентов, а затем – влажное гранулирование. Смесь порошков увлажняли водой очищенной или спиртоводными растворами Plasdone™ K-29/32 различной концентрации. Расход

увлажнителя замеряли на весах САРТОГОСМ СЕ 623-С. Влажную массу гранулировали через сито с размером ячеек 2 мм, затем сушили до остаточной влажности 2 % в сушильном шкафу OF-12G (Jeio Tech, Корея) при температуре 50 °С. Высушенный гранулят калибровали через сито с размером ячеек 1 мм. Лубрикант (стеарат кальция) просеивали через сито с размером ячеек 0,25 мм. Гранулят перемешивали с лубрикантом в течение 5 минут. В лабораторных условиях получали 70,0 г гранулята.

#### 2. Получение гранулята в условиях масштабирования.

Сухой экстракт «N» и вспомогательные вещества просеивали через сито с размером ячеек 0,5 мм. Лактозу, МКЦ, сухой экстракт «N», крахмал картофельный взвешивали на весах Sartorius LA16001S (Sartorius, Германия) с точностью 0,1 г, затем перемешивали в смесителе объемом 3 литра U&M-HD50 Norper mixer (Chongqing Jinggong Pharmaceutical Machinery Co., Ltd., Китай) в течение 15 минут. Гранулирование проводили в смесителе-грануляторе с высоким усилием сдвига SMG3-6-1 (Chongqing Jinggong Pharmaceutical Machinery Co., Ltd., Китай) с объемом котла 3 литра. Смесь лактозы, МКЦ, крахмала картофельного и сухого экстракта увлажняли 5%-м раствором Plasdone™ K-29/32 при скорости работы импеллера 250–350 об/мин, при скорости чоппера 1500–2000 об/мин. Увлажнитель подавали через загрузочную воронку в емкость гранулятора. Влажный гранулят пропускали через конический калибратор ZLJ-125 (Chongqing Jinggong Pharmaceutical Machinery Co., Ltd., Китай) с ячейками квадратной формы 6 × 6 мм. Влажный гранулят сушили в сушильном шкафу с принудительной конвекцией OF-12G при температуре в слое 50 °С до остаточной влажности 2 %. Высушенный гранулят пропускали через конический калибратор ZLJ-125 с круглыми ячейками диаметром 1 мм. Перемешивали гранулят со стеаратом кальция в смесителе U&M-HD50 Norper mixer в течение 5 мин. При масштабировании получено 700,0 г гранулята.

#### 3. Исследование технологических свойств сухого экстракта «N» и гранулята.

Технологические свойства сухого экстракта «N» и гранулята: фракционный состав – ситовой анализ [электромагнитный ситовой шейкер RP 200N (CISA, Испания)], степень сыпучести и угол естественного откоса [тестер сыпучести ERWEKA GT D-63150 (ERWEKA GmbH, Германия)], насыпная плотность [тестер насыпной плотности ERWEKA SVM 221 (ERWEKA GmbH, Германия)], прессуемость [тестер твердости таблеток ERWEKA TBH 125 TDP (ERWEKA GmbH, Германия)], остаточная влажность [анализатор влажности MA-45 (Sartorius, Германия)] – определяли по методикам, описанным в ГФ XIV [10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью теоретического обоснования состава гранулята были изучены технологические свойства АФИ – сухого экстракта «N», результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Технологические свойства сухого экстракта «N»

Table 1. Technological properties of dry extract «N»

Показатель качества Level of quality		Сухой экстракт «N» Dry extract "N"	
Описание Description		Аморфный порошок коричневого цвета со сладким запахом, гигроскопичный Amorphous brown powder with a sweet odor, hygroscopic	
Остаточная влажность, % Residual moisture, %		4,67 ± 0,23	
Сыпучесть, с/100 г (насадка 2) Looseness, s/100 g (nozzle 2)		20,5 ± 2,3 с перемешиванием with stirring	
Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup> Bulk density, g/cm <sup>3</sup>	ρ <sub>0</sub>	0,33 ± 0,02	
	ρ <sub>1250</sub>	0,49 ± 0,02	
Коэффициент прессуемости (индекс Карра) Compression ratio (Carr index)		18 средняя average	
Угол естественного откоса, ° Angle of repose, °		50–55 неудовлетворительная сыпучесть unsatisfactory flowability	
Фракционный состав, % Fractional composition, %			
Размер The size	> 1 мм > 1 mm	6,00 ± 0,30	
	1...0,710 мм 1...0,710 mm	6,40 ± 0,32	
	0,710...0,500 мм 0,710...0,500 mm	5,55 ± 0,28	
	0,500...0,355 мм 0,500...0,355 mm	74,85 ± 3,74	
	< 0,355 мм < 0,355 mm	7,20 ± 0,36	

По результатам исследования технологических свойств установлено, что сухой экстракт «N» имеет среднюю прессуемость. При изучении сухого экстракта был определен угол естественного откоса (50–55°), что свидетельствует о неудовлетворительной сыпучести порошка, поэтому тест проводили при дополнительном перемешивании во время открытия воронки.

Для улучшения сыпучести и снижения гигроскопичности гранулируемого материала [11] использовали такие наполнители, как лактоза моногидрат [11] и МКЦ (MICROCEL® MC-102).

В качестве связующего вещества был выбран 5%-й раствор Plasdone™ K-29/32 (повидон). Преимуществами использования Plasdone™ K-29/32 является легкая растворимость в воде и спирте, а также способность улучшать растворение и биодоступность лекарственных веществ за счет образования водорастворимых комплексов [12].

Так как сухой экстракт «N» плохо растворим в воде, то необходимо введение в состав гранулята дезинтегрантов. В качестве дезинтегранта использовали крахмал картофельный. В таблице 2 приведен состав гранулята и фактическое количество АФИ и вспомогательных веществ на загрузку.

Таблица 2. Состав гранулята

Table 2. Granulate composition

№	Компонент Component	Количество на загрузку в лабораторных условиях, г Quantity per load in laboratory conditions, g	Фактическое количество на загрузку, г Actual amount per load, g
1	Сухой экстракт «N» Dry extract «N»	3,5	35,0
2	Лактозы моногидрат Lactose monohydrate	42,0	420,0
3	Микрокристаллическая целлюлоза MICROCEL® MC-102 Microcrystalline cellulose MICROCEL® MC-102	20,3	203,0
4	Крахмал картофельный Potato starch	3,5	35,0
5	Стеарат кальция Calcium stearate	0,7	7,0
Итого: Total		70,0	700,0

Расход 5%-го раствора Plasdone™ K-29/32 в условиях масштабирования составил 250,0, а в лабораторных – 25,0.

Мэппинг (визуализация) процесса гранулирования представлена на рисунке 1.

Технологические свойства гранулята, полученного в лабораторных условиях и при масштабировании, представлены в таблице 3.

На основании проведенных экспериментальных исследований установлено, что полученный гранулят в условиях масштабирования обладает хорошей сыпучестью. В ходе технологического процесса скорость вращения чоппера постепенно увеличивали (1500–1600–1700–1800–1900–2000 об/мин), что позволило получить более однородный фракционный состав гранулята. Увеличение загрузки в 10 раз не повлияло на состав гранулята. Полученный гранулят является полупродуктом для ТЛФ.

При масштабировании процесса гранулирования был проведен анализ рисков, определены и структурированы параметры, влияющие на технологический процесс, что является важной частью процесса трансфера технологии, а также основополагающей фазой предстоящей валидации оборудования и технологического процесса. Результаты представлены в виде диаграммы Исикавы (рисунок 2).

На основании диаграммы Исикавы можно сделать следующие выводы.

При получении гранулята наиболее важными являются стадии:

- 1) смешения (время, скорость, порядок введение компонентов в смесь), поэтому при масштабировании процесса гранулирования была задействована дополнительная единица оборудования – смеситель U&M-HD50 Hopper mixer;



Рисунок 1. Маппинг процесса гранулирования



Figure 1. The granulation process mapping

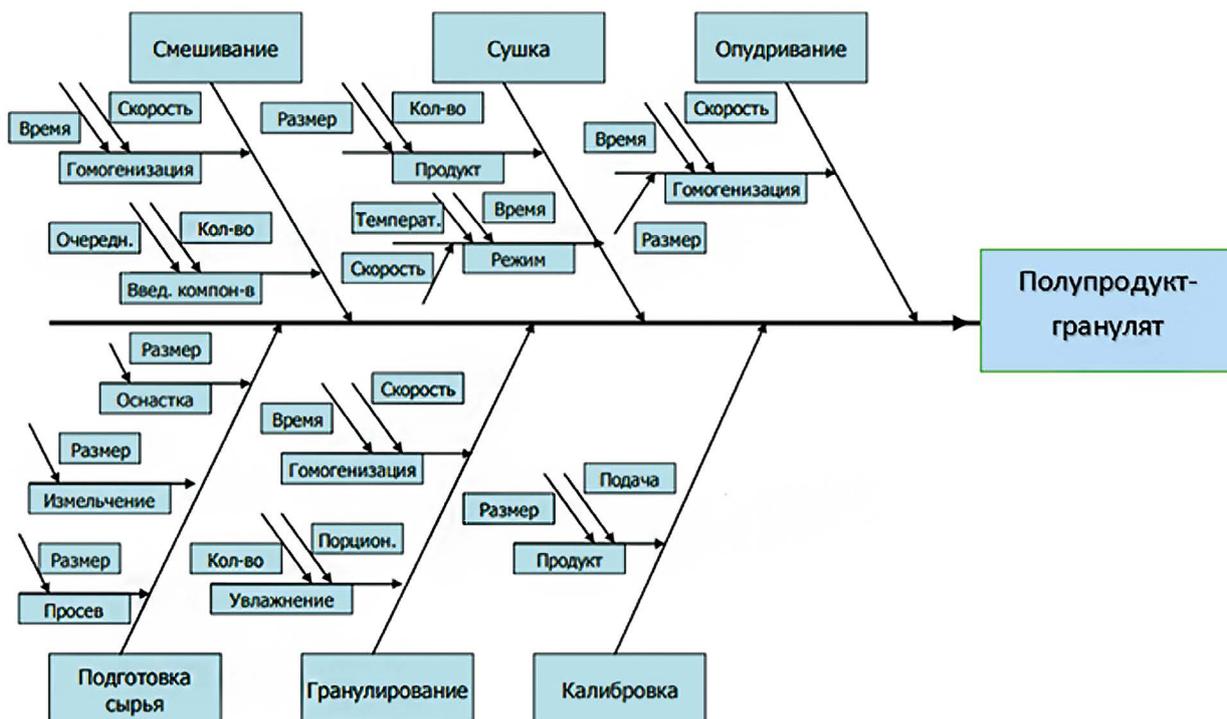


Рисунок 2. Диаграмма Исикавы процесса гранулирования

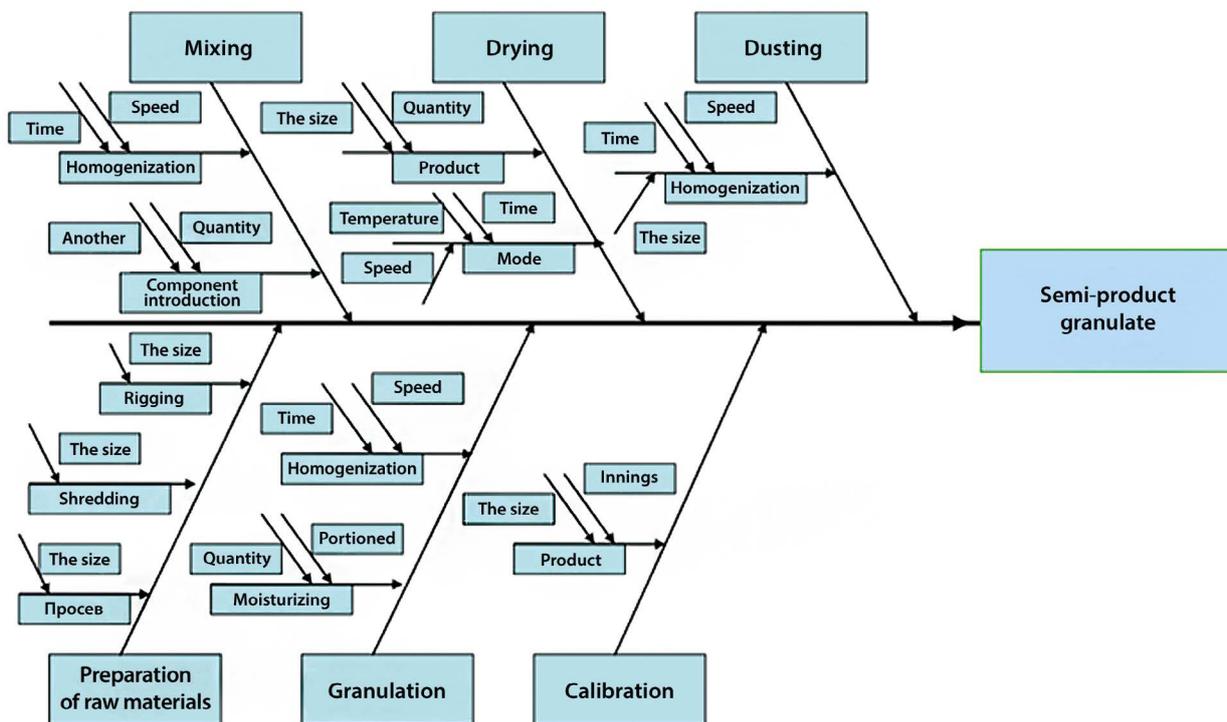


Figure 2. Ishikawa diagram of the granulation process

2) непосредственно гранулирование (время гранулирования, скорость вращения импеллера и чоппера). Однородность фракционного состава гранулята напрямую зависит от скорости вращения чоппера.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате масштабирования процесса гранулирования подобраны параметры проведения влажного гранулирования в смесителе-грануляторе (оп-

тимальная загрузка, скорость импеллера, чоппера), оценены технологические свойства полученного гранулята, проведен анализ рисков, влияющих на технологический процесс и составлена причинно-следственная диаграмма (диаграмма Исикавы).

**Таблица 3. Технологические свойства гранулята**

**Table 3. Technological properties of granulate**

Показатель качества Level of quality		Результаты Results	
		в лабораторных условиях in laboratory conditions	в условиях масштабирования in terms of scaling
Остаточная влажность, % Residual moisture, %		2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Сыпучесть, с/100 г Looseness, s/100 g		3,20 ± 0,16	2,80 ± 0,14
Угол естественного откоса, ° Angle of repose, °		36–45 (удовлетворительная) (satisfactory)	31–35 (хорошая) (good)
Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup> Bulk density, g/cm <sup>3</sup>	ρ <sub>0</sub>	0,59 ± 0,03	0,61 ± 0,03
	ρ <sub>1250</sub>	0,72 ± 0,04	0,75 ± 0,04
Коэффициент прессуемости (индекс Карра) Compression ratio (Carr index)		22,00	24,00
Фракционный состав, % Fractional composition, %	> 1 мм > 1 mm	25,00 ± 1,25	10,85 ± 0,54
	1...0,710 мм 1...0,710 mm	30,18 ± 1,51	71,10 ± 3,56
	0,710...0,500 мм 0,710...0,500 mm	24,59 ± 1,23	10,52 ± 0,53
	0,500...0,355 мм 0,500...0,355 mm	16,00 ± 0,80	5,30 ± 0,27
	< 0,355 мм < 0,355 mm	4,23 ± 0,21	2,23 ± 0,11

## ЛИТЕРАТУРА

1. Могилук В. Смесители-грануляторы с высоким усилием сдвига в производстве твердых лекарственных форм, разработке и масштабировании. *Фармацевтическая отрасль*. 2015;2(49):30–35.
2. Резцов Е., Могилук В., Рябко Д. Трансфер технологий в фармацевтической отрасли. *Фармацевтическая отрасль*. 2010;2(19):49–52.
3. Рудько А. И., Коников Д. Л., Сидоров К. О., Ильинова Ю. Г. Ставка на трансфер: развитие регуляторной базы для развития фармацевтической промышленности. *Фармация*. 2020;69(7):5–9. DOI: 10.29296/25419218-2020-07-01.
4. Береговых В. В., Спицкий О. Р. Перенос технологий при создании производства лекарственного средства. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;68(12):49–57.
5. Власенко Ю. В. Проектно-ориентированный подход к разработке готовых лекарственных средств на примере дженерикового многокомпонентного препарата, содержащего амоксициллин и клавулановую кислоту. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;(1):30–36.
6. Демина Н. Б. Фармацевтическая разработка: обзор оборудования для лабораторной разработки и наработки опытных партий твердых лекарственных форм. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;(1):38–46.

7. Филиппова Н. И., Вайнштейн В. А., Грецков П. С. Влияние состава и технологии гранулирования на высвобождение лекарственного вещества из таблеток на примере парацетамола. *Актуальные проблемы медицины*. 2018;41(1):133–144. DOI: 10.18413/2075-4728-2018-41-1-133-144.
8. Shanmugam S. Granulation techniques and technologies: recent progresses. *Biopacts*. 2015;5(1):55–63. DOI: 10.15171/bi.2015.04.
9. Блынская Е. В., Юдина Д. В., Алексеев К. В., Алексеев В. К., Минаев С. В. Сравнительное изучение прессуемости таблеточных смесей ГМЛ-1, полученных технологией влажного гранулирования. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2019;3:49–54.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacoepa.php>. Ссылка активна на 25.05.2021.
11. Новикова Е. К., Чачин Д. А., Каухова И. Е., Минина С. А. Разработка и стандартизация гранул в твердых желатиновых капсулах на основе композиции сухих экстрактов череды трехзельной травы, золотарника канадского травы, репешка обыкновенного травы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(4):44–48.
12. Егошина Ю. А., Поцелуева Л. А. Современные вспомогательные вещества в таблеточном производстве. *Успехи современного естествознания*. 2009;10:30–33.

## REFERENCES

1. Mogilyuk V. *Smesiteli-granulyatory s vysokim usiliem sdviga v proizvodstve tverdykh lekarstvennykh form, razrabotke i masshtabirovani*. [High shear mixer granulators in solid dosage formulation, design and scale-up]. *Farmatsevticheskaya otrasl' = Pharmaceutical industry*. 2015;2(49):30–35. (In Russ.)
2. Reztsov E., Mogilyuk V., Ryabko D. *Transfer tekhnologiy v farmatsevticheskoy otrasli* [Technology transfer in the pharmaceutical industry]. *Farmatsevticheskaya otrasl' = Pharmaceutical industry*. 2010;2(19):49–52. (In Russ.)
3. Rudko A. I., Konikov D. L., Sidorov K. O., Ilyinova Ju. G. Stake on transfer: evolution of a regulatory framework for the development of the pharmaceutical industry. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2020;69(7):5–9. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2020-07-01.
4. Beregovykh V. V., Spitskiy O. R. Technology Transfer to the Facility for Production of Medicines. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2013; 68(12):49–57. (In Russ.)
5. Vlasenko Yu. V. Project-oriented approach to finished pharma product development in the context of generic polycomponent drug containing amoxicillin and clavulanic acid. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2016;(1):30–36. (In Russ.)
6. Diomina N. B. Pharmaceutical development: review of equipment for laboratory development and pilot batches production of solid dosage forms. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2016;(1):38–46. (In Russ.)
7. Filippova N. I., Vainshtein V. A., Gretskov P. S. Formulation and technology influence on release rate of drug from tablets in case of paracetamol. *Aktual'nye problemy meditsiny = Challenges in modern medicine*. 2018;41(1):133–144. (In Russ.) DOI: 10.18413/2075-4728-2018-41-1-133-144.
8. Shanmugam S. Granulation techniques and technologies: recent progresses. *Biopacts*. 2015;5(1):55–63. DOI: 10.15171/bi.2015.04.
9. Blynskaya E. V., Yudina D. V., Alekseyev K. V., Alekseyev V. K., Minaev S. V. Comparative compressibility study of tablet GML-1 mixtures obtained by wet granulation technology. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal = Volgograd Journal of Medical Scientific Research*. 2019;3:49–54. (In Russ.)
10. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdanie [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. Moscow: Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii. 2018. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacoepa.php>. Accessed: 25.05.2021. (In Russ.)
11. Novikova E. K., Chachin D. A., Kaukhova I. E., Minina S. A. Development and standardization of granules in hard gelatin capsules based on the composition of dry extracts of Bidens Tripartita, Solidago Canadensis L. and Agrimonia Eupatoria herbs. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2018;(4):44–48. (In Russ.)
12. Egochina Yu. A., Potselueva L. A. Modern tablet excipients. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2009;10:30–33. (In Russ.)



Обзорная статья / Review article

## Порядок пересмотра проведения фармацевтических инспекций в Евразийском экономическом союзе (обзор)

А. П. Мешковский<sup>1</sup>, В. В. Береговых<sup>1</sup>, В. Н. Шестаков<sup>2</sup>, Н. В. Пятигорская<sup>1</sup>,  
Ж. И. Аладышева<sup>1</sup>, Н. С. Николенко<sup>1\*</sup>, А. М. Пятигорский<sup>1</sup>, Е. И. Нестеркина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

<sup>2</sup> ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП») Минпромторга России, 109044, Россия, г. Москва, Лавров пер., д. 6

\***Контактное лицо:** Николенко Наталья Сергеевна. **E-mail:** [ivashechckova@yandex.ru](mailto:ivashechckova@yandex.ru)

**ORCID:** А. П. Мешковский – <http://orcid.org/0000-0002-6016-3237>; В. В. Береговых – <http://orcid.org/0000-0002-0210-4570>; В. Н. Шестаков – <http://orcid.org/0000-0002-6507-7530>;  
Н. В. Пятигорская – <http://orcid.org/0000-0003-4901-4625>; Ж. И. Аладышева – <http://orcid.org/0000-0002-2441-3542>; Н. С. Николенко – <http://orcid.org/0000-0001-5567-8570>;  
А. М. Пятигорский – <https://orcid.org/0000-0001-6671-5832>; Е. И. Нестеркина – <https://orcid.org/0000-0003-4102-4394>.

Статья поступила: 15.06.2021

Статья принята в печать: 19.07.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В статье рассматриваются существенные изменения в порядке проведения фармацевтического инспектирования производителей ЛС на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики (GMP) Евразийского экономического союза (ЕАЭС), связанные с ограничениями из-за пандемии COVID-19.

**Текст.** В статье приведены основные международные руководства, описывающие удаленное проведение фармацевтических инспекций, что является обоснованием для дальнейшей актуализации соответствующих процедур в праве ЕАЭС. Приведен обзор зарубежной практики фармацевтического инспектирования в период пандемии. Кроме того, приведено изменение российских регуляторных подходов к проведению контроля и надзора в российском законодательстве.

**Заключение.** Приведенные данные дают представление, что существует необходимость дальнейшего сближения требований, практики проведения фармацевтического инспектирования на соответствие требованиям Правил GMP с целью гармонизации норм между российскими регуляторными документами, нормами права ЕАЭС и мировыми стандартами. Для этого необходимо развитие диалога с участием заинтересованных сторон.

**Ключевые слова:** надлежащая производственная практика, Правила GMP, лекарственные средства, инспектирование производителей лекарственных средств, фармацевтическая промышленность

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Все авторы в равной степени принимали участие в подборе и анализе материалов, обсуждении результатов и написании текста статьи. А. П. Мешковский, В. В. Береговых, Н. В. Пятигорская, В. Н. Шестаков, Ж. И. Аладышева осуществили написание текста рукописи.

**Для цитирования:** Мешковский А. П., Береговых В. В., Шестаков В. Н., Пятигорская Н. В., Аладышева Ж. И., Николенко Н. С., Пятигорский А. М., Нестеркина Е. И. Порядок пересмотра проведения фармацевтических инспекций в Евразийском экономическом союзе. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):138–146. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-138-146>

## Procedure for Reviewing Pharmaceutical Inspections in the Eurasian Economic Union (Review)

Andrei P. Meshkovskiy<sup>1</sup>, Valery V. Beregovykh<sup>1</sup>, Vladislav N. Shestakov<sup>2</sup>,  
Natalia V. Pyatigorskaya<sup>1</sup>, Zhanna I. Aladyшева<sup>1</sup>, Natalia S. Nikolenko<sup>1\*</sup>,  
Alexander M. Pyatigorskiy<sup>1</sup>, Ekaterina I. Nesterkina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

<sup>2</sup> State Institute of Drugs and Good Practices, 6, Lavrov lane, Moscow, 109044, Russia

\***Corresponding author:** Natalia S. Nikolenko. **E-mail:** [ivashechckova@yandex.ru](mailto:ivashechckova@yandex.ru)

**ORCID:** Andrei P. Meshkovskiy – <http://orcid.org/0000-0002-6016-3237>; Valery V. Beregovykh – <http://orcid.org/0000-0002-0210-4570>;  
Vladislav N. Shestakov – <http://orcid.org/0000-0002-6507-7530>; Natalia V. Pyatigorskaya – <http://orcid.org/0000-0003-4901-4625>;  
Zhanna I. Aladyшева – <http://orcid.org/0000-0002-2441-3542>; Natalia S. Nikolenko – <http://orcid.org/0000-0001-5567-8570>;  
Alexander M. Pyatigorskiy – <https://orcid.org/0000-0001-6671-5832>; Ekaterina I. Nesterkina – <https://orcid.org/0000-0003-4102-4394>.

Received: 15.06.2021

Revised: 19.07.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** The article discusses significant changes in the procedure for pharmaceutical inspection of drug manufacturers for compliance with the requirements of the rules of good manufacturing practice (GMP) of the Eurasian Economic Union (EAEU), related to restrictions due to the COVID-19 pandemic.

© Мешковский А. П., Береговых В. В., Шестаков В. Н., Пятигорская Н. В., Аладышева Ж. И., Николенко Н. С., Пятигорский А. М., Нестеркина Е. И., 2021

© Meshkovskiy A. P., Beregovykh V. V., Shestakov V. N., Pyatigorskaya N. V., Aladyшева Z. I., Nikolenko N. S., Pyatigorskiy A. M., Nesterkina E. I., 2021

**Text.** The article presents the main international guidelines describing the remote conduct of pharmaceutical inspections, which is the basis for further updating the relevant procedures in the law of the EAEU. An overview of the foreign practice of pharmaceutical inspection during the pandemic is given. In addition, the changes in the Russian regulatory approaches to control and supervision in the Russian legislation are presented.

**Conclusion.** These data give an idea that, with considering the above, there is a need for further convergence of the requirements, the practice of conducting pharmaceutical inspections for compliance with the requirements of GMP Rules in order to harmonize the norms between Russian regulatory documents, the norms of the EAEU law and international standards. This requires the development of a dialogue with the participation of stakeholders.

**Keywords:** good manufacturing practice, GMP rules, medicines, inspection of medicines manufacturers, drug industry

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** All authors equally participated in the selection and analysis of materials, discussion of the results and writing the text. Andrei P. Meshkovskiy, Valery V. Beregovykh, Natalia V. Pyatigorskaya, Vladislav N. Shestakov, Zhanna I. Aladysheva writing the text of the article.

**For citation:** Meshkovskiy A. P., Beregovykh V. V., Shestakov V. N., Pyatigorskaya N. V., Aladysheva Z. I., Nikolenko N. S., Pyatigorskiy A. M., Nesterkina E. I. Procedure for reviewing pharmaceutical inspections in the Eurasian Economic Union. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):138–146. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-138-146>

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проведение фармацевтических инспекций на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики (GMP) Евразийского экономического союза (ЕАЭС) с выездом на производственную площадку ЛС имеют ряд ограничений из-за ситуации, связанной с пандемией COVID-19. Данное чрезвычайное обстоятельство внесло существенные изменения в порядок фармацевтического инспектирования производителей ЛС.

В декабре 2020 г. в рабочую группу по формированию общих подходов к регулированию обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС поступил проект внесения изменений в Решение Совета ЕЭК от 3 ноября 2016 г. № 83 «Об утверждении правил проведения фармацевтических инспекций» в части пересмотра порядка фармацевтического инспектирования (далее – Проект). В настоящее время данный Проект находится в стадии рассмотрения, но в целом пересмотр правил проведения фармацевтического инспектирования уже начался.

В соответствии с Решением Совета ЕЭК от 8 февраля 2021 г. № 7 «О внесении изменений в Правила проведения фармацевтических инспекций» в условиях чрезвычайной ситуации теперь допускается использование средств дистанционного взаимодействия, например, посредством аудио- или видеосвязи. Важность этой поправки в условиях пандемии представляется очевидной. Такие меры используются в практике стран со строгими регуляторными требованиями в фармацевтическом секторе. В частности, об этом сообщалось в ходе V Всероссийской GMP-конференции с международным участием, организованной Минпромторгом России совместно с ФБУ «ГИЛС и НП» Минпромторга России, проведенной с 30.09.2020 г. по 01.10.2020 г. в г. Москве.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Удаленный формат фармацевтических инспекций в условиях пандемии

Подход к инспектированию на соответствие требованиям GxP, основанный на дистанционном взаимодействии, рекомендован ВОЗ еще в 2018 г. [1]. В конце 2020 г. Европейским агентством по медикаментам (EMA) было издано «Руководство по удаленному инспектированию на соответствие руководящим принципам GMP/GDP», в котором были сформулированы правила проведения этого вида инспектирования для регуляторов государств-членов Евросоюза [2]. Руководство EMA дает следующее определение термина «удаленное инспектирование» (distant assessment) – это «оценка соблюдения на площадке принципов GMP или GDP ЕС на основе документации и бесед с работниками, с использованием технологии коммуникаций, позволяющей доступ к системам, обзор документации и другой информации без физического присутствия инспекторов на площадке, на которой выполняются подлежащие инспектированию действия, и на которой в обычных условиях инспекторы должны были бы находиться» [2].

В Руководстве EMA отмечается, что в кризисных ситуациях, таких как пандемия COVID-19, инспектирование в традиционной форме выезда на предприятия может оказаться затруднительным из-за различных ограничений [2]. Однако обязательства производителей ЛС и дистрибьюторов в части соблюдения Правил GMP и GDP остаются неизменными. В этих условиях может использоваться удаленное инспектирование. В документе подчеркивается, что этот подход не должен использоваться в условиях, выходящих за пределы кризисных ситуаций. После проведения удаленных

инспекций следует проводить инспекции с посещением предприятий, когда будут сняты ограничения на поездки, связанные с рисками для здоровья, и другие законодательные ограничения. При этом интервал между плановыми инспекциями следует увеличить с учетом рисков для качества.

На этапе планирования удаленной инспекции следует убедиться в наличии на площадке необходимых ресурсов и возможностей информационной технологии, позволяющих передавать электронные документы большого объема, проводить видеоконференции с работниками предприятия, проводить осмотр с помощью видеосвязи помещений и оборудования, а также наблюдать за выполнением операций на производственной площадке.

В зависимости от обстоятельств удаленное инспектирование производства ЛС может сочетаться с сокращенной выездной инспекцией. При этом проверка помещений, оборудования и операций непосредственно на площадке и удаленная оценка должны рассматриваться как части одной инспекции и оформляться одним инспекционным отчетом. Соответственно результаты проверки должны отражаться в едином документе, например в GMP-сертификате.

Продолжительность удаленной инспекции может быть более длительной по сравнению с выездной инспекцией из-за возможных проблем, связанных, например, с коммуникацией, часовым поясом и местонахождением инспекторов.

Подготовка и проведение удаленной инспекции в целом должны соответствовать утвержденному порядку с учетом особенностей этого вида проверки. Перед началом инспекции рекомендуется проверить функциональность коммуникационной платформы. В ходе вступительного совещания следует уточнить детали использования информационной технологии. Для облегчения процесса инспекции целесообразно заранее подготовить планы производственной площадки и ее частей, схемы технологических процессов, другие чертежи и рисунки. При подведении итогов каждого рабочего дня инспекции, желательно информировать руководство предприятия о документации, намеченной к проверке на следующий день.

В инспекционном отчете необходимо указать, что инспекция проводилась дистанционно. Если при этом проверка соблюдения отдельных элементов Правил GMP осуществлялась с посещением площадки, это также должно быть отражено в отчете.

Российский фармацевтический инспекторат (ФБУ «ГИЛС и НП» Минпромторга России) в период пандемии COVID-19 один из первых начал проводить инспекции с использованием дистанционных технологий. По итогам 2020 г. было проведено более 300 удаленных инспекций, что позволило не допустить дефицита ЛС в России [3].

28 апреля 2021 г. состоялся глобальный саммит ISPE (англ. *The International Society for Pharmaceutical Engineering*, Международная ассоциация фармацев-

тического инжиниринга) по фармацевтическому регулированию, в котором приняли участие представители регуляторных агентств из разных стран мира [FDA (США), EMA (Евросоюз), MHRA (Великобритания), AEMPS (Испания), AIFA (Италия), ФБУ «ГИЛС и НП» (Россия) и другие], с целью обмена опытом проведения дистанционных инспекций и обсуждения изменений в национальных системах регулирования, которые были приняты в разных странах в период пандемии [4].

### **Изменение порядка фармацевтического инспектирования в ЕАЭС**

С учетом развития международной практики фармацевтического инспектирования представляется очевидной необходимость дальнейшей актуализации соответствующих процедур в праве ЕАЭС.

Отраслевые ассоциации фармацевтических производителей представили предложения по изменению порядка проведения фармацевтических инспекций в ЕАЭС. На наш взгляд, наиболее интересными и обоснованными представляются следующие предложения:

- ✓ Указать принципы определения частоты инспекций на основе риск-ориентированного подхода.
- ✓ Разработать отдельное приложение к документу по риск-ориентированному подходу, критериям принятия решений при проведении инспектирования.
- ✓ Установить единые требования к квалификации инспекторов на уровне не ниже требований к уполномоченному лицу производителя ЛС для медицинского применения.
- ✓ Разработать аналогичные требования в отношении проведения инспекций на соответствие требованиям другим правилам GxP.

К данным предложениям можно было бы добавить уточнение в части классификации видов инспекций, предусмотрев такие виды, как полная, сокращенная, предрегистрационная, без предварительного уведомления, по конкретным причинам, препарат-специфическая, удаленная, инспекция систем качества и т. п. При этом представляется важным уточнить различия между предрегистрационной инспекцией (англ. *pre-approval inspection*, PAI) и внеплановой инспекцией, инициированной в рамках регистрационной процедуры. В первом случае инспекция начинается после получения заявки на регистрацию ЛС и ознакомления с ней. Это позволяет инспекторам не только проверить соответствие содержания регистрационного досье на ЛП фактическим условиям производства, но также прояснить вопросы, возникшие у экспертов в ходе изучения досье в части описания технологических процессов.

Вопрос оценки степени функциональности фармацевтических инспекторатов отдельных государств-членов ЕАЭС заслуживает внимания, по мнению Ассоциации Российских фармацевтических

производителей (АРФП), представленному в комментариях к Проекту поправок. В комментируемом тексте Проекта содержатся ссылки не только на общие нормативные акты ЕАЭС, но также на процедуры, установленные системой качества национального фармацевтического инспектората государства-члена ЕАЭС. Последнее создает условия для различных толкований актов ЕАЭС и может затруднить применение единообразных требований к предприятиям фармацевтической отрасли.

Объективная оценка функциональности отраслевых инспекционных служб, напрямую укрепляющая экспортный потенциал национальной фармацевтической промышленности, осуществляется в рамках механизмов международного сотрудничества между правительственными структурами. В части фармацевтического инспектирования на соответствие требованиям Правил GMP важнейшим инструментом этого плана является наличие соглашений о взаимном признании результатов инспектирования между государствами-членами Евросоюза. Ряд стран (Швейцария, Канада, Австралия, Япония, Израиль, США) заключили с ЕС данные соглашения [5]. Аналогичное соглашение подписано с Великобританией после ее выхода из Евросоюза. В настоящее время с учетом непростой международной обстановки заключение аналогичных соглашений между ЕС и Россией (и другими государствами-членами ЕАЭС) маловероятно. Следует отметить, что между государствами ЕАЭС реализована процедура взаимного признания результатов инспектирования производства ЛС [6].

Существует иной механизм оценки и признания статуса фармацевтических инспекторов по GMP – вступление страны в PIC/S [англ. *Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)* – Схема сотрудничества фармацевтических инспекций]. Как известно, членство в PIC/S не гарантирует признания результатов инспектирования, однако содействует заключению межправительственных соглашений о взаимном признании. Государства-члены ЕАЭС, за исключением Кыргызстана, находятся в процессе присоединения к PIC/S. В силу этого создаются условия для внешней оценки соответствия деятельности инспекторов вступающих стран международным нормам и правилам, поскольку положительный результат такой оценки является непременным условием вступления в PIC/S.

Также можно рассмотреть альтернативные подходы, например самооценку. Напомним, что в 2014 г. Всемирная ассамблея здравоохранения (ВАЗ) – высший руководящий орган ВОЗ – призвала государства-члены и, в соответствующих случаях, организации региональной экономической интеграции укреплять национальные регуляторные системы, в первую очередь путем самооценки для выявления сильных сторон и возможностей улучшения их функционирования (Резолюция ВА367.20) [7]. В этих целях рекомендуется использовать разработанную ВОЗ сис-

тему показателей, входящую в проект ВОЗ по бенчмаркингу, т. е. по сопоставлению уровня развития («зрелости») национальных регуляторных систем фармацевтического сектора [8]. Проект включает анализ деятельности отдельных компонентов системы [регистрация лекарственных препаратов (ЛП), лицензирование и инспектирование операторов рынка и т. п.]. При его разработке использованы, среди прочего, положения международных стандартов ИСО, в частности ИСО 9001:2015 [9] и ИСО 9004:2018 [10].

Предложения и комментарии ассоциаций направлены на сближение порядка исполнения функции фармацевтического инспектирования в государствах-членах ЕАЭС с нормативами Евросоюза и правилами PIC/S. С учетом вышеописанного, их актуальность представляется достаточно высокой.

### **Зарубежная практика фармацевтического инспектирования в период пандемии**

Считаем важным сначала изложить предположения о зарубежной регуляторной практике в сфере Правил GMP.

Предварительно уточним актуальную информацию о PIC/S, подтверждающую обоснованность курса государств-членов ЕАЭС, на присоединение к этому механизму международного сотрудничества.

Участники PIC/S и кандидаты на вступление представляют все регионы мира (в настоящее время 54 регуляторных органа от 50 стран), что позволяет рассматривать ее как глобальную организацию. В начале марта 2021 г. был утвержден план работы PIC/S на текущий год [11]. Существенным разделом плана является график оценки уполномоченных органов, подавших заявки на вступление в PIC/S.

Работа по вступлению России в эту организацию ведется с 2017 г. В 2019 г. была одобрена предварительная заявка, в декабре 2020 г. была подана основная заявка от России на вступление в PIC/S, которая была предварительно одобрена. 21 апреля 2021 г. на заседании комитета должностных лиц PIC/S было принято решение о назначении инспекторской группы для изучения заявки на присоединение к PIC/S и предоставления заключения о возможности России стать полноправной участницей международного профессионального объединения [12]. Выездная проверка, т. е. визит в Россию предусматривается в 2022 г.

С 1 мая 2021 г. вступило в силу пересмотренное Руководство по GMP PIC/S, в котором было внесено изменение в Приложение 2. Новая редакция руководства PIC/S содержит разделы 2А и 2В. В «Приложении 2А» определены требования PIC/S по GMP для производства продуктов клеточной и генной терапии. В «Приложении 2В» определены требования PIC/S по GMP по биологическим лекарственным субстанциям и продуктам [13].

Запланирован пересмотр Руководства по GMP PIC/S по разделам главы 1 и 4 – «Фармацевтическая

система качества» и «Документация» соответственно, Приложение № 1 «Стерильные лекарственные средства», Приложение № 11 «Компьютеризированные системы» и др.

Отдельные элементы Руководства по GMP Евросоюза планируется перенести без изменений в норматив PIC/S. В первую очередь это касается Приложений № 13 «Производство лекарственных средств для исследований» и № 16 «Сертификация Уполномоченным лицом и выпуск серии».

Запланировано продолжить работу по актуализации широкого круга инструктивно-методических материалов по таким темам, как квалификация и валидация, целостность данных, управление рисками для качества, методика инспектирования и др.

Предусматривается расширение сферы деятельности PIC/S в сторону инспектирования по Надлежащей клинической практике (GCP) и по Надлежащей практике фармаконадзора (GVP). В связи с этим планируется активизация сотрудничества с другими международными организациями и структурами: ВОЗ, ЕМА, Международной коалицией регуляторов по лекарственным средствам (ICMRA) и др.

Говоря о зарубежной практике инспектирования по GMP, следует напомнить о некоторых послаблениях в части соблюдения требований Правил GMP, допущенных в странах Евросоюза в связи с пандемией COVID-19.

В первую очередь речь идет о признании допустимой дистанционную (удаленную) сертификацию серий уполномоченным лицом (УЛ) производителя ЛС, т. е. без обязательного присутствия УЛ на производстве. Инициатором данного нововведения выступило британское Агентство по контролю за лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения (MHRA). В феврале 2020 г. регулятор этой страны высказал мнение о том, что в Соединенном Королевстве Великобритании и Северной Ирландии нет обоснованных в правовом отношении требований, согласно которым УЛ должно физически находиться на производственной площадке в момент сертификации конкретных серий ЛС. Отсюда следовал вывод о возможности создания на предприятии системы, позволяющей удаленную сертификацию при соблюдении ряда условий. К таковым было отнесено наличие у УЛ полной информации по каждой контролируемой серии, его периодическое присутствие на предприятии и участие в управлении системой качества, а также отражение порядка удаленной сертификации во внутренних документах предприятия. Позже аналогичную позицию занял ирландский регулятор.

В марте 2020 г. Европейская ассоциация уполномоченных лиц (EQPA) провела анкетирование среди своих членов для выяснения позиции регуляторных органов по этому вопросу в странах Евросоюза и некоторых других государствах, например в Швейцарии. Результаты опроса, в котором участвовало око-

ло 300 УЛ, выявили отсутствие гармонизации в этом элементе Правил GMP [14]. В большинстве стран, охваченных анкетированием, специалисты отрасли не имели представления о позиции соответствующих регуляторных органов по данной проблеме. В ряде стран имелись либо регуляторные документы, препятствующие удаленной сертификации, либо существующие нормативы интерпретировались таким образом, чтобы не допускать подобной практики. Такая ситуация отмечалась во Франции, в Норвегии, Польше, Словакии, Хорватии, Латвии. В некоторых государствах, напротив, удаленная сертификация допускалась (Финляндия, Греция, Кипр, Мальта).

Очевидно, с учетом данных разногласий регуляторы Евросоюза: Европейская комиссия, ЕМА и руководители национальных регуляторных органов стран ЕС в апреле 2020 г. в совместном документе «Для сведения заинтересованных сторон. Вопросы и ответы о регуляторных ожиданиях в отношении лекарственных средств в период пандемии COVID-19» [15] разъяснили свою позицию в отношении удаленной сертификации. Согласно этому документу с учетом существующих ограничений в перемещении граждан в связи с пандемией COVID-19, удаленная сертификация серий должна считаться допустимой во всех странах Европейской экономической зоны (ЕС, включая Исландию, Лихтенштейн и Норвегию) при условии, что УЛ имеют доступ ко всей информации, позволяющей им сертифицировать конкретную серию.

Тем же документом введены и другие послабления в части соблюдения Правил GMP по причине сложившейся ситуации. В частности, в целях предотвращения перебоев в поставках ЛС упрощен порядок замены поставщиков сырья и исходных материалов в их производстве. Облегчена процедура внесения изменений в регистрационные досье в отношении технологии и методов контроля качества. Представляется, что экспертам рабочей группы ЕАЭС и национальным фармацевтическим инспекторам государств-членов ЕАЭС следует учитывать изменения регуляторной практики в Западной и Центральной Европе как в процессе инспектирования находящихся в этой зоне производителей ЛС, так и в части обновления своих руководств.

### **Регуляторная гармонизация в сфере обращения лекарственных средств**

Возвращаясь к общим вопросам регулирования в данной сфере можно отметить, что в мировом фармацевтическом секторе наблюдается одновременное развитие двух связанных между собой процессов: конвергенции и гармонизации в отношении норм и правил.

ВОЗ определяет регуляторную конвергенцию как добровольное сближение требований в различных странах и регионах путем постепенного принятия международных технических руководств, стандартов,

практик и процедур, направленных на достижение общих целей в сфере охраны общественного здоровья. Под регуляторной гармонизацией понимают процесс, в ходе которого унифицируются технические требования стран-участниц определенного механизма сотрудничества [16].

Ситуация в сфере разработки нормативных актов ЕАЭС по регулированию оборота ЛС соответствует определениям ВОЗ. Здесь фактически сложилась трехуровневая иерархия документов. Вершину пирамиды составляют документы глобального (PIC/S) и регионального (Евросоюз) уровня. Следует уточнить, что нормативы фармацевтического сектора ЕС по статусу приближаются к глобальным. Они выполняют функцию ориентиров или моделей при разработке нормативов последующих уровней. Второй уровень субрегиональный: право ЕАЭС. Документы этого уровня являются нормами прямого действия и не требуют перенесения в национальные регуляторные системы государств-членов ЕАЭС. Однако они могут отразить лишь общие подходы, принципы и правила регулирования фармацевтического сектора. С учетом национальных различий в законодательстве и в структуре органов государственного управления стран ЕАЭС конкретные регуляторные порядки и правила могут быть установлены только на национальном уровне. Из них формируется третий уровень пирамиды – нормативные правовые акты, руководства, инструкции и другие документы государств-членов ЕАЭС. Так, в «Общих требованиях к системе качества фармацевтических инспекторатов государств-членов ЕАЭС» указано: «Настоящие Общие требования предназначены для использования фармацевтическими инспекторатами в качестве основы для разработки собственной системы качества» [17, 18].

### **Изменение российских регуляторных подходов к проведению контроля и надзора**

В последнее время в России принят ряд нормативных правовых актов, которые окажут или могут оказать существенное влияние на процесс составления и пересмотра документов, регулирующих порядок проведения фармацевтических инспекций на соответствие требованиям Правил GMP.

В конце июля 2020 г. был опубликован Федеральный закон «О государственном контроле (надзоре) и муниципальном контроле в Российской Федерации» от 31 июля 2020 г. № 248-ФЗ, предметом регулирования которого являются отношения по организации и осуществлению государственного контроля (надзора), муниципального контроля. Им устанавливаются важнейшие принципы государственного контроля (надзора), такие как законность и обоснованность, недопустимость злоупотребления правом. Предусматривается информационное обеспечение государственного контроля (надзора) в форме создания Единого реестра видов федерального государственного контроля (надзора), регионального государст-

венного контроля (надзора), муниципального контроля. Вводится понятие «Управление рисками причинения вреда (ущерба) охраняемым законом ценностям при осуществлении государственного контроля (надзора)» [19].

Имеется важное в практическом плане уточнение: инспекционный визит проводится без предварительного уведомления контролируемого лица и собственника производственного объекта. Предусмотрен отбор проб (образцов) в ходе инспекционных визитов. Значительное место в Федеральном законе № 248-ФЗ уделено охране прав и законных интересов, защите достоинства личности и деловой репутации контролируемых лиц.

В настоящее время не ясно, в какой мере и степени Федеральный закон № 248-ФЗ будет распространяться на фармацевтический сектор. Возможно, что в случае его применения к деятельности фармацевтического инспектората по GMP действующие нормы и правила в этой части могут быть пересмотрены.

С Федеральным законом № 248-ФЗ тесно связан другой нормативный правовой акт: Федеральный закон «Об обязательных требованиях в Российской Федерации» от 31.07.2020 г. № 247-ФЗ, вступивший в силу 1 ноября 2020 г. Оценка реализации данных требований производится посредством государственного контроля (надзора), муниципального контроля, лицензионной, аккредитационной и иной разрешительной деятельностью. Федеральный закон № 247-ФЗ регламентирует основы установления и оценки использования нормативных требований, связанных с хозяйственной деятельностью [20].

В качестве принципов установления и оценки применения обязательных требований определены следующие: законность, обоснованность, правовая определенность и системность, открытость и предсказуемость, исполнимость. Разъяснена трактовка этих принципов. Закон предусматривает проведение оценки регулирующего воздействия обязательных требований при разработке проектов нормативных правовых актов, устанавливающих такие требования. Регламентируются порядок официальных разъяснений обязательных требований.

Правительство РФ в рамках реализации механизма «регуляторной гильотины», целью которого является создание новой системы понятных и четких требований к хозяйствующим субъектам, должно признать утратившими юридическую силу устаревшие нормативные акты, содержащие обязательные требования, соблюдение которых оценивается при осуществлении государственного контроля (надзора). Вне зависимости от статуса нормативных правовых актов (отменены, признаны утратившими юридическую силу или прекратили действие в РФ) с начала 2021 г. запрещается оценка выполнения ряда обязательных требований при осуществлении государственного контроля, если они приобрели юридическую силу ранее 1 января 2020 г. С 1 января 2021 г. невыполнение требований, прописанных в этих нор-

мативных актах, не может служить основанием для вынесения административной ответственности [20]. Также нельзя проводить оценку выполнения обязательных требований, которые указаны в официально не опубликованных нормативных актах.

Представляется очевидным, что оба вышеопи- санных закона нацелены на упорядочение государственной контрольно-надзорной деятельности, отказа от использования устаревших, дублирующих норм, предотвращение злоупотреблений в этой сфере. Их эффективность во многом будет зависеть от право- применительной практики, в данном случае в фарма- цевтическом секторе.

Также необходимо упомянуть о проекте Феде- рального закона «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ, опубликованном 11 февраля 2021 г., касающимся внесения измене- ний в статью 45 «Производство лекарственных средств», в части предоставления Минздравом Рос- сии Минпромторгу России (фармацевтическому ин- спекторату) документов о процессе производства и контроле качества лекарственных препаратов, со- держащихся в регистрационном досье на ЛП, в целях лицензирования и инспектирования субъектов об- ращения лекарственных средств на соответствие тре- бованиям правил надлежащей производственной практики (с соблюдением ограничений, установлен- ных законодательством) [21].

Как известно, одним из ключевых требований мировых Правил GMP является соответствие условий производства положениям, содержащимся в регист- рационном досье на соответствующие ЛС. Это отра- жено и в Правилах GMP ЕАЭС [22].

На практике в целях проверки выполнения этих требований в ходе инспекции сопоставляются дан- ные из трех источников: регистрационное досье, до- кументация, используемая на производственной площадке, и фактическое положение дел. Очевидно, что такой подход предполагает доступ фармацевти- ческого инспектората к разделам регистрационных досье, обозначаемым как «Качество» по терминологии Евросоюза или как «СМС» (Chemistry, Manu- facturing and Control) – по американской. Более конкретно речь идет об «Общем резюме по качеству» Модуля 2 и о Модуле 3 «Общего технического документа» (ICH M4Q), пункты 3.2.P.3 – 3.2.P.5 [23]. Отсюда вытекает необходимость взаимодействия фармацевтического инспектората и регистрационного органа.

Следует, однако, отметить, что в практике стран со зрелой регулярной системой (по терминологии ВОЗ) контакты между инспекторатом и органом, осу- ществляющим государственную регистрацию ЛС для медицинского применения, значительно шире и но- сят двухсторонний партнерский характер. Фарма- цевтические инспекторы по GMP активно участвуют в рассмотрении разделов «Качество» регистрацион- ных досье. С другой стороны, эксперты, занятые оцен- кой заявок на регистрацию, нередко включаются в состав инспекционных групп. О необходимости взаи-

модействия фармацевтического инспектората с дру- гими подразделениями регуляторной системы гово- рится также в Решении Совета ЕЭК от 03.11.2016 г. № 82 «Об утверждении Общих требований к сис- теме качества фармацевтических инспекторатов государств – членов Евразийского экономического союза» [17].

Из подзаконных актов следует отметить При- каз Минпромторга России от 20.01.2021 г. № 90 «Об утверждении методик определения размера платы за оказание услуг по проведению фармацевтических инспекций...» [24]. Приказом детализированы виды работ и действия, выполняемые на отдельных этапах проведения инспектирования на соответствие требо- ваниям Правил GMP (вступительное совещание, ос- мотр производственной площадки, проведение самой проверки, заключительное совещание).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате обзора международных требований к проведению фармацевтического инспектирования производителей ЛС на соответствие требованиям Правил GMP, были проанализированы существенные изменения порядка инспектирования в условиях ограничений, связанных с пандемией COVID-19. Ана- лиз показал, что существует необходимость дальнеш- его сближения требований практики проведения фармацевтического инспектирования с целью гар- монизации норм между российскими регуляторны- ми документами, нормами права ЕАЭС и мировыми стандартами. Возможность развитие диалога с учас- тием заинтересованных сторон требует дальнеш- его рассмотрения. Нет сомнения в том, что многие чле- ны российского отраслевого экспертного сообщест- ва, имеющие значительный опыт работы и широ- кие международные связи, обеспокоены сложив- шейся ситуацией и готовы участвовать со стороны гражданского общества в решении затронутых выше проблем. Важно расширить и укрепить взаимодей- ствие отечественных регуляторных органов с фарма- цевтической отраслью в лице отраслевых объеди- нений и ассоциаций и со структурами гражданско- го общества – профессионалами здравоохранения, образовательными программами университетского уровня, независимыми СМИ. Шагом в этом направле- нии можно считать созданную Минпромторгом Рос- сии рабочую группу по актуализации и мониторингу применения Правил GMP, в которую включено око- ло 70 представителей отраслевых государственных структур, научных учреждений, ВУЗов, производст- венных предприятий и общественных объединений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Guidance on good practices for desk assessment of compliance with good manufacturing practices, good laboratory practices and good clinical practices for medical products regulatory decisions. WHO Technical Report Series. 2018. No 1010. Annex 9. Available at: [https://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/TRS1010annex9.pdf?ua=1](https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/TRS1010annex9.pdf?ua=1). Accessed: 01.07.2021.

2. Guidance related to GMP/GDP and PMF. Distant assessments. European Medicines Agency. EMA/335293/2020. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guidance-related-gmp/gdp-pmf-distant-assessments\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guidance-related-gmp/gdp-pmf-distant-assessments_en.pdf). Accessed: 01.07.2021.
3. Российский GMP-инспекторат. Пять лет на страже качества. Федеральное бюджетное учреждение «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик». Доступно по: <https://gilsinp.ru/?news=rossijskij-gmp-inspektorat-pyat-let-na-strazhe-kachestva>. Ссылка активна на 01.07.2021.
4. Ведущие мировые регуляторные агентства обсудили будущее дистанционных GMP-инспекций на глобальном саммите по фармацевтическому регулированию ISPE. Федеральное бюджетное учреждение «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик». Доступно по: <https://gilsinp.ru/?news=vedushhie-mirovye-regulyatornye-agentstva-obsudili-budushhee-distantsionnyh-gmp-inspektij-na-globalnom-sammite-po-farmatsevticheskomu-regulirovaniyu-ispe>. Ссылка активна на 01.07.2021.
5. An official website of the EMA, Mutual recognition agreements (MRA). Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice/mutual-recognition-agreements-mra>. Accessed: 01.07.2021.
6. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3.11.2016 № 93 «О признании результатов инспектирования производства лекарственных средств». Доступно по: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411966/cncd\\_21112016\\_93](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411966/cncd_21112016_93). Ссылка активна на 01.07.2021.
7. Resolution WHA67.20. Regulatory system strengthening for medical products. In: Sixty-seventh World Health Assembly. Geneva, 19–24 May 2014. Resolutions and decisions: resolutions. Geneva: World Health Organization. Available at: [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA67/A67\\_R20-en.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA67/A67_R20-en.pdf). Accessed: 01.07.2021.
8. WHO Global Benchmarking Tool (GBT) for evaluation of national regulatory systems. Geneva: World Health Organization. Available at: [https://www.who.int/medicines/regulation/benchmarking\\_tool/en/](https://www.who.int/medicines/regulation/benchmarking_tool/en/) Accessed: 01.07.2021.
9. ГОСТ Р ИСО 9001-2015. Системы менеджмента качества. Требования. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200124394>. Ссылка активна на 01.07.2021.
10. ГОСТ Р ИСО 9004-2019 Менеджмент качества. Качество организации. Руководство по достижению устойчивого успеха организации (ISO 9004:2018). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200167117>. Ссылка активна на 01.07.2021.
11. PIC/S Work Plan for 2021. Pharmaceutical Inspection Convention. Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme PS/W 1/2021. 8 March 2021. Available at: <https://picscheme.org/docview/3998>. Accessed: 01.07.2021.
12. Шестаков В. Н. Качественное продвижение: российские производители на пути к лидерству на мировом фармацевтическом рынке. Доступно по: <https://gxpnews.net/2021/05/kachestvennoe-prodvizhenie-rossijskie-proizvoditeli-na-puti-k-liderstvu-na-mirovom-farmatsevticheskom-rynke/> Ссылка активна на 01.07.2021.
13. Guide PIC/S to good manufacturing practice for medicinal products, PE 009-15 (Annexes). 2021. Available at: <https://picscheme.org/docview/4102>. Accessed: 01.07.2021.
14. Kissel U., Cockburn D. Survey of qualified persons on remote certification. *Industrial Pharmacy*. 2021;68:8–12.
15. Notice to stakeholders. Questions and answers on regulatory expectations for medicinal products for human use during the COVID-19 pandemic. European Commission Directorate-General for Health. Heads of Medicines Agencies. European Medicines Agency. Brussels; 10 April 2020.
16. Good regulatory practices in the regulation of medical products. WHO Technical Report Series. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/55th-report-of-the-who-expert-committee-on-specifications-for-pharmaceutical-preparations>. Accessed: 01.07.2021.
17. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 82 «Об утверждении Общих требований к системе качества фармацевтических инспекторатов государств-членов Евразийского экономического союза». Доступно по: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411933/cncd\\_21112016\\_82](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411933/cncd_21112016_82). Ссылка активна на 01.07.2021.
18. Николенко Н. С., Береговых В. В. Международные подходы к формированию системы качества фармацевтического инспектората. *Ремедиум*. 2019;12:44–53. DOI: 10.21518/1561-5936-2019-12-44-53.
19. Федеральный закон Российской Федерации № 248-ФЗ от 31.07.2020 «О государственном контроле (надзоре) и муниципальном контроле в Российской Федерации». Доступно по: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202007310018>. Ссылка активна на 01.07.2021.
20. Федеральный закон Российской Федерации № 247-ФЗ от 31.07.2020 «Об обязательных требованиях в Российской Федерации». Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_358670/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_358670/) Ссылка активна на 01.07.2021.
21. Федеральный портал проектов нормативных правовых актов. Проект федерального закона «О внесении изменения в статью 45 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств». Доступно по: <https://regulation.gov.ru/projects#npa=113159>. Ссылка активна на 01.07.2021.
22. Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 77 от 13.11.2016 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза». Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_207780/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207780/) Ссылка активна на 01.07.2021.
23. The Common Technical Document. Available at: <https://ich.org/page/ctd>. Accessed: 01.07.2021.
24. Приказ Минпромторга России № 90 от 20.01.2021 «Об утверждении методик определения размера платы за оказание услуг по проведению фармацевтических инспекций производства лекарственных средств для медицинского применения, расположенного на территории Российской Федерации, на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза и проведению фармацевтических инспекций производства лекарственных средств для медицинского применения, расположенного за пределами Российской Федерации, на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза, в том числе совместно с фармацевтическими инспекторами иного государства – члена Евразийского экономического союза, в целях выдачи сертификата (сертификатов) соответствия производителя (производителей) лекарственных средств для медицинского применения требованиям правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза, и предельного размера платы за оказание указанных услуг». Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_379379/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_379379/) Ссылка активна на 01.07.2021.

## REFERENCES

1. Guidance on good practices for desk assessment of compliance with good manufacturing practices, good laboratory practices and good clinical practices for medical products regulatory decisions. WHO Technical Report Series. 2018. No 1010. Annex 9. Available at: [https://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/TRS1010annex9.pdf?ua=1](https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/TRS1010annex9.pdf?ua=1). Accessed: 01.07.2021.
2. Guidance related to GMP/GDP and PMF. Distant assessments. European Medicines Agency. EMA/335293/2020. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guidance-related-gmp/gdp-pmf-distant-assessments\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guidance-related-gmp/gdp-pmf-distant-assessments_en.pdf). Accessed: 01.07.2021.
3. *Rossiyskiy GMP-inspektorat. Pyat' let na strazhe kachestva. Federal'noe byudzhethnoe uchrezhdenie "Gosudarstvennyy institut lekarstvennykh sredstv i nadlezhashchikh praktik"* [Russian GMP Inspectorate. Five years on the guard of quality. Federal Budgetary Institution "State Institute of Medicines and Good Practices"]. Available at: <https://gilsinp.ru/?news=rossijskij-gmp-inspektorat-pyat-let-na-strazhe-kachestva>. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)

4. *Vedushchie mirovye regulatorynye agentstva obsudili budushchee distantsionnykh GMP-inspektsiy na global'nom sammite po farmatsevticheskomu regulirovaniyu ISPE. Federal'noe byudzhethnoe uchrezhdenie "Gosudarstvennyy institut lekarstvennykh sredstv i nadlezhashchikh praktik"* [The world's leading regulatory agencies discussed the future of remote GMP inspections at the Global Pharmaceutical Regulatory Summit ISPE. Federal Budgetary Institution "State Institute of Medicines and Good Practices"]. Available at: <https://gilsinp.ru/?news=vedushhie-mirovye-regulatorynye-agentstva-obsudili-budushchee-distantsionnykh-gmp-inspektsij-na-globalnom-sammite-po-farmatsevticheskomu-regulirovaniyu-ispe>. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
5. An official website of the EMA, Mutual recognition agreements (MRA). Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice/mutual-recognition-agreements-mra>. Accessed: 01.07.2021.
6. *Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 3.11.2016 № 93 "O priznanii rezul'tatov inspektirovaniya proizvodstva lekarstvennykh sredstv"* [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated 3.11.2016 No. 93 "On the recognition of the results of the inspection of the production of medicines"]. Available at: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411966/cncd\\_21112016\\_93](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411966/cncd_21112016_93). Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
7. Resolution WHA67.20. Regulatory system strengthening for medical products. In: Sixty-seventh World Health Assembly. Geneva, 19–24 May 2014. Resolutions and decisions: resolutions. Geneva: World Health Organization. 2014. Available at: [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA67/A67\\_R20-en.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA67/A67_R20-en.pdf). Accessed: 01.07.2021.
8. WHO Global Benchmarking Tool (GBT) for evaluation of national regulatory systems. Geneva: World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/medicines/regulation/benchmarking-tool/en/> Accessed: 01.07.2021.
9. *GOST R ISO 9001-2015. Sistemy menedzhmenta kachestva. Trebovaniya* [GOST R ISO 9001-2015. Quality management systems. Requirements]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200124394>. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
10. *GOST R ISO 9001-2015. Sistemy menedzhmenta kachestva. Trebovaniya* [GOST R ISO 9004-2019 Quality management. The quality of the organization. Guidelines for achieving the sustainable success of an organization (ISO 9004: 2018)]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200167117>. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
11. PIC/S Work Plan for 2021. Pharmaceutical Inspection Convention. Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme PS/W 1/2021. 8 March 2021. Available at: <https://picscheme.org/docview/3998>. Accessed: 01.07.2021.
12. *Shestakov V. N. Kachestvennoe prodvizhenie: rossijskie proizvoditeli na puti k liderstvu na mirovom farmatsevticheskom rynke* [Qualitative promotion: Russian manufacturers on the way to leadership in the global pharmaceutical market]. Available at: <https://gxpnews.net/2021/05/kachestvennoe-prodvizhenie-rossijskie-proizvoditeli-na-puti-k-liderstvu-na-mirovom-farmatsevticheskom-rynke/> Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
13. Guide PIC/S to good manufacturing practice for medicinal products, PE 009-15 (Annexes). 2021. Available at: <https://picscheme.org/docview/4102>. Accessed: 01.07.2021.
14. Kissel U., Cockburn D. Survey of qualified persons on remote certification. *Industrial Pharmacy*. 2021;68:8–12.
15. Notice to stakeholders. Questions and answers on regulatory expectations for medicinal products for human use during the COVID-19 pandemic. European Commission Directorate-General for Health. Heads of Medicines Agencies. European Medicines Agency. Brussels; 10 April 2020.
16. Good regulatory practices in the regulation of medical products. WHO Technical Report Series. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/55th-report-of-the-who-expert-committee-on-specifications-for-pharmaceutical-preparations>. Accessed: 01.07.2021.
17. *Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 03.11.2016 № 82 "Ob utverzhenii Obshchikh trebovaniy k sisteme kachestva farmatsevticheskikh inspektoratov gosudarstv-chlenov Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza"* [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated 03.11.2016 No. 82 "On approval of the General Requirements for the Quality System of Pharmaceutical Inspectorates of the Member States of the Eurasian Economic Union"]. Available at: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411933/cncd\\_21112016\\_82](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411933/cncd_21112016_82). Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
18. Nikolenko N. C., Beregovykh V. V. International approaches to the formation of the quality system of the pharmaceutical inspectorate. *Remedium*. 2019;12:44–53. (In Russ.) DOI: 10.21518/1561-5936-2019-12-44-53.
19. *Federal'nyy zakon Rossiyskoy Federatsii № 248-FZ ot 31.07.2020 "O gosudarstvennom kontrole (nadzore) i munitsipal'nom kontrole v Rossiyskoy Federatsii"* [Federal Law of Russian Federation № 248-FZ of 31.07.2020 "On State Control (Supervision) and Municipal Control in the Russian Federation"]. Available at: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202007310018>. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
20. *Federal'nyy zakon Rossiyskoy Federatsii № 247-FZ ot 31.07.2020 "Ob obyazatel'nykh trebovaniyakh v Rossiyskoy Federatsii"* [Federal Law of Russian Federation № 247-FZ of 31.07.2020 "On Mandatory Requirements in the Russian Federation"]. Available at: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_358670/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_358670/) Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
21. *Federal'nyy portal proektov normativnykh pravovykh aktov. Proekt federal'nogo zakona "O vnesenii izmeneniya v stat'yu 45 Federal'nogo zakona "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv"* [Federal portal of draft regulatory legal acts. Draft Federal Law "On Amendments to Article 45 of the Federal Law "On Circulation of Medicines"]. Available at: <https://regulation.gov.ru/projects#npa=113159>. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
22. *Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii № 77 ot 13.11.2016 "Ob utverzhenii Pravil nadlezhashchey proizvodstvennoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza"* [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 77 of 13.11.2016 "On approval Of the rules of good manufacturing practice of the Eurasian economic Union"]. Available at: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_207780/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207780/) Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
23. The Common Technical Document. Available at: <https://ich.org/page/ctd>. Accessed: 01.07.2021.
24. *Prikaz Minpromtorga Rossii № 90 ot 20.01.2021 "Ob utverzhenii metodik opredeleniya razmera platy za okazanie uslug po provedeniyu farmatsevticheskikh inspektsiy proizvodstva lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya, raspolozhennogo na territorii Rossiyskoy Federatsii, na sootvetstvie trebovaniyam pravil nadlezhashchey proizvodstvennoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza i provedeniyu farmatsevticheskikh inspektsiy proizvodstva lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya, raspolozhennogo za predelami Rossiyskoy Federatsii, na sootvetstvie trebovaniyam pravil nadlezhashchey proizvodstvennoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza, v tom chisle sovmestno s farmatsevticheskimi inspektoratami inogo gosudarstva – chlena Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza, v tselyakh vydachi sertifikata (sertifikatov) sootvetstviya proizvoditelya (proizvoditeley) lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya trebovaniyam pravil nadlezhashchey proizvodstvennoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza, i predel'nogo razmera platy za okazanie ukazannykh uslug"* [Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation No. 90 of 20.01.2021 "On Approval of Methods for Determining the Amount of Payment for the Provision of Services for Conducting Pharmaceutical Inspections of the Production of Medicines for Medical Use Located on the Territory of the Russian Federation for Compliance with the Requirements of the Rules of Good Manufacturing Practice of the Eurasian Economic Union and Conducting Pharmaceutical Inspections of the Production of Medicines for Medical Use Located outside the Russian Federation, for compliance with the requirements of the rules of good manufacturing practice of the Eurasian Economic Union, including jointly with the pharmaceutical inspectorates of another member state of the Eurasian Economic Union, in order to issue a certificate(s) of compliance of the manufacturer(s) of medicines for medical use with the requirements of the rules of good manufacturing practice of the Eurasian Economic Union, and the maximum amount of payment for the provision of these services» Available at: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_379379/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_379379/) Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)



# Евразийский Фармацевтический Саммит 2021

**12 – 13 октября**

Узбекистан, г. Ташкент

Офлайн + онлайн

Регуляторика • Доступ на рынок • Продажи • Маркетинг

**300+**

Участников

**120+**

Спикеров

**15+**

Сессий

## Изменившийся мир – новые возможности

В рамках Евразийского Фармацевтического Саммита будут обсуждаться тенденции развития государственного и коммерческого сегмента в 13 странах: **России, Казахстане, Узбекистане, Азербайджане, Кыргызстане, Беларуси, Армении, Украине, Грузии, Молдове, Туркменистане, Таджикистане, Монголии.**

### Круглые столы с регуляторами

Круглые столы с регуляторами – это всегда возможность задать волнующие вас вопросы в камерной обстановке. Уникальность наших мероприятий в том, что мы нашли способ обеспечить интерактивное общение с регуляторами не только в офлайн, но и в онлайн формате. Каждый участник круглого стола может задать интересующий его вопрос голосом и получить на него ответ от представителей государственных органов.

### Дискуссии и встречи один на один с дистрибьюторами и аптечными сетями

Евразийский Фармацевтический Саммит стал первым мероприятием, в рамках которого были проведены дискуссии по обсуждению тенденций развития коммерческого сегмента фармацевтических рынков стран Средней Азии и Кавказа. Мы смогли привлечь к выступлению на форуме топ-менеджеров ведущих дистрибьюторов и аптечных сетей стран региона Евразия, что повысило ценность наших мероприятий для делегатов. В 2021 году мы организуем встречи один на один с представителями лидеров рынков стран региона Евразия.

### Награждение победителей конкурса на соискание Eurasian Pharma Awards

К участию в конкурсе приглашаются фармацевтические компании-производители, дистрибьюторы и аптечные сети из 13 стран региона Евразия. В 2020 году на соискание наград конкурса поступило более 70 заявок, и для команды организаторов Евразийского Виртуального Фармацевтического Саммита было большой честью наградить 19 победителей в 13 номинациях. В 2021 году заявки будут приниматься до 15 сентября, а победители будут объявлены на саммите в Ташкенте 13 октября.

Ознакомьтесь с темами для обсуждения:



Великобритания: +44 204 577-36-57  
Россия: +7 499 404-16-25

[eurasianpharmasummit.com](http://eurasianpharmasummit.com)



<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-148-165>  
УДК 615.1(075)



Обзорная статья / Review article

## Интегрированная модель системы менеджмента качества лабораторных исследований лекарственных средств (обзор)

А. И. Селезнева<sup>1\*</sup>, В. А. Смирнов<sup>1</sup>, В. В. Горячкин<sup>1</sup>, Н. Н. Чадова<sup>1</sup>, С. В. Поляков<sup>1</sup>,  
В. Н. Шестаков<sup>1</sup>, Р. А. Абрамович<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП») Минпромторга России, 109044, Россия, г. Москва, Лавров пер., д. 6  
<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

\*Контактное лицо: Селезнева Арина Игоревна. E-mail: selezneva@gilsinp.ru

ORCID: А. И. Селезнева – <https://orcid.org/0000-0002-5281-1169>; В. А. Смирнов – <https://orcid.org/0000-0002-7206-3313>; В. В. Горячкин – <https://orcid.org/0000-0002-1069-8647>;  
Н. Н. Чадова – <https://orcid.org/0000-0002-9132-1015>; С. В. Поляков – <https://orcid.org/0000-0003-4234-1156>; В. Н. Шестаков – <https://orcid.org/0000-0002-7929-4982>;  
Р. А. Абрамович – <https://orcid.org/0000-0003-1784-881X>.

Статья поступила: 18.05.2021

Статья принята в печать: 18.08.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Публикация посвящена роли лабораторных исследований в обеспечении качества отечественных лекарственных средств (ЛС) и представляет собой обзор и анализ нормативной документации и актуальных публикаций на данную тему.

**Текст.** В создании ЛС и обеспечении их эффективности и безопасности участвует целый ряд видов лабораторий. На сегодняшний день существует большое количество нормативных документов, регламентирующих лабораторные исследования. Общим для всех видов лабораторий и нормативных документов является необходимость организации эффективной системы менеджмента качества (СМК) лабораторий жизненного цикла ЛС. Целью данного обзора является анализ подходов к регулированию качества лабораторных исследований отечественных ЛС и рассмотрение наиболее эффективной модели СМК, фундаментальной для всех видов лабораторий жизненного цикла ЛС.

**Заключение.** Система качества лабораторных исследований служит базовым инструментом для достижения конечной цели – клинической ценности ЛС – и призвана гарантировать минимизацию рисков для пациентов. При этом каждый этап жизненного цикла ЛС обеспечивает решение конкретной задачи на пути к этой цели, что необходимо учитывать при построении СМК в каждом из видов лабораторий. Спектр нормативных документов и систем внешней оценки (аккредитация, сертификация, инспекционный контроль и др.) в сфере отечественных лабораторных исследований достаточно многообразен. В связи с этим лаборатории целесообразно выстроить гармоничную СМК, основанную на приоритетах в соответствии с целями и задачами. Наиболее эффективным методом для построения такой системы является модель интегральной (интегрированной) системы менеджмента.

**Ключевые слова:** лабораторные исследования, система качества, надлежащие фармацевтические практики, качество лекарственных средств

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** А. И. Селезнева, В. А. Смирнов, В. В. Горячкин провели комплексный анализ нормативно-правовой документации и научной литературы зарубежных и отечественных авторов. В. Н. Шестаковым, С. В. Поляковым, Н. Н. Чадова и Р. А. Абрамович были изучены и систематизированы подходы к организации СМК лабораторий жизненного цикла ЛС и предложена оптимальная фундаментальная модель СМК.

**Благодарность.** Работа выполнена при поддержке ФБУ «ГИЛС и НП».

**Для цитирования:** Селезнева А. И., Смирнов В. А., Горячкин В. В., Чадова Н. Н., Поляков С. В., Шестаков В. Н., Абрамович Р. А. Интегрированная модель системы менеджмента качества лабораторных исследований лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):148–165. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-148-165>

## The Integrated Model of Quality Management System of Laboratory Studies of Medicines (Review)

Arina I. Selezneva<sup>1\*</sup>, Vladimir A. Smirnov<sup>1</sup>, Vyacheslav V. Goryachkin<sup>1</sup>,  
Nataliya N. Chadova<sup>1</sup>, Sergey V. Polyakov<sup>1</sup>, Vladislav N. Shestakov<sup>1</sup>, Rimma A. Abramovich<sup>2</sup>

<sup>1</sup> State Institute of Drugs and Good Practices, 6, Lavrov lane, Moscow, 109044, Russia

<sup>2</sup> Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

\*Corresponding author: Arina. I. Selezneva. E-mail: selezneva@gilsinp.ru

ORCID: Arina. I. Selezneva – <https://orcid.org/0000-0002-5281-1169>; Vladimir. A. Smirnov – <https://orcid.org/0000-0002-7206-3313>;  
Vyacheslav. V. Goryachkin – <https://orcid.org/0000-0002-1069-8647>; Nataliya. N. Chadova – <https://orcid.org/0000-0002-9132-1015>;  
Sergey. V. Polyakov – <https://orcid.org/0000-0003-4234-1156>; Vladislav. N. Shestakov – <https://orcid.org/0000-0002-7929-4982>;  
Rimma. A. Abramovich – <https://orcid.org/0000-0003-1784-881X>.

Received: 18.05.2021

Revised: 18.08.2021

Published: 25.08.2021

© Селезнева А. И., Смирнов В. А., Горячкин В. В., Чадова Н. Н., Поляков С. В., Шестаков В. Н., Абрамович Р. А., 2021

© Selezneva A. I., Smirnov V. A., Goryachkin V. V., Chadova N. N., Polyakov S. V., Shestakov V. N., Abramovich R. A., 2021

## Abstract

**Introduction.** The publication is devoted to the role of laboratory research in ensuring the quality of domestic medicines and is a review and analysis of regulatory documents and current publications on this topic.

**Text.** A number of different types of laboratories are involved in Drug life cycle and ensuring their effectiveness and safety. Today there are a large number of regulations governing laboratory research. Common to all types of laboratories and regulatory documents is the need to organize an effective quality management system (QMS) for the drug life cycle laboratories. The aim of this review is to analyze approaches to regulating the quality of laboratory research of domestic drugs and to consider the most effective QMS model, which is fundamental for all types of laboratories in the life cycle of drugs.

**Conclusion.** The laboratory research quality system serves as a basic tool for achieving the ultimate goal - the clinical value of drugs and is designed to ensure that risks for patients are minimized. At the same time, each stage of the drug life cycle provides a solution to a specific problem on the way to this goal, which must be taken into account when building a QMS in each type of laboratory. The range of regulatory documents and external assessment systems (accreditation, certification, inspection control, etc.) in the field of domestic laboratory research is quite diverse. In this regard, it is advisable for the laboratory to build a harmonious QMS based on priorities in accordance with the goals and objectives. The most effective method for building such a system is an integrated management system model.

**Keywords:** laboratory research, quality system, good pharmaceutical practices, drug quality

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Arina I. Selezneva, Vladimir A. Smirnov, Vyacheslav V. Goryachkin conducted a comprehensive analysis of regulatory documents and scientific literature of foreign and domestic authors. Vladislav N. Shestakov, Sergey V. Polyakov, Nataliya N. Chadova, Rimma A. Abramovich the approaches to organizing the QMS of the drug life cycle laboratories have been studied and systematized, and an optimal fundamental model of the QMS has been proposed.

**Acknowledgment.** This work was carried out with the support of FSI «State Institute of Drugs and Good Practices».

**For citation:** Selezneva A. I., Smirnov V. A., Goryachkin V. V., Chadova N. N., Polyakov S. V., Shestakov V. N., Abramovich R. A. The integrated model of quality management system of laboratory studies of medicines. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):148–165. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-148-165>

## ВВЕДЕНИЕ

Организации фармацевтической системы менеджмента качества (ФСМК) на производстве лекарственных средств (ЛС) уделяется большое внимание, во многом благодаря жесткому внешнему регулированию и контролю. При этом организация системы качества лабораторий также занимает особое место в формировании фундамента качества ЛС. На протяжении жизненного цикла ЛС выполняется большое количество лабораторных исследований. Так, создание новой молекулы и/или новой лекарственной формы непременно сопровождается лабораторными исследованиями механизма его действия, эффективности и безопасности, аналитическими исследованиями, разработкой новой технологии. На этапе клинических испытаний от достоверности и качества лабораторных исследований зависит здоровье пациентов. В процессе производства и после выпуска в гражданский оборот, качество лекарственного средства непрерывно контролируется лабораторными методами анализа. Таким образом, лабораторные исследования красной нитью проходят через весь жизненный цикл ЛС и обеспечивают его эффективность, безопас-

ность и качество. Ключевую роль в достижении этой цели играет подход к организации системы менеджмента качества (СМК) лаборатории. Внешний контроль и регулирование качества лабораторных исследований представляет гораздо более сложную систему, нежели производство ЛС. Целью данного обзора является анализ подходов к регулированию качества лабораторных исследований отечественных ЛС и рассмотрение наиболее эффективной модели СМК, фундаментальной для всех видов лабораторий жизненного цикла ЛС.

### Виды лабораторий в жизненном цикле лекарственных средств

Жизненный цикл ЛС это путь ЛС от идеи до вывода ЛС из оборота. На этом пути условно можно выделить несколько ключевых этапов и соответствующих им видов лабораторий (рисунок 1, таблица 1).

На каждом из этапов жизненного цикла отдельный вид лабораторий выполняет задачи для достижения общей цели – обеспечения клинической ценности, безопасности и качества ЛС (таблица 1).



Рисунок 1. Виды лабораторий на этапах жизненного цикла ЛС

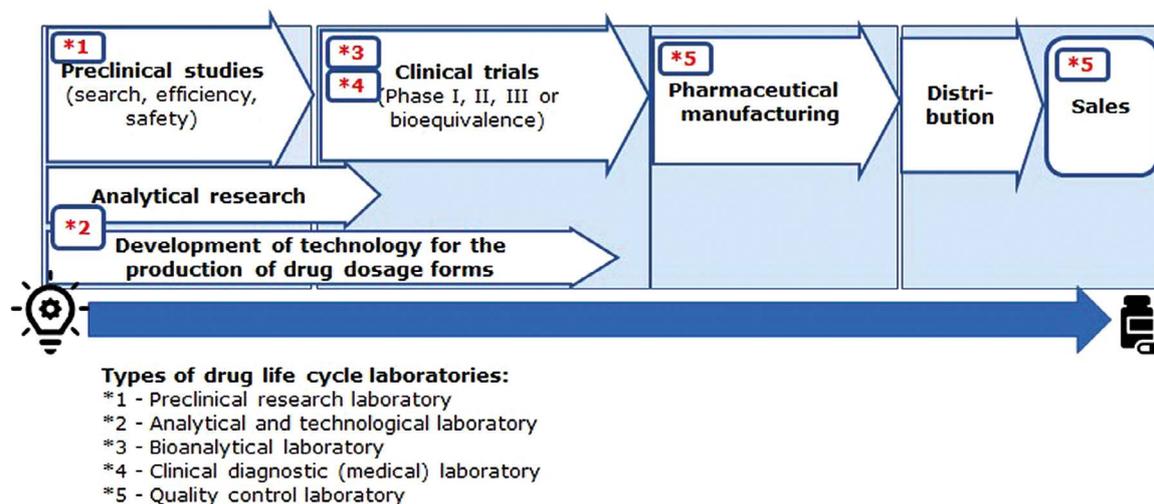


Figure 1. Types of laboratories at the stages of the drug life cycle

Таблица 1. Виды и задачи лабораторий на этапах жизненного цикла ЛС

Table 1. Types and tasks of laboratories at the stages of the drug life cycle

№	Вид лаборатории* Type of laboratory*	Этап жизненного цикла ЛС Stage of drug life cycle	Выполняемые задачи Tasks to be performed
1	2	3	4
1	Доклиническая исследовательская лаборатория Preclinical Research Laboratory	<ul style="list-style-type: none"> <li>Фундаментальные исследования (поиск молекулы).</li> <li>Оценка безопасности на животных с целью инициации клинической разработки</li> <li>Basic research (search for a molecule);</li> <li>Safety research in animals to initiate clinical trials</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Выбор перспективных кандидатов в ЛС, прогноз эффективных и безопасных доз в поисковом эксперименте.</li> <li>Определение токсикологического профиля ЛС (токсические и неблагоприятные эффекты при длительном применении, мутагенность, генотоксичность, влияние на плод и репродуктивную систему и т. д.).</li> <li>Определение диапазона безопасных и эффективных доз на экспериментальных животных с целью экстраполяции в клинические испытания</li> <li>Selection of promising candidates for drugs, prediction of effective and safe doses in a search experiment.</li> <li>Characteristics of the toxicological profile of drugs (toxic and adverse effects with prolonged use, mutagenicity, genotoxicity, effects on the fetus and the reproductive system, etc.).</li> <li>Determination of the range of safe and effective doses in experimental animals for the purpose of extrapolation to clinical trials</li> </ul>

№	Вид лаборатории* Type of laboratory*	Этап жизненного цикла ЛС Stage of drug life cycle	Выполняемые задачи Tasks to be performed
1	2	3	4
2	Аналитическая и технологическая лаборатория Analytical and technological laboratory	Разработка Drug development	<ul style="list-style-type: none"> <li>Разработка состава ЛС, проект и обоснование спецификаций.</li> <li>Разработка и валидация аналитических методов контроля.</li> <li>Разработка технологии получения препаратов, НТД на ЛС и трансфер технологии на производственную площадку.</li> <li>Разработка методик контроля качества субстанций и ЛС: <ul style="list-style-type: none"> <li>изучение стабильности фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов;</li> <li>входной контроль качества сырья, вспомогательных веществ и реактивов;</li> <li>контроль качества промежуточных продуктов и полупродуктов, образующихся в процессе производства ЛС;</li> <li>установление условий и сроков хранения субстанций и лекарственных препаратов</li> </ul> </li> <li>Development of the composition of drugs, design and justification of specifications.</li> <li>Development and validation of analytical control methods.</li> <li>Development of technology for obtaining drugs, NTD on drugs and transfer of technology to the production site.</li> <li>Development of methods for quality control of substances and drugs: <ul style="list-style-type: none"> <li>study of the stability of pharmaceutical substances and medicinal products;</li> <li>incoming quality control of raw materials, excipients and reagents;</li> <li>quality control of intermediate products and intermediates formed during the production of medicines;</li> <li>establishment of conditions and terms of storage of substances and medicinal products</li> </ul> </li> </ul>
3	Биоаналитическая лаборатория Bioanalytical laboratory	Клинические испытания Clinical trials	<ul style="list-style-type: none"> <li>Разработка и валидация биоаналитических методик для определения фармакокинетики ЛС.</li> <li>Определение фармакокинетических свойств ЛС, в т. ч. токсикокинетики, биодоступности/биоэквивалентности и др.</li> <li>Development and validation of bioanalytical methods for determining the pharmacokinetics of drugs.</li> <li>Determination of the pharmacokinetic properties of drugs, incl. toxicokinetics, bioavailability/bioequivalence, etc.</li> </ul>
4	Клинико-диагностическая (медицинская) лаборатория Clinical diagnostic (medical) laboratory	Клинические испытания Clinical trials	<p>Оценка безопасности и переносимости, а также эффективности ЛС на основании динамического клинического наблюдения за объективными данными состояния добровольцев (клинический анализ крови, мочи, биохимические исследования и др.)</p> <p>Assessment of the safety and tolerability, as well as the effectiveness of drugs based on dynamic clinical observation of objective data on the condition of volunteers (clinical analysis of blood, urine, biochemical studies, etc.)</p>
5	Лаборатория контроля качества ЛС Drug quality control laboratory	<ul style="list-style-type: none"> <li>Производство ЛС.</li> <li>Пострегистрационный этап (выборочный контроль качества ЛС уполномоченными органами)</li> <li>Drug manufacturing.</li> <li>Post-registration stage (selective quality control of medicines by authorized authorities)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Отбор проб, оценка соответствия нормативной документации (спецификациям), процедуры организации, документирования и выпуска, гарантирующие проведение необходимых испытаний, а также обеспечивающие то, что исходные и упаковочные материалы не разрешены для использования, а продукция – для реализации и поставки до тех пор, пока их качество не будет признано соответствующим установленным требованиям.</li> <li>Подтверждение соответствия ЛС (посредством выборочного контроля) требованиям фармакопейной статьи либо, в случае ее отсутствия, нормативной документации</li> <li>Sampling, assessment of compliance with regulatory documents (specifications), procedures for organizing, documenting and releasing, ensuring that the necessary tests are carried out, and also ensuring that starting and packaging materials are not authorized for use, and products are not for sale and delivery until then, until their quality is found to be in compliance with the established requirements.</li> <li>Confirmation of drug compliance (through sampling) with the requirements of the Pharmacopoeia Monograph or, in its absence, regulatory documentation</li> </ul>

**Примечание.** \* Понятие «Испытательная лаборатория» требует отдельного обсуждения. В данной статье мы отказались от использования этого термина, так как в большинстве случаев он трактуется в профессиональной литературе неоднозначно. Однако для внесения ясности приводим краткую справку о возникновении и значении данного термина.

**Note.** \* The concept of "Testing laboratory" requires a separate discussion. In this article, we refused to use this term, since in most cases it is interpreted ambiguously in professional literature. However, for the sake of clarity, we provide a brief summary of the origin and meaning of this term.

Термин «**Испытательная лаборатория**» в отечественных нормативных документах берет свои корни из сферы технического регулирования, где впервые употребляется в серии документов «СДА» [1–3]. Серия нормативных документов «СДА» описывает термины и правила в единой системе оценки соответствия в области промышленной, экологической безопасности, безопасности в энергетике и строительстве.

В СДА-06-2009 представлено базовое определение понятия «**Испытательная лаборатория (ИЛ)**» – орган по оценке соответствия, аккредитованный для проведения испытаний».

Следующее упоминание данного термина (более расширенное) представлено в СДА-15-2009 [3]:

«**Испытательная лаборатория (ИЛ)**:

- орган по оценке соответствия, аккредитованный для проведения испытаний;
- орган по оценке соответствия, который осуществляет один или несколько из следующих видов деятельности:
  - испытания;
  - калибровка;
  - отбор образцов, связанный с последующими испытаниями или калибровкой».

Примечательно, что в СДА-15-2009 наряду с понятием ИЛ, также представлен термин «**Аналитическая лаборатория (АЛ)**» – орган по оценке соответствия, аккредитованный для проведения качественного и количественного анализа различных компонентов в природных и промышленных объектах».

При этом в ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий» [4] определение термина «**Испытательная лаборатория**» отсутствует, но введен термин «**Лаборатория**» – орган, который осуществляет один или несколько из следующих видов деятельности:

- испытания;
- калибровка;
- отбор образцов, связанный с последующими испытаниями или калибровкой».

В виду того, что ИЛ в основополагающих документах определена как орган по оценке соответствия, необходимо уточнить значение данного понятия, которое установлено ГОСТ ISO/IEC 17000-2012 [5] (п. 2.1), а также упоминается в документах серии СДА следующим образом:

**Оценка соответствия** – доказательство того, что заданные требования к продукции, процессу, системе, лицу или органу, выполнены. Согласно п. 0.5 ГОСТ ISO/IEC 17000-2012, понятие «оценка соответствия» связано с выражением «выполнение заданных требований», а не с более широким понятием «соответствие». «**Заданное требование** (п. 3.1 ГОСТ ISO/IEC 17000-2012) – это заявленная потребность или ожидание. Заданные требования могут быть установлены нормативными документами, такими как регламенты, стандарты и технические условия». Согласно ГОСТ ISO/IEC 17000-2012: «Оценка

соответствия связана с такими областями, как системы менеджмента, метрология, стандартизация и статистика».

В Федеральном законе № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [6] термин ИЛ употребляется 2 раза (статьи 36 и 52). И в том, и в другом случае данный термин употребляется в контексте оценки соответствия ЛС установленным требованиям, которая осуществляется в лабораториях контроля качества ЛС.

При этом в п. 3 статьи 11 61-ФЗ указываются виды организаций, допустимые для проведения доклинических исследований (ДКИ): «Для организации и проведения доклинического исследования лекарственного средства для медицинского применения разработчики лекарственных средств могут привлекать научно-исследовательские организации, образовательные организации высшего образования, имеющие необходимую материально-техническую базу и квалифицированных специалистов в соответствующей области исследования».

В связи с этим лаборатории, выполняющие научные исследования и доклинические исследования безопасности, нельзя в полной мере назвать испытательными лабораториями, так как данные исследования не являются деятельностью по оценке соответствия. Данный вид лабораторий выполняет исследования веществ, свойства которых зачастую заведомо неизвестны. Целью ДКИ является определение данных свойств. В процессе ДКИ определяют токсические эффекты и дозы, эффективную терапевтическую дозу и другие параметры вещества. Таким образом, доклиническая лаборатория является исследовательской в отличие, например, от лаборатории контроля качества, которая проводит оценку соответствия уже установленным требованиям.

Этот факт подтверждается и п. 7 части II Решения ЕЭК № 81 (Правила GLP), где вместо термина «Испытательная лаборатория» в глоссарии приведен термин «**Исследовательская организация (испытательный центр) (test facility)**» – лаборатория (организация), имеющая необходимую материально-техническую базу и квалифицированный персонал для проведения доклинических (неклинических) исследований лекарственных средств в соответствующей области» [7].

Требуется разъяснения и применимость термина «Испытательная лаборатория» к биоаналитическим лабораторным исследованиям, а также к аналитическим и технологическим лабораториям на этапе фармацевтической разработки. В случае, когда свойства вещества и требования к нему заведомо неизвестны, деятельность лаборатории является исследовательской в отличие от деятельности испытательных лабораторий, основной целью которых, согласно нормативным документам, является оценка соответствия заданным требованиям.

Таким образом, термин «Испытательная лаборатория» наиболее всего применим только к одному виду лабораторий жизненного цикла ЛС – лабораториям

контроля качества. В отношении других видов лабораторий применение данного термина требует уточнения, также как и степень применимости к ним требований соответствующих нормативных документов (в частности, ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025).

### **Обеспечение качества на этапе разработки лекарственного средства**

Создание нового ЛС начинается с поисковых исследований «кандидатов» в ЛС, для которых еще предстоит разработать оптимальную лекарственную форму и состав вспомогательных веществ. Поэтому параллельно с поисковыми доклиническими исследованиями начинаются также и работы в аналитической и технологической лабораториях. Данный комплекс работ представляет собой этап разработки ЛС. Согласно закону № 61-ФЗ гл. 5, ст. 10, п. 1: «Разработка лекарственных средств включает в себя поиск новых фармакологически активных веществ, последующее изучение их лекарственных свойств, доклинические исследования, разработку технологий производства фармацевтических субстанций, разработку составов и технологий производства лекарственных препаратов» [6].

Следует отметить, что этап разработки ЛС является наиболее наукоемким из всех последующих этапов жизненного цикла ЛС. Именно на этом этапе разработчики получают первые базовые знания об эффективности и безопасности, физико-химических свойствах лекарственного вещества, технологических аспектах готовой лекарственной формы, разрабатываются аналитические методики. На этом этапе закладывается фундамент качества будущего ЛС.

Научные исследования этапа разработки ЛС предполагают широкий диапазон ожидаемых результатов, а иногда и отсутствие таковых. Это отличает лабораторные исследования на этапе разработки ЛС от лабораторных исследований контроля качества, биоэквивалентности и клинической лабораторной диагностики, где результаты сравниваются с заведомо известными величинами (фармакопейная статья, спецификация, нормативы показателей). Видимо поэтому мировое фармацевтическое сообщество ведет многолетние споры по вопросам регулирования этапа разработки ЛС. Часть экспертов утверждают, что регулирование и требования к обеспечению качества на этапе разработки ЛС должны быть более гибкими, чем на последующих этапах, чтобы обеспечить пространство для научных открытий. При этом многие авторы [8–10] акцентируют внимание на обеспечении качества процессов разработки ЛС и считают необходимым более системный подход к этому этапу. Такой подход может включать анализ предшествующих знаний, результаты исследований с использованием планирования, использование управления рисками для качества и использование управления знаниями на протяжении всего жизненного цикла продукта. Данный системный подход был сформулирован как концепция «Качества благодаря дизайну» (Quality

by Design, QbD) [11, 12] и представлен в 2005 году на Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации ЛС для человека (International Conference on Harmonization, ICH) в Руководстве по фармацевтической разработке ICH Q8(R2) [13]. Следом за Руководством ICH Q8 (R2), были разработаны ICH Q9 «Управление рисками для качества» [14] и ICH Q10 «Фармацевтическая система качества» [15]. Эти три руководства позиционировались как неотъемлемые части одного целого – подхода к созданию нового ЛС с позиций качества.

Согласно современным положениям, принятым в странах с развитой фармацевтической индустрией, этап разработки ЛС призван реализовывать принципы **спланированного качества**. Принцип Quality by Design (QbD) полностью отражает данные принципы. Спланированное качество обеспечивает «системный подход к разработке, основанный на надежных научных данных и управлении рисками для качества продукции, который начинается с определения целей и уделяет особое внимание пониманию продукта и технологического процесса, а также контролю последнего» [11, 12]. Только с позиций спланированного качества разработка ЛС может являться своеобразным гарантом производства качественных, эффективных и безопасных лекарственных препаратов [16].

Для реализации принципов QbD был предложен ряд методов. В частности, в самом начале этапа разработки ЛС, в поисковых исследованиях, для реализации QbD как в исследовательских, так и в промышленных условиях были внедрены методы математического моделирования. Среди них наиболее широко используется метод Design of Experiments (DoE) [17].

Несмотря на наличие международных руководств и стандартов, в России этап разработки ЛС является наименее систематизированным из всех этапов жизненного цикла ЛС. На практике систематизация этапа разработки ЛС осложняется тем, что он начинается с момента поиска молекулы, продолжается вплоть до клинических испытаний и может занимать от 6 до 12 лет. При этом в этапе разработки ЛС участвуют целых 3 вида лабораторий: доклиническая, аналитическая и технологическая.

Доклинические исследования (ДКИ) на этапе разработки ЛС носят поисковый характер и напрямую не подпадают под требования Good laboratory practice (GLP), предъявляемые к предрегистрационным исследованиям. Как правило, ДКИ этапа разработки ЛС выполняются в рамках научно-исследовательских работ (НИР). Требования и контроль к выполнению НИР осуществляет непосредственный заказчик данной работы. Внешнее регулирование качества поискового этапа отсутствует, за исключением требований, предъявляемых к оформлению результатов НИР [18]. Однако результаты поискового этапа являются основой для выбора наиболее эффективного и безопасного «кандидата» в ЛС. Ошибка на данном этапе может стоить как минимум финансовых и временных потерь, как максимум – здоровья и безопасности пациентов на этапах клинических испытаний. Существует

ряд рекомендаций и руководств по выполнению поисковых исследований, большинство из которых составляют понятие «Good research practice» [19, 20]. Однако данная система носит рекомендательный характер, система регулирования не сформирована, поэтому качество поисковых исследований полностью зависит от уровня ответственности и компетентности их исполнителя и заказчика.

Аналитическая и технологическая лаборатории выполняют разработку технологий производства фармацевтических субстанций, разработку составов и технологий производства лекарственных препаратов. Принципы работы аналитической лаборатории схожи с таковыми принципами лаборатории контроля качества. Поэтому к данным лабораториям могут применяться требования идентичные лабораториям контроля качества (см. раздел «Организация СМК лабораторий контроля качества»). Однако функционал аналитической лаборатории на этапе разработки ЛС шире такового лаборатории контроля качества, где основной целью является оценка соответствия фармакопейной статье или спецификации. В процессе разработки нового ЛС аналитические лаборатории выполняют исследования, позволяющие подготовить проекты нормативной документации (спецификации, ФСП и др.), а затем оценить соответствие наработанных опытных образцов нового ЛС на соответствие данной документации. Внешний контроль и регулирование качества работ аналитической и технологической лабораторий на этапе разработки ЛС в России отсутствуют.

Разработка ЛС является междисциплинарным процессом, в котором используются достижения смежных областей науки: геномики, протеомики, биохимии, молекулярной биологии, медицины, фармакологии, компьютерного моделирования. В связи с чем особую актуальность приобретает необходимость четкой регламентации профессиональных компетенций специалистов, участвующих во всех этапах жизненного цикла ЛС [21].

Таким образом, наличие системы менеджмента качества, основанной на актуальных международных стандартах и высокий уровень внедрения данной системы, являются показателями компетентности работы доклинических, аналитических и технологических лабораторий. Данные факторы могут рассматриваться как критерии выбора поставщика услуг для спонсоров, а также маркеры для рейтинга соответствующих видов лабораторий.

Для создания интегральной системы менеджмента качества в доклинических, аналитических и технологических лабораториях целесообразно использовать принципы, отраженные в ICH Q8 (QbD), ICH Q9, ICH Q10, Good research practice и GLP, а также базовые принципы менеджмента качества ИСО 9001 [22]. Эффективность практического применения, созданной на базе данных стандартов интегральной системы менеджмента качества, обеспечит наиболее высокий уровень качества лабораторных исследований ЛС в целом.

## Обеспечение качества на этапе доклинических исследований

Доклинические исследования (ДКИ) выполняются с целью выбора оптимальных кандидатов в ЛС, поиска эффективных и безопасных доз для применения у человека. Как уже было описано в предыдущем разделе, ДКИ осуществляются и на этапе разработки ЛС (поисковые исследования), однако основная часть ДКИ приходится на этап оценки безопасности на животных с целью инициации клинической разработки. На этом этапе ДКИ должны быть выполнены в строгом соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP). Требования к работе лабораторий, осуществляющих ДКИ, установлены в нормативных актах Евразийского экономического союза [7], в законе № 61-ФЗ (глава 5, ст. 11) [6], а также в документах OECD series on principles of good laboratory practice and compliance monitoring [23]. ДКИ осуществляются с использованием тест-систем: клетки и ткани, лабораторные животные и др.

В сравнении с процессами производства ЛС, где активно используются системы управления, включая фармацевтическую систему качества (ФСК) [24], которые отличаются высокой степенью нормативного регулирования, деятельность в области ДКИ менее регламентирована. На взгляд ряда авторов, это существенно повышает риски невыполнения основной задачи – получения доказательств безопасности, качества и эффективности ЛС – и актуализирует проблему внедрения менеджмента риска в представленную сферу деятельности [25].

Активное внедрение СМК российскими доклиническими лабораториями началось с 2016 года, с момента появления Решения ЕЭК № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики ЕАЭС в сфере обращения лекарственных средств». Причиной ускорения процесса внедрения СМК в доклинических лабораториях, вероятно, явилось то, что Решение ЕЭК № 81 является обязательным к исполнению и подробно регламентирует систему обеспечения качества для доклинических лабораторий. Но несмотря на его введение, среди доклинических лабораторий отсутствует единое понимание организации СМК.

Ведущими отечественными доклиническими лабораториями были предприняты попытки проанализировать отечественные и международные регламентирующие документы в сфере управления качеством и создать на их основании свою эффективную СМК. Большинство из них в качестве базиса для построения СМК были взяты принципы стандарта ISO 9001 [25–27]. Большой вклад в разъяснение принципов СМК в доклинических лабораториях внесли ГОСТы 33044-2014 [28] и 31883-2012 [29], которые являются переводом аутентичных зарубежных руководств о правилах GLP и обеспечении качества ДКИ в соответствии с данными правилами.

С целью создания эффективной СМК рядом авторов были также рассмотрены подходы к менеджменту

качества с позиций управления рисками [30]. Другими авторами была рассмотрена целесообразность создания в доклинической лаборатории системы управления, интегрирующей подходы СМК, менеджмент рисков, а также системы управления охраной труда (СУОТ) [25].

Подобные аналитические статьи стали появляться в отечественных изданиях преимущественно последние 5 лет, однако их количество пока невелико. Несмотря на заинтересованность и теоретическую проработку подходов к внедрению СМК [31], с практической точки зрения доклиническим лабораториям предстоит большая работа в этой сфере.

### **Обеспечение качества в биоаналитической лаборатории**

Биоаналитическая лаборатория «вступает в игру» на этапе клинических испытаний ЛС. В связи с чем к данному виду лабораторий применимы требования Правил надлежащей клинической практики (Решение ЕЭК № 79) [32], где в общих чертах описывается необходимость обеспечения и контроля качества, однако в основном речь идет о клинико-диагностических лабораториях. В настоящее время в России проводятся преимущественно исследования воспроизведенных ЛС. В связи с чем большую часть работ биоаналитической лаборатории составляют работы в рамках исследований биоэквивалентности, к которым применимы правила Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов (Решение ЕЭК № 85 от 3 ноября 2016 г.) [33]. В частности, наиболее подробно правила работы биоаналитических лабораторий представлены в Приложении N 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов» Решения ЕЭК № 85.

Однако в данных документах описаны частные вопросы, не раскрывающие методологию организации СМК в биоаналитической лаборатории. В определенной степени, к данному виду лабораторий, может быть применен ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий» [4].

Следует отметить, что исследования биоэквивалентности составляют лишь часть работ биоаналитической лаборатории. Ее задачами являются определение фармакокинетических свойств ЛС (ADMET: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity) с последующей разработкой и валидацией биоаналитических методик для определения фармакокинетики ЛС. Помимо исследований биоэквивалентности (где параметры фармакокинетики референтного препарата заведомо известны), биоаналитическая лаборатория выполняет исследовательскую работу, в результате которой определяет ранее неизвестные параметры. Следовательно, так же как и доклиническая, и в отличие от лаборатории контроля качества,

биоаналитическая лаборатория не является организацией по оценке соответствия.

Ведущими экспертами отмечаются пробелы в регулировании качества биоаналитических исследований в России [34]: «В то время как ДКИ безопасности в целом регулируются согласно правилам GLP, то требования к биоаналитическим исследованиям в России не регламентированы. Спонсоры могут потребовать от лабораторий сертификаты GMP, GCP, GLP, сертификат ИСО 9001 или аккредитацию по ГОСТ 17025. Наиболее крупные ведущие лаборатории сертифицируются добровольно. Однако государственное регулирование для биоаналитических лабораторий отсутствует. В то время как в Европе и Америке биоаналитические лаборатории инспектируются регулярно [35]. И при обнаружении существенных несоответствий регулятор может отозвать регистрационное удостоверение». В докладе Василия Казей «К вопросу об обеспечении прозрачности и контроля КИ/БЭ дженериков» [36] были рассмотрены случаи фальсификации данных в ряде биоаналитических лабораторий, когда плазма крови разливалась на 2 пробирки и выдавалась за образцы двух этапов исследования, а также случаи, когда референтный препарат давали добровольцам на двух этапах исследования, заменяя им исследуемый препарат. Отмеченные авторами случаи ставят под сомнение подход к понятию качества биоаналитических исследований в России в целом.

Несмотря на определенные расхождения, в мировом сообществе принято считать, что биоаналитический этап клинических исследований должен регулироваться правилами GLP с некоторыми уточнениями [35, 37]. Как описано в EMA Reflection paper for laboratories that perform the analysis or evaluation of clinical trial samples [38]: «В отсутствие какого-либо исчерпывающего руководства, изданного регуляторными или контрольными органами для лабораторий, осуществляющих анализ и оценку образцов из клинических исследований, некоторые лаборатории применяют принципы GLP. Ряд аспектов GLP применимы к анализу клинических образцов. Однако следует отметить, что сфера применения GLP разработана для ДКИ и, следовательно, не принимает во внимание все вопросы, которые могут повлиять на безопасность и права субъектов клинического исследования».

По открытым данным в России ежегодно проводится более 300 исследований биоэквивалентности. Важнейшим условием получения достоверных результатов данных исследований является контроль за качеством как на этапе планирования, так и на всех этапах выполнения данных исследований [39, 40].

Таким образом, для построения СМК биоаналитических лабораторий, также как и для доклинических, в отсутствие четкой регламентации, необходим комплексный подход к нормативным документам. Эффективным решением данного вопроса может явиться интегральная СМК.

## Обеспечение качества в клиничко-диагностической лаборатории

Клиничко-диагностические лаборатории в жизненном цикле ЛС выполняют функцию мониторинга объективных данных состояния добровольцев на этапе клинических испытаний (клинический анализ крови, мочи, биохимические исследования и др.). Такую лабораторию следует рассматривать как неотъемлемого участника жизненного цикла ЛС, так как этот вид лабораторий дает основания для выводов об эффективности и безопасности ЛС на этапах клинических испытаний. К данному виду лабораторий применимы требования надлежащей клинической практики (GCP), а также отчасти могут применяться и GLP. Однако ввиду «разрыва» в нормативном регулировании между GLP и GCP Ассоциацией качества исследований (RQA) в 2003 г. было предложено руководство по устранению этого разрыва [41]. На основании этого предложения Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) ввела понятие Good Clinical Laboratory Practice (GCLP), призванное стать ценным инструментом для улучшения и обеспечения качества лабораторной практики в клинических испытаниях, надежности, качества и целостности работы и результатов клинических испытаний [42, 43].

Согласно Правилам надлежащей клинической практики (GCP, Решение ЕЭК № 79) [32], с момента начала клинических испытаний ответственность за качество, достоверность и целостность данных возлагается на спонсора исследования, а функционально – на монитора. При этом такие лаборатории преимущественно работают как подрядные организации и выполняют большое количество других функций, помимо клинических испытаний ЛС, что усложняет оценку функционирования их СМК со стороны спонсора.

Один из основных нормативных документов, используемых клиничко-диагностическими лабораториями, это ГОСТ Р ИСО 15189-2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности». Данный ГОСТ основан на ИСО/МЭК 17025 [4] и ИСО 9001 [22] и служит инструментом лабораторий для разработки собственных СМК и для оценки собственной компетентности [44].

Описание требований к СМК клиничко-диагностической лаборатории также содержится в ГОСТ Р 53022-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований» [45], ГОСТ Р 53079-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований» [46] и ГОСТ Р 53133-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований» [47].

ГОСТ Р 53079-2008 устанавливает правила организации системы управления качеством, включая систему административного управления и документаци-

ии, регламентирующей деятельность клиничко-диагностических лабораторий медицинских организаций всех форм собственности.

ГОСТ Р 53133-2008 подробно описывает внутрилабораторный контроль качества в системе управления качеством клинических лабораторных исследований и комплексную систему контроля качества клинических лабораторных исследований.

ГОСТ Р ИСО 15189-2009, ГОСТ Р ИСО 53079-2008 и ГОСТ Р ИСО 53022-2008, уточняющие внедрение ГОСТ Р ИСО 9001 в лабораторной медицине, представляют инструмент для эффективного управления ключевыми процессами [22, 44–46]. основополагающим документом клиничко-диагностической лаборатории является «Руководство по качеству» [22, 46].

Обилие нормативных документов, регламентирующих СМК клиничко-диагностических лабораторий, по мнению представителей отрасли, обуславливает затруднения в правильной организации их СМК [48].

В ряде стран ЕАЭС [49] отмечается низкая осведомленность специалистов о базовых требованиях к СМК. Так, согласно данным социологического опроса специалистов клиничко-диагностических лабораторий Казахстана (110 респондентов) 39,1 % всех опрошенных не знают основные нормативные документы, регламентирующие работу клиничко-диагностических лабораторий.

Основная трудность, с которой сталкиваются клиничко-диагностические лаборатории, состоит в понимании того, каким образом на практике в конкретной организации внедрить систему управления качеством [50]. С этой целью ВОЗ было утверждено руководство в виде веб-сайта «Инструмент поэтапного внедрения качества в лаборатории» (ПВКЛ) [51, 52]. Данный инструмент призван помочь лабораториям эффективно внедрить систему управления качеством.

О. В. Лянг и соавторы утверждают, что в России нет национальной системы оценки соответствия стандартам качества (ни обязательной, ни добровольной) для медицинских организаций и лабораторий, что очень усложняет внедрение системы управления качеством. Решением сложившейся ситуации некоторые эксперты видят внедрение системы аккредитации медицинской деятельности или изменение лицензионных требований (например, с введением предварительных и проверочных требований) и организацию системы подготовки и оценки экспертов по ГОСТ Р ИСО 15189 [50].

Система аккредитации предполагает, как правило, оценку соответствия каждому отдельно взятому нормативному документу. При этом СМК представляет собой сложную систему, основанную на целом комплексе регламентирующих стандартов. Аккредитация на соответствие каждому из них потребует от лабораторий большого расхода временных и финансовых ресурсов. В связи с чем в данном случае, так же как и с

другими видами лабораторий, целесообразно рассмотреть интегральную модель СМК.

Следует акцентировать, что основным результатом лабораторных исследований в рамках жизненного цикла ЛС являются данные эффективности, безопасности и фармакокинетики ЛС. А основными критериями качества деятельности лаборатории являются прозрачность, достоверность и целостность данных, что и является главной целью СМК лаборатории.

### **Организация СМК лабораторий контроля качества**

Лаборатории контроля качества (КК) занимают особое место в жизненном цикле ЛС. Этот вид лабораторий обязательно присутствует на производстве ЛС (в составе отдела КК) и уже на этапе реализации ЛС (внешние лаборатории КК). Данные лаборатории являются «гарантами и смотрителями» выпуска и оборота качественных и безопасных ЛС.

По характеру выполняемых задач (см. таблицу 1) лаборатории КК можно в полной мере отнести к организациям, осуществляющим оценку соответствия, и характеризовать этот вид лабораторий термином «испытательная лаборатория». Требования к данным видам лабораторий представлены в ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 [4]. Данный ГОСТ тесно связан с другими нормативными документами системы ISO/IEC. В нем описано, что система менеджмента лаборатории как минимум должна предусматривать: документацию системы менеджмента, управление документами системы менеджмента, управление записями, действия, связанные с рисками и возможностями, улучшения, корректирующие действия, внутренние аудиты и анализ со стороны руководства. При этом ГОСТ 17025-2019 утверждает, что лаборатория, которая установила и поддерживает систему менеджмента в соответствии с требованиями ISO 9001 и способна подтверждать и демонстрировать постоянное выполнение требований разделов 4–7 ГОСТа ISO/IEC 17025-2019, демонстрирует готовность выполнять требования, обозначенные выше. Таким образом, основу требований к СМК лабораторий КК составляет ГОСТ Р ИСО 9001-2015 [22].

Однако помимо серии ГОСТов ISO/IEC, к лабораториям контроля качества в полной мере применимы и правила надлежащих фармацевтических практик (GxP). Так, в Решении ЕЭК № 77 (Правила надлежащих производственных практик, GMP) [53] контролю качества ЛС уделено особое внимание. К лабораториям контроля качества применимы условия фармацевтической системы качества, описанные в главе 1 части 1 Правил GMP ЕАЭС. Кроме этого, в Правилах GMP появляется понятие «**Надлежащая лабораторная практика контроля качества**», а в главе 6 настоящих правил описываются принципы данной практики.

Следует отметить, что для внешних лабораторий КК и лабораторий КК на производстве фактически применимы общими принципами устройства СМК.

Контроль качества лекарственных средств устанавливает приоритет государственного регулирования безопасности, качества и эффективности лекарственных средств при их обращении в соответствии с Федеральными законами РФ «Об обращении лекарственных средств» [6] и «О защите прав потребителей» [54]. Для оценки технического уровня производства и качества лекарственных средств ВОЗ была создана «Система удостоверения качества фармацевтических препаратов в международной торговле» [55].

В 2011 году с целью гармонизации и стандартизации требований к лабораториям КК на международном уровне ВОЗ разработала особое понятие GPCL: «Good Practices for Pharmaceutical Quality Control Laboratories» [56, 57]. Данная практика отдельно описывает СМК для данного вида лабораторий. GPCL призвана создать сеть международных лабораторий контроля качества по единому стандарту. Эти рекомендации призваны быть основой для национальных правил многих стран мира с целью подтверждения достоверности и точности результатов испытаний.

Как видно из описания регулирования лабораторных исследований ЛС, нормативные требования к разным видам лабораторий существенно отличаются, при этом имеют общие основы. В этом случае эффективным решением представляется создание лабораториями интегральной (включающей в себя несколько подсистем) СМК, фундаментальную модель которой предложено рассмотреть в следующем разделе.

### **Модель эффективной СМК лабораторий жизненного цикла ЛС**

Как видно из описания разнообразия нормативных требований, для создания эффективной системы качества лаборатории необходимо разработать и внедрить наиболее гармоничное сочетание подходов, что является непростой задачей для организации.

Потребность во внедрении нескольких разнонаправленных систем менеджмента стала появляться благодаря повышению уровня требований потребителей на насыщаемом мировом рынке. В результате, к началу нынешнего века многие организации как за рубежом, так и в странах ЕАЭС проявляют все больший интерес к интегральным системам менеджмента (ИСМ).

ИСМ – это система менеджмента, отвечающая требованиям двух или более стандартов систем менеджмента и функционирующая как единое целое. К числу наиболее актуальных стандартов, применяемых для формирования ИСМ, можно отнести стандарты ISO серии 14000 для системы экологического менеджмента, стандарты OHSAS (Occupational Health and Safe-

ty Assessment Series) серии 18000 для системы менеджмента промышленной безопасности и охраны труда, стандарт SA (Social Accountability) 8000 для системы социального и этического менеджмента. ИСМ чаще всего формируют на базе требований стандарта ISO 9001, а также с использованием разработанных на основе ISO серии 9000 стандартов для применения в конкретных отраслях. В построении ИСМ используются стандарты, базирующиеся на принципах HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) – анализ рисков и критические контрольные точки [58, 59] и, конечно, принципы надлежащих фармацевтических практик (GLP, GCLP, GCP, GMP, GPCL) [60].

Внедрение ИСМ, созданных с использованием требований разнонаправленных стандартов, в настоящее время является наиболее эффективным способом совершенствования управления организацией.

Следует отметить, что ИСМ все более востребованы среди отечественных организаций [61]. Однако на сегодня не существует единого стандарта, содержащего требования ни к самим ИСМ, ни к их аудиту и сертификации. Некоторые рекомендательные сведения об ИСМ содержатся в документах «Integrated Management System. Definition and Guidance on Structuring» (prepared by the Chartered Quality Institute Integrated Management Special Interest Group) [62], а также в PAS 99:2006 «Specification of common management system requirements as a frame-work for integration» [63]. Исходя из изложенного, целесообразно предположить, что на основе этих документов в скором времени будет разработан новый международный стандарт. Таким образом, можно констатировать, что в настоящее время фаза интегрального менеджмента качества только зарождается, и ее научно-практическая методология для различных отраслей только формируется.

Помимо озвученных выше базовых принципов и стандартов, одним из фундаментов построения системы качества являются принципы управления рисками для качества [14]. По определению, представленному в ICH Q9 (часть 3): «Риск – это совокупность вероятности и тяжести последствий. Другими словами, критичность риска всегда определяется значением вероятности вреда, умноженного на значение тяжести его последствий».

Риск = Вероятность × Тяжесть последствий вреда.

Методология управления рисками в разных организациях может отличаться. Однако все методы оценки рисков основаны на последовательном определении потенциальных опасностей, связанных с объектом оценки («Что может случиться?»), выявлении вероятности их появления («Какова вероятность, что это произойдет?») и оценке возможных последствий («Каковы могут быть последствия?»). Т. е. независимо от применяемого метода мы получаем

ответ на каждый из трех ключевых вопросов, заявленных в ICH Q9. Ответы на эти вопросы приводят к значению риска, которое может быть выражено качественно (риск неприемлемый, серьезный или незначительный) или количественно (величина риска в баллах, таблица 2, рисунок 2) [64].

Таблица 2. Пример количественной оценки риска (в баллах)

Table 2. An example of a quantitative risk assessment (in points)

Вероятность (P) Probability (P)	Последствия вреда (S) Consequences of harm (S)	Риск (P × S) Risk (P × S)	Характеристика риска Risk profile		
			Неприемлемый Unacceptable	Серьезный Serious risk	Незначительный Minor risk
1–10	1–10	1–100	Более 30 More than 30	9–29	Менее 9 Less than 9

		Последствия вреда		
		Низкая	Средняя	Высокая
Вероятность	Низкая	Незначительный риск	Незначительный риск	Серьезный риск
	Средняя	Незначительный риск	Серьезный риск	Неприемлемый риск
	Высокая	Серьезный риск	Неприемлемый риск	Неприемлемый риск

Рисунок 2. Матрица рисков

		Consequences of harm		
		Low	Central	High
Probability	Low	Minor risk	Minor risk	Serious risk
	Central	Minor risk	Serious risk	Unacceptable
	High	Serious risk	Unacceptable	Unacceptable

Figure 2. Risk Matrix

В построении модели эффективной СМК любой лаборатории можно использовать наиболее удобные методы, в том числе и экстраполировать метод, описанный для одного вида лаборатории на другие виды.

Так, например, для клинико-диагностических (медицинских) лабораторий ВОЗ было утверждено Руководство поэтапного внедрения качества в лаборатории (ПКВЛ) [51, 52]. В данном руководстве подробно описаны этапы и уровни СМК, наглядно изображенные в виде пирамиды управления качеством (рисунок 3), а также представлены основные элементы системы качества (рисунок 4).

Данную методологию построения СМК можно с успехом использовать в работе всех видов лабораторий жизненного цикла ЛС.



Рисунок 3. Пирамида «Система управления качеством» [51, 52]

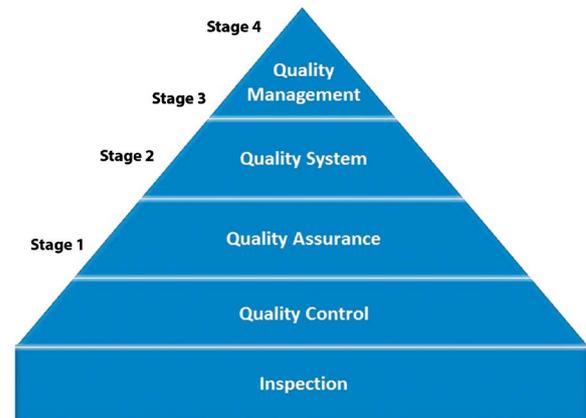


Figure 3. Quality Management System pyramid [51, 52]



Рисунок 4. Основные элементы системы качества (ОЭСК) [51]



Figure 4. The quality system essentials (QSEs) [51]

Таким образом, наиболее эффективной моделью для всех видов лабораторий жизненного цикла ЛС является интегральная система менеджмента качества, основанная на гармоничной системе регламентирующих документов (рисунок 5). Как видно из схемы, в качестве основы для построения СМК любого вида лабораторий можно использовать наиболее универсальный для всех отраслей стандарт качества ISO 9001. Для укрепления данного фундамента целесообразно использовать ключевые элементы управления качеством из документов ICH Q8, Q9 и Q10, как наиболее специфичных для фармацевтической отрасли стандартов. Следующим «этажом» целесообразно выстроить принципы надлежащих фармацевтических практик, имеющие более детальные требования к каждой конкретной отрасли и виду лаборатории и являющиеся обязательными для регуляторного контроля.

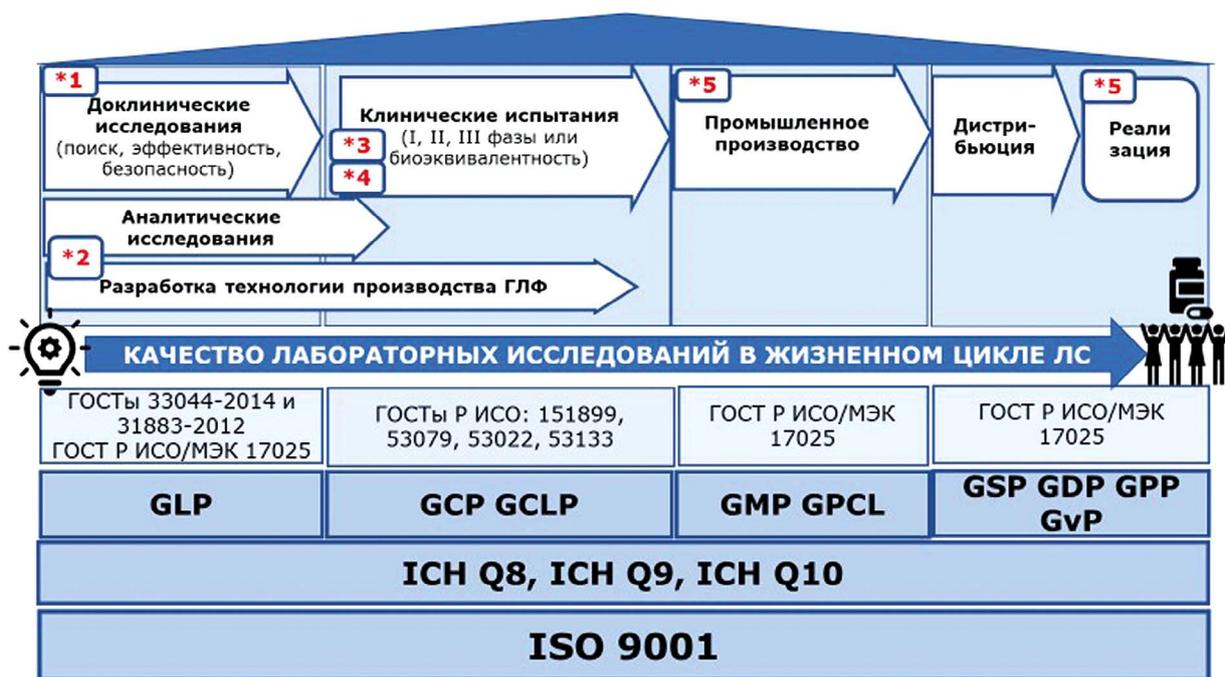
Большинство из описанных выше нормативных документов разработаны и введены в действие более 10 лет назад. Среди профессионального сообщества

зачастую встает вопрос о том, почему же нормативное регулирование качества лабораторных исследований ЛС до сих пор недостаточно четкое.

Как описывают в своей монографии «Промышленная фармацевтика. Путь создания продукта» Ж. И. Аладышева и соавторы [21], в регуляторной практике существует механизм, некогда описанный специалистом в области GMP Дж. Шарпом – правило поднимающейся спирали или «спираль Шарпа» (рисунок 6) [21]. В соответствии с этим принципом инновации в сфере обеспечения качества ЛС первоначально используются отдельными организациями на добровольной основе. Позднее наиболее ценные из них, получившие широкое распространение, становятся обязательными. И именно так эта практика находит отражение в регуляторных требованиях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с российскими требованиями: «Качество лекарственного средства – соответствие лекарственного средства требованиям фармакопейной

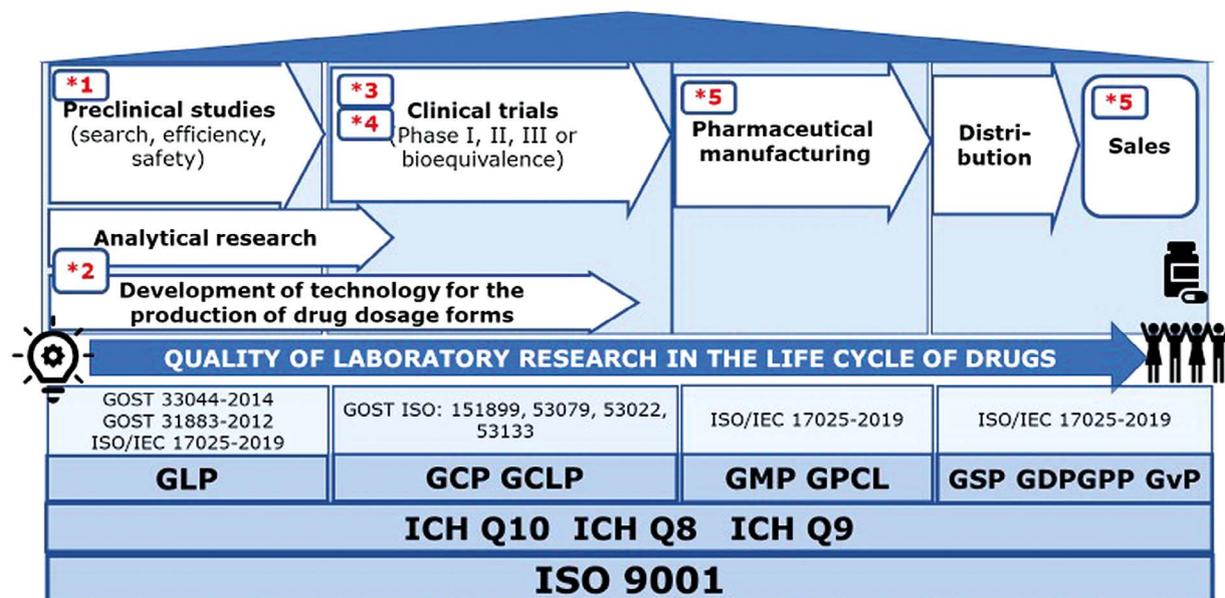


**Виды лабораторий жизненного цикла ЛС:**

- \*1 - Доклиническая исследовательская лаборатория
- \*2 - Аналитическая и технологическая лаборатория
- \*3 - Биоаналитическая лаборатория
- \*4 - Клинико-диагностическая лаборатория
- \*5 - Лаборатория контроля качества.

**Рисунок 5.** Модель интегральной системы менеджмента качества для лабораторий жизненного цикла лекарственных средств.

Виды лабораторий жизненного цикла ЛС: \*1 – доклиническая исследовательская лаборатория; \*2 – аналитическая и технологическая лаборатория; \*3 – биоаналитическая лаборатория; \*4 – клинико-диагностическая лаборатория; \*5 – лаборатория контроля качества



**Types of drug life cycle laboratories:**

- \*1 - Pre-clinical research laboratory
- \*2 - Analytical and technological laboratory
- \*3 - Bioanalytical laboratory
- \*4 - Clinical diagnostic (medical) laboratory
- \*5 - Quality control laboratory

**Figure 5.** Model of an integrated quality management system for laboratories of drug life cycle laboratories.

Types of drug life cycle laboratories: \*1 – pre-clinical research laboratory; \*2 – analytical and technological laboratory; \*3 – bioanalytical laboratory; \*4 – clinical diagnostic laboratory; \*5 – quality control laboratory

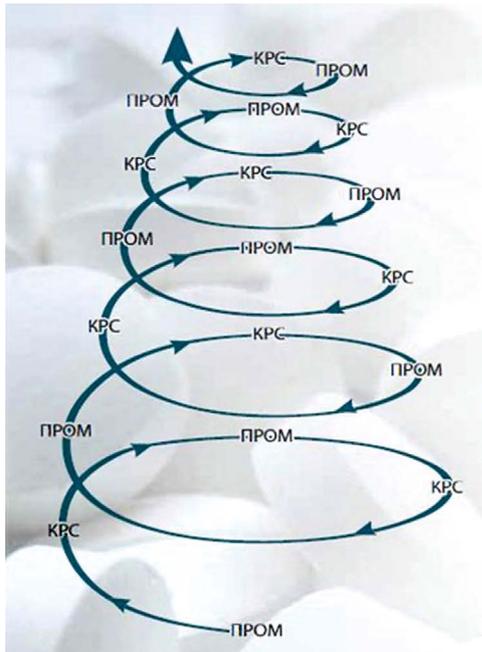


Рисунок 6. «Спираль Шарпа».

Где ПРОМ – промышленность, КРС – контрольно-разрешительная система [21]

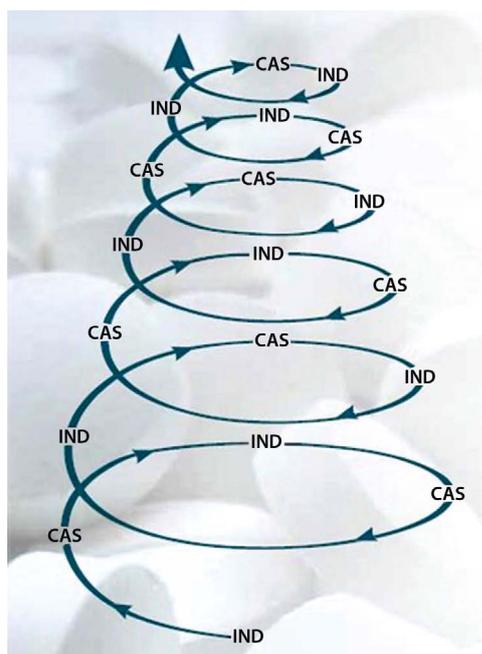


Figure 6. "Sharpe Spiral".

Where IND – industry, CAS – control and authorization system [21]

статьи либо, в случае ее отсутствия, нормативной документации или нормативного документа» [6]. Однако в международных источниках определения данного термина, как правило, основаны на клинической ценности лекарственных препаратов.

Конечной целью лабораторных исследований, как и других этапов жизненного цикла ЛС, является обеспечение качества и безопасности ЛС для челове-

ка. Ошибка, допущенная в одном из лабораторных исследований, может стоить больших финансовых потерь, а может обернуться катастрофой для здоровья или жизни человека, о чем свидетельствуют примеры из истории фармации [65].

Система качества лабораторных исследований служит базовым инструментом для достижения конечной цели – клинической ценности ЛС – и призвана гарантировать минимизацию рисков для пациентов. При этом каждый этап жизненного цикла ЛС обеспечивает решение конкретной задачи на пути к этой цели, что необходимо учитывать при построении СМК в каждом из видов лабораторий. Спектр нормативных документов и систем внешней оценки (аккредитация, сертификация, инспекционный контроль и др.) в сфере отечественных лабораторных исследований достаточно многообразен. В связи с этим лабораториям целесообразно выстроить гармоничную систему менеджмента качества, основанную на приоритетах в соответствии с целями и задачами. Наиболее эффективным методом для построения такой системы является модель интегральной системы менеджмента.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон Российской Федерации № 184-ФЗ от 27.12.2002 г. «О техническом регулировании». Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_40241/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_40241/) Ссылка активна на 26.07.2021.
2. СДА-06-2009 «Термины и определения, используемые в Единой системе оценки соответствия в области промышленной, экологической безопасности, безопасности в энергетике и строительстве». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/902356361>. Ссылка активна на 26.07.2021.
3. СДА-15-2009. «Требования к испытательным лабораториям». Доступно по: <http://www.normacs.ru/Doclist/doc/VJFV.html>. Ссылка активна на 26.07.2021.
4. ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166732>. Ссылка активна на 26.07.2021.
5. ГОСТ ISO/IEC 17000-2012 «Оценка соответствия. Словарь и общие принципы». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200100949>. Ссылка активна на 26.07.2021.
6. Федеральный закон Российской Федерации № 61-ФЗ от 12.04.2010 г. «Об обращении лекарственных средств». Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/) Ссылка активна на 26.07.2021.
7. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026101>. Ссылка активна на 26.07.2021.
8. Феофилова А. Е., Фотеева А. В., Ростова Н. Б. Современные концепции фармацевтической разработки в условиях перехода к единому регулированию сферы обращения лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(4):171–179. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-4-171-179.
9. Рожнова С. А., Цыпкина А. В. Анализ системы организации фармацевтической разработки лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(3):170–176.
10. Singh H., Khurana L. K., Singh R. Chapter 3. Pharmaceutical development. In: *Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research*. London: Academic Press; 2018. P. 33–46.
11. Torres M. Challenges in implementing quality by design: An industry perspective. *Bioprocess International*. 2015. Available at: <https://bioprocessintl.com/analytical/downstream-development/>

- challenges-in-implementing-quality-by-design-an-industry-perspective/
12. Singh L., Sharma V. Quality by Design (QbD) approach in pharmaceuticals: status, challenges and next steps. *Drug Delivery Letters*. 2015;5(1):2–8.
  13. Guideline I. C. H. H. T. Pharmaceutical Development Q8 (R2). Current step 4. 2009. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/Q8\\_R2\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf). Accessed: 26.07.2021.
  14. Guideline I. C. H. H. T. Quality risk management Q9. Current step 4. 2005. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/Q9\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/Q9_Guideline.pdf). Accessed: 26.07.2021.
  15. Guideline I. C. H. H. T. Pharmaceutical quality system Q10. Current Step 5. 2008. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human_en.pdf). Accessed: 26.07.2021.
  16. Lawrence X. Yu., Amidon G., Khan M. A., Hoag S. W., Polli J., Raju G. K., Woodcock J. Understanding pharmaceutical quality by design. *The AAPS journal*. 2014;16(4):771–783. DOI: 10.1208/s12248-014-9598-3.
  17. Politis S. N., Colombo P., Colombo G., M. Rekkas D. M. Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development. *Drug development and industrial pharmacy*. 2017;43(6):889–901. DOI: 10.1080/03639045.2017.1291672.
  18. ГОСТ 7.32-2017 СИБИД «Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200157208>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  19. Bupalov A., Michel M. C., Steckler T. Good research practice in non-clinical pharmacology and biomedicine. Basingstoke: *Springer Nature*; 2020. 423 p.
  20. Guillén J., Steckler T. Good Research Practice: Lessons from Animal Care and Use. *Good Research Practice in Non-Clinical Pharmacology and Biomedicine*. 2019:367–382. DOI: 10.1007/164\_2019\_292.
  21. Аладышева Ж. И., Беляев В. В., Береговых В. В., Бркич Г. Э., Грейбо С. В., Демина Н. Б., Джурко Ю. А., Ивановский С. А., Николенко Н. С., Комиссарова В. А., Корсаков М. К., Лаврентьева Л. И., Мешковский А. П., Мирошников А. Е., Онегин С. В., Парфенов А. А., Поздняков Н. О., Поройков В. В., Пятигорская Н. В., Пятигорский А. М., Раков А. А., Сидоров А. В., Спицкий О. Р., Трубников А. А., Хохлов А. А., Хохлов А. Л., Чикина И. В., Шабалина М. М., Шабров В. Н., Шитов Л. Н., Яичков И. И. Промышленная фармация. Путь создания продукта. Москва: Российская академия наук; 2019. 394 с.
  22. ГОСТ Р ИСО 9001-2015 «Системы менеджмента качества. Требования». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200124394>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  23. OECD series on principles of good laboratory practice and compliance monitoring-ENV/MC/CHEM-98-17. Organisation for Economic and Co-Operation Development-OECD. 1998. Available at: [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/mc/chem\(98\)17&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/mc/chem(98)17&doclanguage=en). Accessed: 26.07.2021.
  24. Смирнов В. А., Горячкин В. В., Шестаков В. Н., Абрамович Р. А. Методические рекомендации по содействию внедрению фармацевтических систем качества на предприятиях ЕАЭС через управление вовлеченностью производственного персонала. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):136–141. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-136-141.
  25. Зайцева М. А., Иванов М. Б., Верведа А. Б., Лянгинен Л. В. Менеджмент риска доклинических исследований в составе интегрированной системы менеджмента организации. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2020;8(1):36–42. DOI: 10.30895/2312-7821-2020-8-1-36-42.
  26. Наркевич И. А., Флисюк Е. В., Шигарова Л. В., Москвин А. В. Распространение системы менеджмента качества на научную деятельность. *Экономика качества*. 2016;4(16):1–8.
  27. Наркевич И. А., Флисюк Е. В., Москвин А. В., Шигарова Л. В., Ивкин Д. Ю., Ивкина А. С. Сертификация на соответствие требованиям ИСО 9001 как первый этап внедрения надлежащей лабораторной практики в Центре экспериментальной фармакологии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;1:226–230.
  28. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200115791>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  29. ГОСТ 31883-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Обеспечение качества в соответствии с Принципами GLP». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200101517>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  30. Бузова Е. Д., Ходько С. В., Гущина С. В., Макарова М. Н., Макаров В. Г. Управление рисками для обеспечения качества доклинических исследований лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2017;7(1):25–31.
  31. Knight L. A., Cree I. A. Quality assurance and good laboratory practice. *Methods in Molecular Biology*. 2011:115–124. DOI: 10.1007/978-1-61779-080-5\_10.
  32. Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 79 от 3.11.2016 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026110>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  33. Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 85 от 3.11.2016 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  34. Перспективы развития системы GLP в России и ЕАЭС. Доступно по: <https://gxpnews.net/2020/10/perspektivy-razvitiya-sistemy-glp-v-rossii-i-eaes/> Ссылка активна на 26.07.2021.
  35. Haidar S. H., Scheibner K. A. Bioanalytical Inspections: organizational changes and regulatory perspectives. *Bioanalysis*. 2016;8(10):999–1002. DOI: 10.4155/bio-2016-0052.
  36. Казей В. И. К вопросу об обеспечении прозрачности и контроля КИ/БЭ дженериков. В сб.: Международная научно-практическая конференция «Разработка и регистрация лекарственных средств. Исследование препаратов по правилам ЕАЭС». 6 декабря 2020. Москва. 2020.
  37. Подпругников Ю. В. Проведение биоаналитических исследований в соответствии с требованиями GLP. *Вісник фармакології та фармацевції*. 2009;2:33–39.
  38. EMA Reflection paper for laboratories that perform the analysis or evaluation of clinical trial samples, EMA/INS/GCP/532137/2010. February 2012.
  39. Хохлов А. Л., Лилеева Е. Г. Анализ качества проведения исследований биоэквивалентности и фармакокинетики в России. *Качественная клиническая практика*. 2016;(2):64–70.
  40. Patel S., Huang Q. M., Jian W., Edom R., Weng N. Overview: Fundamentals of a Bioanalytical Laboratory. *Handbook of LC-MS Bioanalysis*. 2013:15–27. DOI: 10.1002/9781118671276.ch2.
  41. Stevens W. Good clinical laboratory practice (gclp): the need for a hybrid of good laboratory practice and good clinical practice guidelines/standards for medical testing laboratories conducting clinical trials in developing countries. *Quality Assurance*. 2003; 10(2):83–89. DOI: 10.1080/10529410390262727.
  42. WHO Good Clinical Laboratory Practice (GCLP). Available at: <https://www.who.int/tdr/publications/documents/gclp-web.pdf>. Accessed: 26.07.2021.
  43. Todd C. A., Sanchez A. M., Garcia A. Thomas N. Denny, Sarzotti-Kelsoe M. Implementation of Good Clinical Laboratory Practice (GCLP) guidelines within the External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (EQAPOL). *Journal of Immunological Methods*. 2014;409:91–98. DOI: 10.1016/j.jim.2013.09.012.
  44. ГОСТ Р ИСО 15189-2009 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200077769>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  45. ГОСТ Р ИСО 53022 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований». Часть 1–4. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200068114>. Ссылка активна на 26.07.2021.
  46. ГОСТ Р ИСО 53079-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований». Часть 1–4. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200068744>. Ссылка активна на 26.07.2021.

47. ГОСТ Р 53133.2-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований». Часть 1–4. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200072567>. Ссылка активна на 26.07.2021.
48. Долгих Т. И. Система менеджмента качества в медицинской лаборатории: проблемные вопросы внедрения ГОСТ Р ИСО 9001-2008, ГОСТ Р ИСО 15189-2009 и ГОСТ Р ИСО 53079-2008. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013;4:49–51.
49. Утарбаева И. К., Тунгишбаев М. Система менеджмента качества в клинико-диагностических лабораториях. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2015;4:364–365.
50. Лянг О. В., Черничук О. В., Рысенкова Е. Ю., Жирова И. А., Кочетов А. Г. Проблемы управления качеством лабораторных исследований в России. *Лабораторная служба*. 2017;6(2):33–37.
51. Задачи четырех этапов инструмента ПВКЛ. Доступно по: <https://extranet.who.int/lqsi/ru/content/задачи-четырёх-этапов-инструмента-пвкл>.
52. Управление качеством. Доступно по: <https://extranet.who.int/lqsi/ru/node/526>. Ссылка активна на 26.07.2021.
53. Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 77 от 03.11.2016 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026099>. Ссылка активна на 26.07.2021.
54. Федеральный закон РФ № 2300-1 от 07.02.1992 «О защите прав потребителей». Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_305/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_305/) Ссылка активна на 26.07.2021.
55. Правила производства и контроля качества лекарственных средств и система удостоверения качества фармацевтических препаратов в международной торговле. Доступно по: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/101206>. Ссылка активна на 26.07.2021.
56. WHO Technical Report Series No. 1003, 2017. Available at: [https://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/expert\\_committee/WHO\\_TRS\\_1003\\_full-version.pdf?ua=1](https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/expert_committee/WHO_TRS_1003_full-version.pdf?ua=1). Accessed: 26.07.2021.
57. WHO Technical Report Series, No. 957, 2010. Available at: [https://www.who.int/medicines/publications/TRS957\\_2010.pdf](https://www.who.int/medicines/publications/TRS957_2010.pdf). Accessed: 26.07.2021.
58. Hulebak K. L., Schlosser W. Hazard analysis and critical control point (HACCP) history and conceptual overview. *Risk analysis*. 2002;22(3):547–552. DOI: 10.1111/0272-4332.00038.
59. Шестаков В. Н., Подпужников Ю. В. Что такое хорошо и что такое плохо в фармацевтическом производстве. М.: ФБУ «ГИЛС и НП»; 2017. 180 с.
60. Korčok D., Tršić-Milanović N., Mitić B., Karadžić N. The importance of integrated management systems in pharmacy. *Tehnika*. 2020;75(1):120–124. DOI: 10.5937/tehnika2001120k.
61. Яремчук А. А., Александров А. В. Актуальность внедрения интегрированных систем менеджмента на фармпредприятиях. *Ремедиум. Журнал о рынке лекарств и медицинской техники*. 2007;7:37–39.
62. Dallingl. Integrated Management Definition. CQIIMSIG. 2007. N.2.1.
63. PAS B. S. Specification of common management system requirements as a framework for integration. 2012.
64. Александров А. В. Фактор субъективности при оценке риска по качеству. *Фармацевтическая отрасль*. 2001;5(28):116–119.
65. Kim J. H., Scialli A. R. Thalidomide: the tragedy of birth defects and the effective treatment of disease. *Toxicological sciences*. 2011;122(1):1–6. DOI: 10.1093/toxsci/kfr088.
66. rial, environmental safety, safety in energy and construction". Available at: <https://docs.cntd.ru/document/902356361>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
3. SDA-15-2009. "Trebovaniya k ispytatel'nykh laboratoriyam" [System of documents for accreditation SDA-15-2009. "Requirements for testing laboratories"] Available at: <http://www.normacs.ru/Doclist/doc/VJFV.html>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
4. GOST ISO/IEC 17025-2019 "Obshchie trebovaniya k kompetentnosti ispytatel'nykh i kalibrovocnykh laboratoriy" [State standard GOST ISO/IEC 17025-2019 "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200166732>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
5. GOST ISO/IEC 17000-2012 "Otsenka sootvetstviya. Slovar' i obshchie printsipy" [State standard GOST ISO/IEC 17000-2012 "Conformity assessment. Vocabulary and general principles"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200100949>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
6. Federal'nyy zakon Rossiyskoy Federatsii № 61-FZ ot 12.04.2010 "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv" [Federal Law of Russian Federation № 61-FZ of 12.04.2010 "On the Circulation of Medicines"]. Available at: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/) Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
7. Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 03.11.2016 № 81 "Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashchey laboratornoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv" [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated 03.11.2016 No. 81 "On approval of the Rules of good laboratory practice of the Eurasian Economic Union in the field of circulation of medicines"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026101>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
8. Feofilova A. E., Foteeva A. V., Rostova N. B. The Modern Concepts of Pharmaceutical Development in the Context of the Transition to a Uniform Regulation of Medicinal Products Circulation. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(4):171-179. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-4-171-179.
9. Rozhnova S. A., Tsyapkina A. V. Analysis of the system organization of pharmaceutical drug development. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2017;(3):170–176. (In Russ.)
10. Singh H., Khurana L. K., Singh R. Chapter 3. Pharmaceutical development. In: *Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research*. London: Academic Press; 2018. P. 33–46.
11. Torres M. Challenges in implementing quality by design: An industry perspective. *Bioprocess International*. 2015. Available at: <https://bioprocessintl.com/analytical/downstream-development/challenges-in-implementing-quality-by-design-an-industry-perspective/> Accessed: 26.07.2021.
12. Singh L., Sharma V. Quality by Design (QbD) approach in pharmaceuticals: status, challenges and next steps. *Drug Delivery Letters*. 2015;5(1):2–8.
13. Guideline I. C. H. H. T. Pharmaceutical Development Q8 (R2). Current step 4. 2009. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/Q8\\_R2\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf). Accessed: 26.07.2021.
14. Guideline I. C. H. H. T. Quality risk management Q9. Current step 4. 2005. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/Q9\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/Q9_Guideline.pdf). Accessed: 26.07.2021.
15. Guideline I. C. H. H. T. Pharmaceutical quality system Q10. Current Step 5. 2008. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human_en.pdf). Accessed: 26.07.2021.
16. Lawrence X. Yu., Amidon G., Khan M. A., Hoag S. W., Polli J., Raju G. K., Woodcock J. Understanding pharmaceutical quality by design. *The AAPS journal*. 2014;16(4):771–783. DOI: 10.1208/s12248-014-9598-3.
17. Politis S. N., Colombo P., Colombo G., M. Rekkas D. M. Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development. *Drug development and industrial pharmacy*. 2017;43(6):889–901. DOI: 10.1080/03639045.2017.1291672.
18. GOST 7.32-2017 SIBID "Otchet o nauchno-issledovatel'skoy rabote. Struktura i pravila oformleniya" [State standard GOST 7.32-2017

## REFERENCES

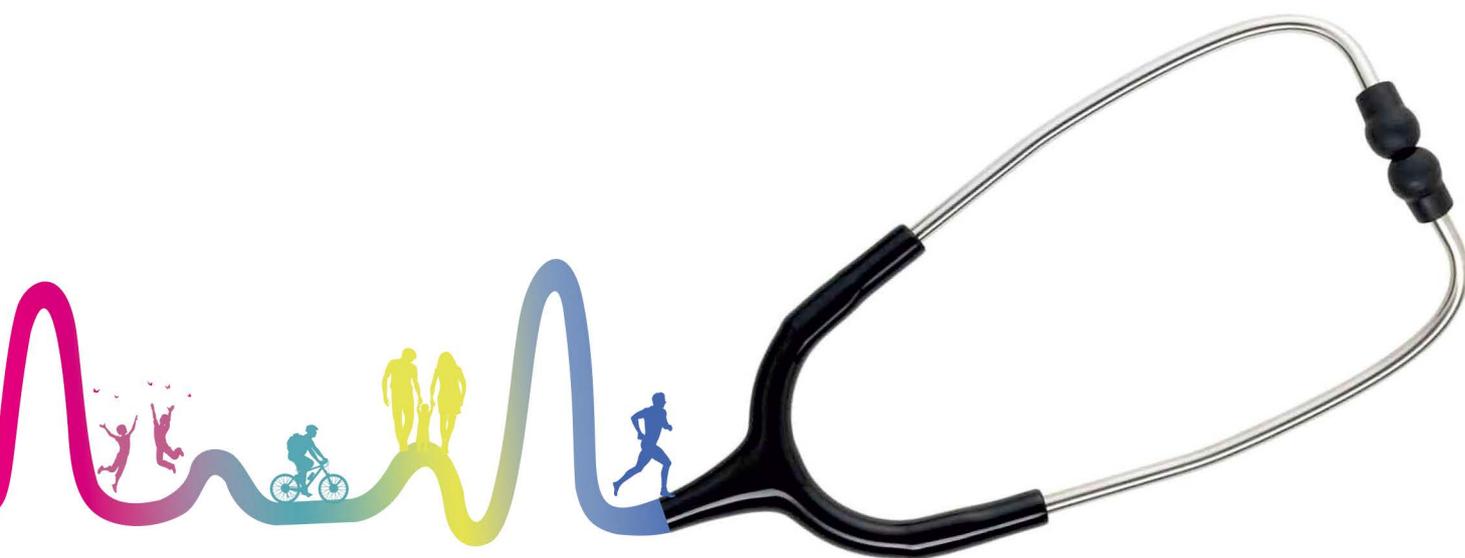
1. Federal'nyy zakon Rossiyskoy Federatsii № 184-FZ ot 27.12.2002 "O tekhnicheskoy regulirovani" [Federal Law of Russian Federation № 184-FZ of 27 December 2002 "On Technical Regulation"]. Available at: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_40241/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_40241/) Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
2. SDA-06-2009 "Terminy i opredeleniya, ispol'zuemye v edinoj sisteme otsenki sootvetstviya v oblasti promyshlennoy, ekologicheskoy bezopasnosti, bezopasnosti v energetike i stroitel'stve" [System of documents for accreditation SDA-06-2009 "Terms and definitions used in the unified conformity assessment system in the field of indust-

- SIBID "Report on research work. Structure and design rules". Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200157208>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
19. Beshpalov A., Michel M.C., Steckler T. Good research practice in non-clinical pharmacology and biomedicine. Basingstoke: *Springer Nature*; 2020. 423 p.
  20. Guillén J., Steckler T. Good Research Practice: Lessons from Animal Care and Use. *Good Research Practice in Non-Clinical Pharmacology and Biomedicine*. 2019;367–382. DOI: 10.1007/164\_2019\_292.
  21. Aladysheva Zh.I., Belyaev V.V., Beregovykh V.V., Brkich G.E., Greybo S.V., Demina N.B., Dzhurko Yu. A., Ivanovskiy S. A., Nikolenko N.S., Komissarova V.A., Korsakov M.K., Lavrent'eva L.I., Meshkovskiy A.P., Miroshnikov A.E., Onegin S.V., Parfenov A.A., Pozdnyakov N.O., Poroykov V.V., Pyatigorskaya N.V., Pyatigorskii A.M., Rakov A.A., Sidorov A.V., Spitskiy O.R., Trubnikov A.A., Khokhlov A.A., Khokhlov A.L., Chikina I.V., Shabalina M.M., Shabrov V.N., Shitov L.N., Yaichkov I.I. *Promyshlennaya farmatsiya. Put' sozdaniya produkta* [Industrial pharmacy. Product creation path]. Moscow: Rossiyskaya akademiya nauk; 2019. 393 p. (In Russ.)
  22. GOST R ISO 9001-2015 "Sistemy menedzhmenta kachestva. Trebovaniya" [State standard GOST R ISO 9001-2015 "Quality management systems. Requirements"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200124394>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  23. OECD series on principles of good laboratory practice and compliance monitoring-ENV/MC/CHEM-98-17. Organisation for Economic and Co-Operation Development-OECD. 1998. Available at: [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/mc/chem\(98\)17&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/mc/chem(98)17&doclanguage=en). Accessed: 26.07.2021.
  24. Smirnov V.A., Goryachkin V.V., Shestakov V.N., Abramovich R.A. Guidelines for Promoting the Implementation of Pharmaceutical Quality Systems at EAEU Enterprises Through the Management of the Engagement of Production Personnel. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(1):136–141. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-136-141.
  25. Zaytseva M. A., Ivanov M. B., Verveda A. B., Lyanginen L. V. Risk Management in Preclinical Trials as Part of an Overall Integrated Quality Management System. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2020;8(1):36–42. (In Russ.) DOI: 10.30895/2312-7821-2020-8-1-36-42.
  26. Narkevich I. A., Flisyuk E. V., Shigarova L. V., Moskvina A. V. *Rasprostraneniye sistemy menedzhmenta kachestva na nauchnyuyu deyatel'nost'* [Extension of the quality management system to scientific activity]. *Ekonomika kachestva*. 2016;4(16):1–8. (In Russ.)
  27. Narkevich I.A., Flisyuk E.V., Moskvina A.V., Shigarova L.V., Ivkin D. Yu., Ivkina A. S. Certification for the conformity of iso 9001 requirements as a first phase of implementation of good laboratory practice in the center of experimental pharmacology. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2018;1:226–230. (In Russ.)
  28. GOST 33044-2014 "Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki" [State standard GOST 33044-2014 "Principles of Good Laboratory Practice"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200115791>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  29. GOST 31883-2012 "Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki (GLP). Obespecheniye kachestva v sootvetstviy s Printsipami GLP" [State standard GOST 31883-2012 "Principles of Good Laboratory Practice (GLP). Quality assurance in accordance with the GLP Principles]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200101517>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  30. Burova E.D., Khodko S.V., Gushchina S.V., Makarova M.N., Makarov V.G. Risk management for quality assurance of preclinical research. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2017;7(1):25–31. (In Russ.)
  31. Knight L.A., Cree I.A. Quality assurance and good laboratory practice. *Methods in Molecular Biology*. 2011:115–124. DOI: 10.1007/978-1-61779-080-5\_10.
  32. Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii № 79 ot 3.11.2016 "Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashchey klinicheskoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza" [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 79 dated November 3, 2016 "On approval of the Rules for Good Clinical Practice of the Eurasian Economic Union"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026110>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  33. Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii № 85 ot 3.11.2016 "Ob utverzhdenii Pravil provedeniya issledovaniy bioekvivalentnosti lekarstvennykh preparatov v ramkakh Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza" [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 85 dated November 3, 2016 "On approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of medicinal products within the framework of the Eurasian Economic Union"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  34. *Perspektivy razvitiya sistemy GLP v Rossii i EAES* [Prospects for the development of the GLP system in Russia and the EAEU]. Available at: <https://gxpnews.net/2020/10/perspektivy-razvitiya-sistemy-glp-v-rossii-i-eaes/> Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  35. Haidar S.H., Scheibner K.A. Bioanalytical Inspections: organizational changes and regulatory perspectives. *Bioanalysis*. 2016;8(10):999–1002. DOI: 10.4155/bio-2016-0052.
  36. Kazey V. I. *K voprosu ob obespechenii prozrachnosti i kontrolya KI/BE dzhenerikov. V sb.: Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya "Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. Issledovanie preparatov po pravilam EAES"* [To the question of the danger of transparency and control of CI/BE of generics. In: International Scientific and Practical Conference "Development and Registration of Medicines. Research of drugs according to the rules of the EAEU"]. 6 December 2020. Moscow. 2020. (In Russ.)
  37. Podpruzhnikov Yu.V. *Provedeniye bioanaliticheskikh issledovaniy v sootvetstviy s trebovaniyami GLP* [Conducting bioanalytical research in accordance with the requirements of GLP]. *Visnik farmakologii ta farmatsii*. 2009;2:33–39. (In Ukrain.)
  38. EMA Reflection paper for laboratories that perform the analysis or evaluation of clinical trial samples, EMA/INS/GCP/532137/2010. February 2012.
  39. Khokhlov A.L., Lileeva E.G. Analysis of the quality of bioequivalence and pharmacokinetics studies in Russian Federation. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*. 2016;(2):64–70. (In Russ.)
  40. Patel S., Huang Q. M., Jian W., Edom R., Weng N. Overview: Fundamentals of a Bioanalytical Laboratory. *Handbook of LC-MS Bioanalysis*. 2013:15–27. DOI: 10.1002/9781118671276.ch2.
  41. Stevens W. Good clinical laboratory practice (gclp): the need for a hybrid of good laboratory practice and good clinical practice guidelines/standards for medical testing laboratories conducting clinical trials in developing countries. *Quality Assurance*. 2003; 10(2):83–89. DOI: 10.1080/10529410390262727.
  42. WHO Good Clinical Laboratory Practice (GCLP). Available at: <https://www.who.int/tdr/publications/documents/gclp-web.pdf>. Accessed: 26.07.2021.
  43. Todd C. A., Sanchez A. M., Garcia A. Thomas N. Denny, Sarzotti-Kelsoe M. Implementation of Good Clinical Laboratory Practice (GCLP) guidelines within the External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (EQAPOL). *Journal of Immunological Methods*. 2014;409:91–98. DOI: 10.1016/j.jim.2013.09.012.
  44. GOST R ISO 15189-2009 "Laboratorii meditsinskie. Chastnye trebovaniya k kachestvu i kompetentnosti" [State standard GOST R ISO 15189-2009 "Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200077769>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  45. GOST R ISO 53022 "Tekhnologii laboratornye klinicheskie. Trebovaniya k kachestvu klinicheskikh laboratornykh issledovaniy" [State standard GOST R ISO 53022 "Technologies for laboratory clinical cues. Requirements for the quality of clinical laboratory research"]. Part 1–4. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200068114>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  46. GOST R ISO 53079-2008 "Tekhnologii laboratornye klinicheskie. Obespecheniye kachestva klinicheskikh laboratornykh issledovaniy" [State standard GOST R ISO 53079-2008 "Clinical laboratory technologies. Quality assurance of clinical laboratory research"]. Part 1–4. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200068744>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  47. GOST R 53133.2-2008 "Tekhnologii laboratornye klinicheskie. Kontrol' kachestva klinicheskikh laboratornykh issledovaniy" [State standard GOST R 53133.2-2008 "Technologies for laboratory clinical

- cues. Quality control of clinical laboratory tests"]. Part 1–4. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200072567>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
48. Dolgikh T. I. The system of quality management in medical laboratory: the problematic issues of implementation of GOST RKS 9001-2008, GOST R ISO 15189-2009 and GOST R ISO 53079-2008. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2013;4:49–51. (In Russ.)
  49. Utarbaeva I. K., Tungishbaev M. *Sistema menedzhmenta kachestva v kliniko-dagnosticheskikh laboratoriyakh* [Quality management system in clinical diagnostic laboratories]. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2015;4:364–365. (In Russ.)
  50. Lyang O. V., Chernichuk O. V., Rysenkova E. Yu., Zhirova I. A., Kochetov A. G. Problems of quality management of laboratory tests in Russia. *Laboratornaya sluzhba = Laboratory Service*. 2017;6(2):33–37. (In Russ.)
  51. *Zadachi chetyrekh etapov instrumenta PVKL* [Tasks of the four stages of the PVCL tool]. Available at: <https://extranet.who.int/lqsi/ru/content/zadachi-chetyrekh-etapov-instrumenta-pvkl>.
  52. *Upravlenie kachestvom* [Quality control]. Available at: <https://extranet.who.int/lqsi/ru/node/526>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  53. *Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii № 77 ot 03.11.2016 "Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashchey proizvodstvennoy praktiki Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza"* [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission № 77 dated 03.11.2016 "On Approval of the Rules of Good Manufacturing Practice of the Eurasian Economic Union"]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026099>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  54. *Federal'nyy zakon RF № 2300-1 ot 07.02.1992 "O zashchite prav potrebitелей"* [Federal Law of the Russian Federation № 2300-1 of 07.02.1992 "On Protection of Consumer Rights"]. Available at: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_305/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_305/). Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  55. *Pravila proizvodstva i kontrolya kachestva lekarstvennykh sredstv i sistema udostovereniya kachestva farmatsevticheskikh preparatov v mezhdunarodnoy torgovle* [Rules for the production and quality control of medicines and the system of certification of the quality of pharmaceuticals in international trade]. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/101206>. Accessed: 26.07.2021. (In Russ.)
  56. WHO Technical Report Series No. 1003, 2017. Available at: [https://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/expert\\_committee/WHO\\_TRS\\_1003\\_full-version.pdf?ua=1](https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/expert_committee/WHO_TRS_1003_full-version.pdf?ua=1). Accessed: 26.07.2021.
  57. WHO Technical Report Series, No. 957, 2010. Available at: [https://www.who.int/medicines/publications/TRS957\\_2010.pdf](https://www.who.int/medicines/publications/TRS957_2010.pdf). Accessed: 26.07.2021.
  58. Hulebak K. L., Schlosser W. Hazard analysis and critical control point (HACCP) history and conceptual overview. *Risk analysis*. 2002;22(3):547–552. DOI: 10.1111/0272-4332.00038.
  59. Shestakov V. N., Podpruzhnikov Yu. V. *Chto takoe khorosho i chto takoe plokho v farmatsevticheskom proizvodstve* [What is good and what is bad in pharmaceutical production]. Moscow: FBU «GILS i NP»; 2017. 180 p. (In Russ.)
  60. Korčok D., Tršić-Milanović N., Mitić B., Karadžić N. The importance of integrated management systems in pharmacy. *Tehnika*. 2020;75(1):120–124. DOI: 10.5937/tehnika2001120k.
  61. Yaremchuk A. A., Aleksandrov A. V. *Aktual'nost' vnedreniya integrirovannykh sistem menedzhmenta na farmpredpriyatiyakh* [Relevance of the implementation of integrated management systems at pharmaceutical enterprises]. *Remedium*. 2007;7:37–39. (In Russ.)
  62. Dallingl. *Integrated Management Definition*. CQIIMSIG. 2007. N.2.1.
  63. PAS B. S. *Specification of common management system requirements as a framework for integration*. 2012.
  64. Aleksandrov A. V. *Faktor sub'ektivnosti pri otsenke riska po kachestvu* [The factor of subjectivity in assessing risk by quality]. *Farmatsevticheskaya otrasl'*. 2001;5(28):116–119. (In Russ.)
  65. Kim J. H., Scialli A. R. Thalidomide: the tragedy of birth defects and the effective treatment of disease. *Toxicological sciences*. 2011;122(1):1–6. DOI: 10.1093/toxsci/kfr088.

# ВЫСТАВКА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ

17-я КАЗАХСТАНСКАЯ МЕЖДУНАРОДНАЯ



 **Astana**  
**ZDOROVIE**

27-29 Октября 2021  
Казахстан, Нур-Султан

[www.astanazdorovie.kz](http://www.astanazdorovie.kz)



ОРГАНИЗАТОРЫ Тел: +7 (727) 2583434; E-mail: [gulzana@iteca.kz](mailto:gulzana@iteca.kz)



<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175>  
УДК 615.322:615.072



Оригинальная статья / Research article

## Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника

Д. А. Жданов\*, В. А. Куркин, В. Б. Браславский, А. И. Агапов

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России), 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

\*Контактное лицо: Жданов Дмитрий Александрович. E-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

ORCID: Д. А. Жданов – <https://orcid.org/0000-0002-8285-6296>; В. А. Куркин – <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>; В. Б. Браславский – <https://orcid.org/0000-0002-6050-3377>; А. И. Агапов – <https://orcid.org/0000-0003-3592-7749>.

Статья поступила: 24.05.2021

Статья принята в печать: 06.08.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** В настоящее время все большую популярность приобретают лекарственные средства растительного происхождения. В этом отношении определенный интерес представляют лекарственные растительные препараты на основе плодов шиповника, оказывающие общеукрепляющее, желчегонное и ренозаживляющее действие, обусловленное наличием аскорбиновой кислоты, флавоноидов и каротиноидов. Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания, определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) проводят только лишь по наличию аскорбиновой кислоты, при этом чувствительность метода не позволяет обнаружить ее в плодах шиповников низковитаминных видов.

**Цель.** Разработка новых подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов с использованием современных методов фармакогностического анализа.

**Материалы и методы.** Образцы плодов шиповника как культивируемые на территориях Самарской области и Республики Марий Эл, заготовленные в 2020 г., так и промышленные образцы различных производителей. Методы ТСХ, УФ/Вид-спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) применяли с целью определения основных групп БАВ.

**Результаты и обсуждение.** С целью подтверждения подлинности плодов шиповника обосновано определение флавоноидов в качестве одной из определяемых групп БАВ наряду с аскорбиновой кислотой. Разработана методика идентификации аскорбиновой кислоты методом УФ/Вид-спектроскопии (максимум поглощения  $264 \pm 2$  нм), а также показана возможность определения данного вещества методом ВЭЖХ.

**Заключение.** В результате фитохимического исследования обоснована целесообразность использования современных подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов, заключающихся в качественном определении аскорбиновой кислоты методами УФ/Вид-спектроскопии и ВЭЖХ, а также рутин методом ТСХ.

**Ключевые слова:** шиповника плоды, *Rosae fructus*, лекарственное растительное сырье, аскорбиновая кислота, флавоноиды, рутин

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Д. А. Жданов занимался сбором и анализом литературных данных. Д. А. Жданов и В. А. Куркин разработали концепцию и методологию исследования. Д. А. Жданов, В. Б. Браславский и А. И. Агапов обработали результаты экспериментальных данных. В. А. Куркин руководил работой. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и подготовке рукописи.

**Для цитирования:** Жданов Д. А., Куркин В. А., Браславский В. Б., Агапов А. И. Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):167–175. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175>

## Actual Aspects of Quality Control and Standardization of Rosehip Fruits

Dmitry A. Zhdanov\*, Vladimir A. Kurkin, Valery B. Braslavsky, Al'bert I. Agapov

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

\*Corresponding author: Dmitry A. Zhdanov. E-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

ORCID: Dmitry A. Zhdanov – <https://orcid.org/0000-0002-8285-6296>; Vladimir A. Kurkin – <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>; Valery B. Braslavsky – <https://orcid.org/0000-0002-6050-3377>; Al'bert I. Agapov – <https://orcid.org/0000-0003-3592-7749>.

Received: 24.05.2021

Revised: 06.08.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Currently, herbal medicines are becoming increasingly popular. In this regard, of particular interest are medicinal herbal preparations based on rosehip fruits, which have a tonic, choleric and wound healing effect due to the presence of ascorbic acid, flavonoids and carotenoids. According to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF) of the XIV edition, the determination of the main groups of biologically active substances (BAS) by thin-layer chromatography (TLC) is carried out only by the presence of ascorbic acid, while the sensitivity of the method does not allow it to be detected in rosehip fruits of low-vitamin species.

**Aim.** Aim is the development of new approaches to control quality and standardization of Rosehip fruits with using of modern pharmacognostic analysis methods.

**Materials and methods.** Prepared in Samara Region, the Republic of Mari El Rosehip fruits samples in 2020 and commercial samples from various manufacturers. TLC, UV/Vis-spectroscopy and high-performance liquid chromatography (HPLC) methods were used for determination the main BAS groups.

© Жданов Д. А., Куркин В. А., Браславский В. Б., Агапов А. И., 2021

© Zhdanov D. A., Kurkin V. A., Braslavsky V. B., Agapov A. I., 2021

**Results and discussion.** The introduction of flavonoids as one of the defined groups of BAS in rosehip fruits along with ascorbic acid was justified. A technique for the identification of ascorbic acid by UV/Vis-spectroscopy (wavelength  $264 \pm 2$  nm) was developed and shown the determination possibility of this substance by HPLC.

**Conclusion.** So phytochemical study results the expediency of the using of modern approaches to quality control and standardization of rosehip fruits, consisting in the qualitative determination of ascorbic acid by UV/Vis-spectroscopy and HPLC, as well as rutin by TLC, was justified.

**Keywords:** Rosehip Fruits, *Rosae fructus*, Medicinal Plant Raw Materials, Ascorbic Acid, Flavonoids, Rutin

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Dmitry A. Zhdanov collected and analyzed the literature data. Dmitry A. Zhdanov and Vladimir A. Kurkin developed the concept and methodology of the study. Dmitry A. Zhdanov, Valery B. Braslavsky and Al'bert I. Agapov processed the results of the experimental data. Vladimir A. Kurkin supervised the work. All authors participated in the discussion of the results and the preparation of the article.

**For citation:** Zhdanov D. A., Kurkin V. A., Braslavsky V. B., Agapov A. I. Actual aspects of quality control and standardization of rosehip fruits. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):167–175. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175>

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на колоссальные успехи фармацевтической химии и фармакологии, использование лекарственных средств растительного происхождения не только не потеряло своей актуальности, но и, напротив, приобретает все большую популярность с каждым годом [1–4]. В этом отношении определенный интерес представляют лекарственные препараты на основе плодов шиповника. В химическом отношении плоды шиповника изучены достаточно хорошо, их состав разнообразен. В них содержатся водорастворимые витамины, среди которых особую ценность представляет аскорбиновая кислота, жирорастворимые витамины (каротиноиды, К<sub>1</sub>, Е), флавоноиды, жиры, органические и фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, углеводы, аминокислоты и др. [5–8].

Большой популярностью в медицинской практике пользуются лекарственные растительные препараты (ЛРП) в расфасованном виде и в виде фильтр-пакетов, а также сироп, холосас, каротолин, масло шиповника и др., оказывающие витаминное, желчегонное и ранозаживляющее действие, обусловленное наличием аскорбиновой кислоты, флавоноидов и каротиноидов [5–8]. Однако, согласно Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания, определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) проводят только лишь по наличию аскорбиновой кислоты, хотя раздел «Количественное определение» предусматривает анализ по трем составляющим: аскорбиновой кислоте, сумме флавоноидов и сумме каротиноидов [9].

В ведущих зарубежных изданиях фармакопеи (Европейская и Британская) подлинность плодов шиповника подтверждают методом ТСХ с использованием стандартного образца (СО) аскорбиновой кислоты и дополнительным указанием на зону адсорбции желтого цвета в верхней трети части пластины,

соответствующей каротиноидам [10, 11]. Количественный анализ предусмотрен только для аскорбиновой кислоты методом УФ/Вид-спектроскопии (анализ метанольного извлечения после реакции с растворами дихлорфенолиндофенола и сернокислого динитрофенилгидразина при 520 нм) [10, 11]. В Фармакопее США плоды шиповника не представлены [12].

Таким образом, фармакопейная статья – ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» ГФ РФ XIV издания, на наш взгляд, не позволяет в полной мере объективно оценить качество данного сырья. В источниках описан факт того, что аскорбиновую кислоту не удастся обнаружить в шиповниках низковитаминных видов [13]. Более того, в расчетной формуле методики количественного определения каротиноидов указан необоснованный коэффициент, завышающий результаты в десять раз [14].

**Цель исследования** заключалась в разработке новых подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов с использованием современных методов фармакогностического анализа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы 7 образцов шиповника плодов (*Rosae fructus*) как культивируемых на территориях Самарской области и Республики Марий Эл, заготовленных в 2020 г., так и промышленных образцов различных производителей, приобретенных в аптечных организациях г. Самары в период с 2020 по 2021 гг.:

1. Промышленный воздушно-сухой образец (Средне-Волжский филиал ФГБНУ ВИЛАР, Самарская обл., сентябрь 2020 г.).
2. Воздушно-сухие, заготовленные в Республике Марий Эл в сентябре 2020 г.
3. Биологически активная добавка к пище (АО «Ст.-Медифарм», Ставропольский край, дата изготовления 20.11.20 г.).

4. ЛРП (ООО Фирма «Здоровье», Московская обл., серия 040319, годен до 04.2021).
5. ЛРП [ПКФ «Фитофарм» (ООО), Краснодарский край, серия 041020, годен до 10.2022].
6. ЛРП (АО «Иван-Чай», Московская обл., серия 020420, годен до 05.2022).
7. Свежие, заготовленные нами в Самарской обл. в сентябре 2020 г.

Хроматографическими методами определяли наличие основных групп БАВ:

1. Для ТСХ-анализа пластины марки Sorbfil (ООО «ИМИД», Россия) типа ПТСХ-АФ-А-УФ размером 10 × 15 см предварительно активировали выдерживанием в сушильном шкафу при температуре 105–110 °С в течение 60 минут. В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей: *n*-бутанол – уксусная кислота ледяная – вода очищенная в соотношении 4:1:2.

Детектирование веществ на хроматограммах осуществляли:

- при дневном свете и в монохроматическом УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм;
  - раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята 0,044%-м (аскорбиновая кислота);
  - раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК) в насыщенном растворе натрия карбоната (флавоноиды и другие фенольные соединения).
2. Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили на микроколоночном хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор», Россия) с УФ-спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: обращенная-фаза, изократический режим, колонка КАХ-6-80-4 (Сепарон С-18), подвижные фазы – различные соотношения ацетонитрила, воды, калия дигидрофосфата, скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 1000–2500 мкл, объем пробы 1–5 мкл. Аналитические длины волн – 242, 266, 290, 360 нм. Обработку результатов анализа проводили с помощью аппаратно-программного комплекса UniChrom (версия 5.0.19.1162, ООО «Новые аналитические системы», Беларусь).

Пробоподготовку водных извлечений из плодов шиповника для определения аскорбиновой кислоты методами ТСХ и ВЭЖХ проводили по фармакопейной методике с настаиванием в течение 2 часов [9]. Для подтверждения наличия веществ флавоноидной природы в плодах шиповника методом ТСХ подготовлены водно-спиртовые извлечения с нанесением СО рутина (3-О-рутинозид кверцетина) в соответствии с описанной методикой [13].

Метод прямой УФ/Вид-спектроскопии использован при исследовании образцов водных извлечений с целью идентификации аскорбиновой кислоты. Анализ выполнен на спектрофотометре «СФ-2000» (ООО «ОКБ Спектр», Россия) в кварцевых кюветах с толщиной светопоглощающего слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 до 600 нм. Обработку результатов спектрофотометрического определения проводили с

помощью программного пакета производителя «Сканирование для СФ-2000» (версия 4.06).

Для количественного определения кислоты аскорбиновой в водных извлечениях плодов шиповника применяли методы титриметрического анализа, основанные на восстановительных свойствах кислоты аскорбиновой: индофенольный (титрант – раствор натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята 0,001 М) и йодатометрический (титрант – раствор калия йодата 0,001 М). Изготовление реактивов, титрованных растворов с последующей стандартизацией и количественное определение осуществляли по фармакопейным методикам ГФ РФ XIV издания [9].

СО рутина, соответствующий ФС 42-2508-87, получен нами из фармацевтической субстанции рутина (Merck, Германия) методом колоночной хроматографии с последующей перекристаллизацией из водного спирта. Степень чистоты СО рутина составила 98,1 %. В качестве рабочего стандартного образца (РСО) аскорбиновой кислоты нами использован лекарственный препарат «Аскорбиновая кислота» в виде порошка фасовкой 2,5 г (ООО «Тюльская фармацевтическая фабрика», Россия, серия 10320, годен до 03.2023).

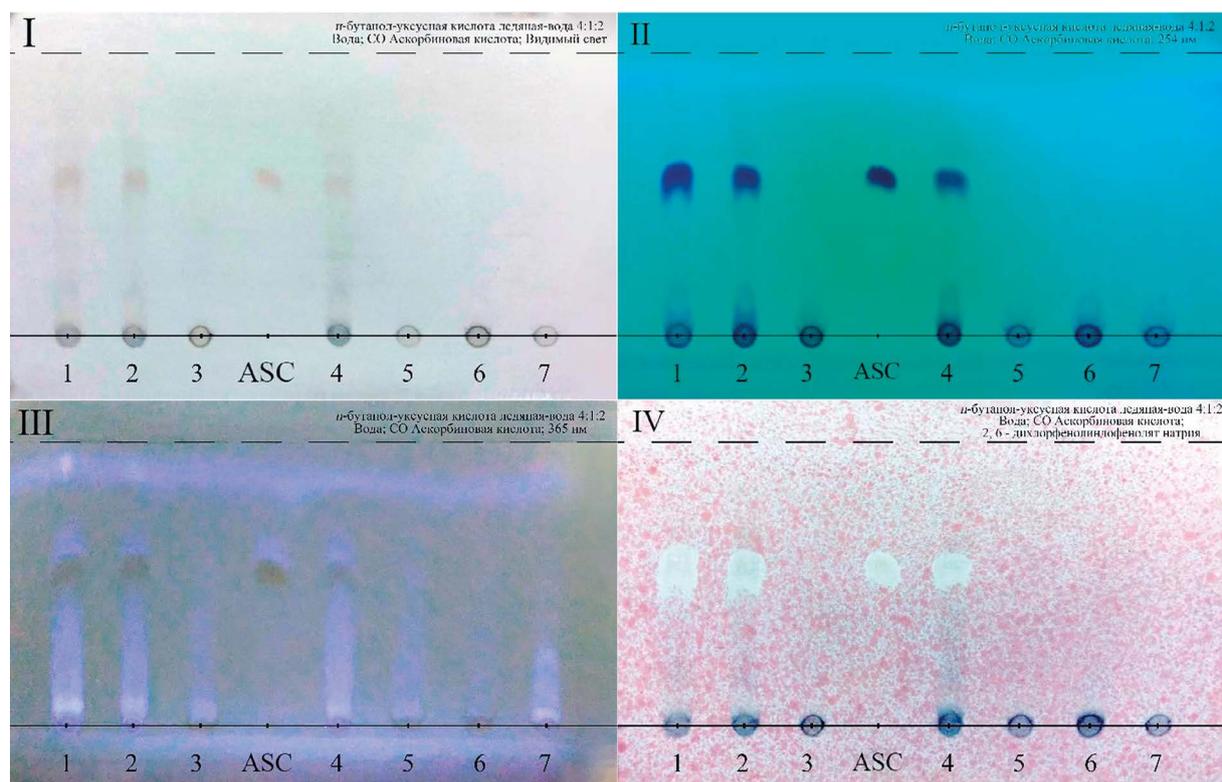
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученную хроматограмму просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм (II), где на светлом флуоресцирующем фоне четко обнаруживаются зоны адсорбции доминирующих веществ фиолетового цвета с  $R_f \approx 0,5$ , соответствующие аскорбиновой кислоте. Затем хроматограмму проявили раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята 0,044%-м. В результате аскорбиновая кислота обнаруживается в виде пятен белого цвета на розовом фоне (рисунок 1).

Однако несмотря на то, что образцы 5 и 6 являются ЛРП, наличие аскорбиновой кислоты в них не подтверждено. Следовательно, данные ЛРП не отвечают требованиям ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» ГФ РФ XIV издания по наличию основной группы БАВ. Аналогичные результаты получены и в ходе ранее проведенных исследований [13].

Дело в том, что все виды шиповника, для удобства классификации, разделены на две секции: коричные (*Cinnatomeae* DC.) и собачьи (*Caninae* Среп.) [5–7, 13, 15–17].

Секция коричных шиповников наиболее богата витамином С (от 2 до 5,5 %) [5–7]. Для видов этой секции характерны цельнокрайние и направленные вверх чашелистики. Если чашечку удалить, то в зеве бокала остается характерное круглое отверстие. Форма плода эллиптической или яйцевидной формы, красно-оранжевого цвета. Секция собачьих видов шиповника содержит значительно меньше аскорбиновой кислоты [5–7]. Узнать виды этой секции достаточно легко: для них характерна чашечка с перисто-надрезанными чашелистиками вверху. После цветения отгибаются вниз и опадают задолго до созревания, оставляя после себя пятиугольную площад-



**Рисунок 1.** Хроматограмма водных извлечений из плодов шиповника:

I – детекция при дневном свете; II – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; III – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; IV – детекция после обработки 0,044%-м раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята.

Обозначения: 1-7 – водные извлечения из образцов плодов шиповника; ASC – аскорбиновая кислота

**Figure 1.** Chromatogram of rosehip fruits water extract:

I – detection in daylight; II – detection in UV light at 254 nm; III – detection in UV light at 365 nm; IV – detection after 0,044 % 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt solution spraying.

Designations: 1-7 – water extracts from rosehip fruits samples; ASC – ascorbic acid

ку. Форма плода более округлая, иногда шаровидная, цвет от темно-красного до коричневого.

Рассмотрев исследуемые образцы плодов шиповника невооруженным глазом видно, что по всем характерным признакам образцы, в которых обнаружена аскорбиновая кислота: 1, 2 и 4, являются высоковитаминными видами, а образцы 3, 5, 6 и 7 – низковитаминными. Результаты количественного анализа индофенольным и йодатометрическим методами свидетельствуют о доброкачественности анализируемых образцов (таблица 1).

Можно сделать вывод, что методика определения аскорбиновой кислоты методом ТСХ, представленная в ГФ РФ, не подходит для определения аскорбиновой кислоты в плодах низковитаминных видов шиповника.

Что касается флавоноидов, то представителями этой группы в плодах шиповника, обуславливающих желчегонное действие, являются: астрагалин, изофлавоноиды, тилирозид и рутин [5–8]. Для подтверждения наличия веществ флавоноидной структуры в аналогичных условиях проведено разделение извлечений, подготовленных по методике [13], однако вместо аскорбиновой кислоты использован СО рутина

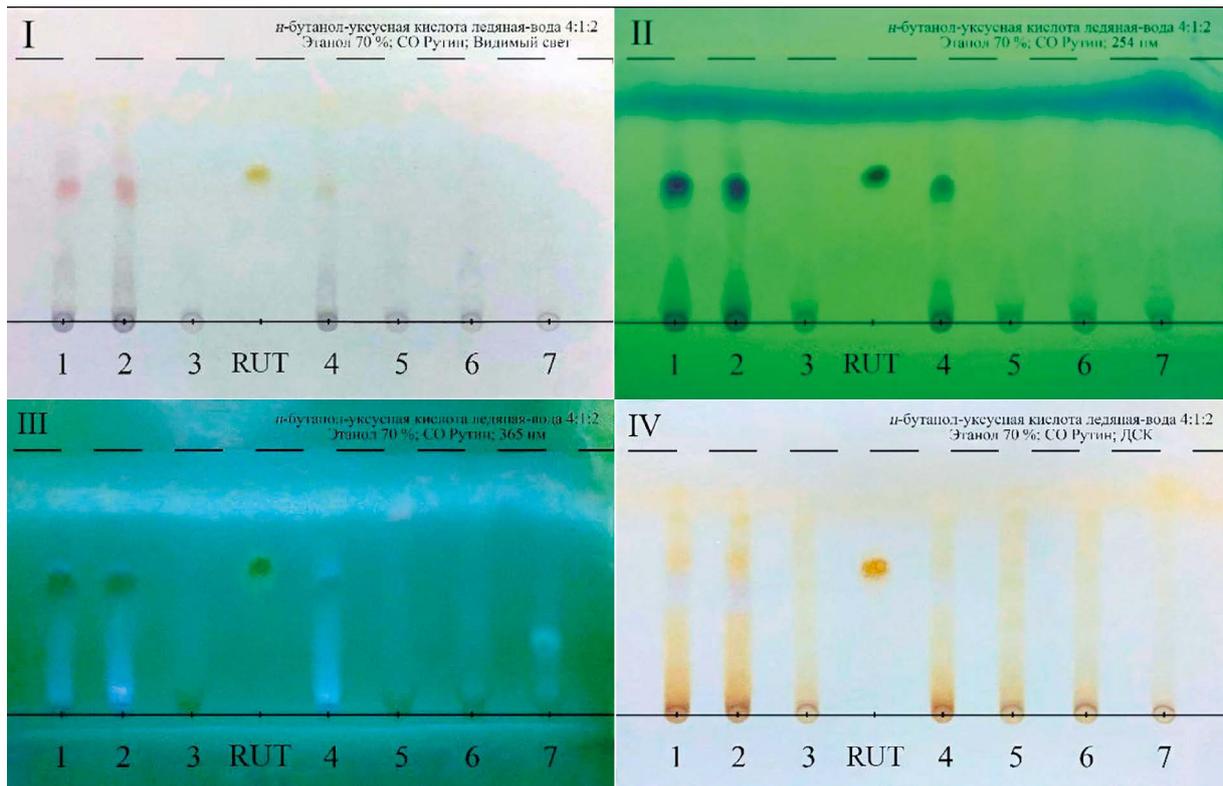
(3-О-рутинозид кверцетина). Идентификацию веществ на хроматограмме проводили при дневном свете, УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм, а также обработкой щелочным раствором ДСК (рисунок 2).

**Таблица 1.** Содержание аскорбиновой кислоты в плодах шиповника, определенное методом титриметрии

**Table 1.** Ascorbic acid content in rosehip fruits, determined by titrimetry

Образец Sample	Содержание аскорбиновой кислоты, % Ascorbic acid content, %	
	Индофенольный метод Indophenol Method	Йодатометрия Iodometry
1	2,69 (±0,03)	2,69 (±0,01)
2	2,11 (±0,02)	2,11 (±0,02)
3	0,24 (±0,04)	0,26 (±0,03)
4	1,96 (±0,03)	1,96 (±0,04)
5	0,42 (±0,04)	0,43 (±0,02)
6	0,38 (±0,03)	0,39 (±0,03)
7	0,16 (±0,02)	0,16 (±0,01)

В результате анализа полученной хроматограммы отмечено, что наиболее информативными вариантами обнаружения флавоноидов является просмотр в видимом свете (I) и обработка щелочным раство-



**Рисунок 2.** Хроматограмма водно-спиртовых извлечений из плодов шиповника:

I – детекция при дневном свете; II – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; III – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; IV – детекция после обработки раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната.

Обозначения: 1-7 – водно-спиртовые извлечения из образцов плодов шиповника; RUT – рутин

**Figure 2.** Chromatogram of rosehip fruits water-ethanolic extracts:

I – detection in daylight; II – detection in UV light at 254 nm; III – detection in UV light at 365 nm; IV – detection after diazobenzenesulfonic acid alkaline solution spraying.

Designations: 1-7 – water-ethanolic extracts from rosehip fruits samples; RUT – rutin

ром ДСК (IV). Зоны адсорбции флавоноидов находятся на одном уровне с зоной СО рутина, имеющей значение  $R_f \approx 0,6$ , и по-прежнему отчетливо видны пятна аскорбиновой кислоты на светлом флуоресцирующем фоне при 254 нм, находящиеся несколько ниже флавоноидов.

С целью оценки возможности совместного определения двух групп БАВ, а также пригодности метода ТСХ для определения аскорбиновой кислоты в образцах низковитаминных видов (*Caninae* Срег.) плодов шиповника (3, 5, 6 и 7) нами принято решение уменьшить объем экстрагента, тем самым получив извлечения в соотношениях 1:5. Водные и водно-спиртовые извлечения подготовлены по методикам, указанным выше, с нанесением РСО аскорбиновой кислоты и СО рутина.

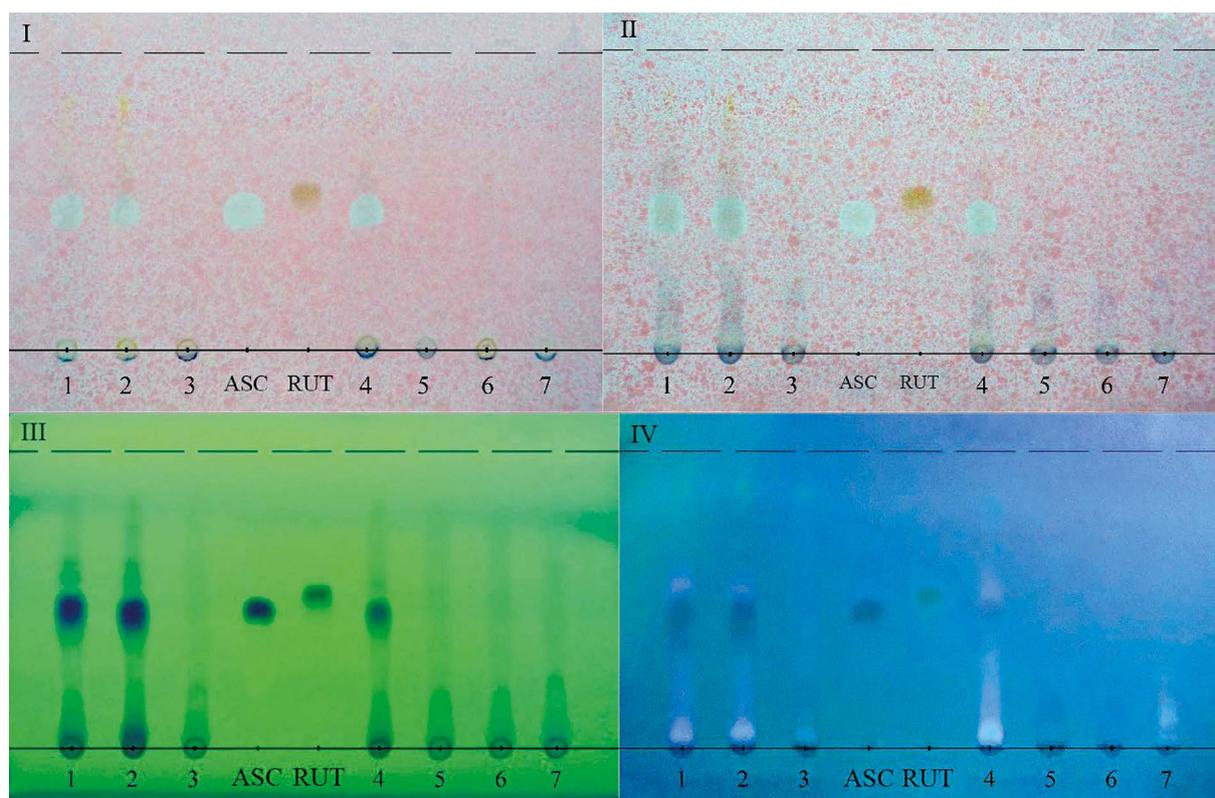
Результаты хроматографического разделения (рисунок 3) водно-спиртовых извлечений показали возможность совместной идентификации аскорбиновой кислоты и флавоноидов. Однако аскорбиновую кислоту в плодах низковитаминных видов по-прежнему обнаружить не удалось. При этом, на наш взгляд, в случае отсутствия СО рутина целесообразно использовать значение  $R_{st}$  около 1,24.

### Разработка методики определения аскорбиновой кислоты в низковитаминных видах плодов шиповника методом УФ/Вид-спектроскопии

В связи с тем, что чувствительность метода ТСХ не позволяет обнаружить аскорбиновую кислоту в плодах низковитаминных (*Caninae* Срег.) шиповников очевидна необходимость использования инструментальных методов анализа. К наиболее распространенным, доступным и экспрессным методам относится УФ/Вид-спектроскопия.

Одним из факторов, определяющих устойчивость аскорбиновой кислоты в извлечениях, является pH. Однозарядный анион разрушается в водных растворах гораздо медленнее двухзарядного, поэтому растворы аскорбиновой кислоты более устойчивы при pH в пределах 5,0–8,0 [18, 19].

Поглощение УФ-света обусловлено системой сопряжения ендиольной, лактонной и карбонильной групп. Известно, что величина максимума поглощения в УФ-области зависит от pH раствора. В кис-



**Рисунок 3.** Хроматограмма извлечений из плодов шиповника:

I – водные извлечения, детекция после обработки 0,044%-м раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята; II – водно-спиртовые извлечения, детекция после обработки 0,044%-м раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята; III – водно-спиртовые извлечения, детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; IV – водно-спиртовые извлечения, детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Обозначения: 1-7 – образцы плодов шиповника; ASC – аскорбиновая кислота, RUT – рутин

**Figure 3.** Chromatogram of rosehip fruits extracts:

I – water extracts, detection after 0,044 % 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt solution spraying; II – water-ethanolic extracts, detection after 0,044 % 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt solution spraying; III – water-ethanolic extracts, detection in UV light at 254 nm; IV – water-ethanolic extracts, detection in UV light at 365 nm.

Designations: 1-7 – rosehip fruits samples; ASC – ascorbic acid, RUT – rutin

лой среде преобладает неионизированная форма с  $\lambda = 242$  нм, а в нейтральной существует анионная форма с  $\lambda = 264$  нм [18–22] (рисунок 4).

С помощью рН-метра рН-150МИ с электродом стеклянным комбинированным ЭСК-10603/7 (ООО «Измерительная техника», Россия) мы измерили значение реакции среды (рН) водного извлечения, которое составило  $6,18 \pm 0,02$ .

Определению аскорбиновой кислоты в извлечениях мешает оптическая активность фенольных соединений и сопутствующих веществ, присутствующих в них. В связи с этим мы предлагаем достаточно простой способ идентификации аскорбиновой кислоты в плодах низковитаминных видов шиповника. Сущность способа заключается в твердофазной экстракции (ТФЭ) водного извлечения на полиамиде.

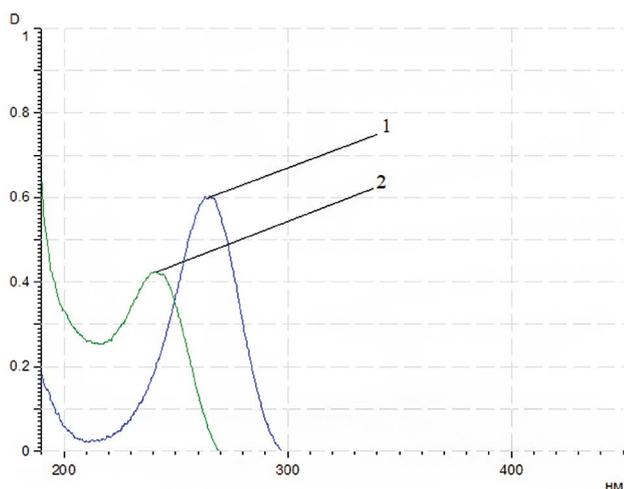
Для этих целей мы использовали предварительно подготовленный полиамид марки «Thin-Layer Chromatography» (Woelm Pharma GmbH & Co., Германия). Подготовка заключается в очистке адсорбента

от низкомолекулярных соединений путем последовательной трехкратной обработки кипящим этанолом 96 % и водой очищенной. Контроль чистоты полиамида проводили фотометрируя промывную жидкость, при этом не должен наблюдаться максимум поглощения при  $\lambda = 237$  нм.

Оценку подлинности ЛРС проводили следующим образом: около 1,0 г измельченных плодов шиповника, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 30 мл воды очищенной и настаивают в течение 15 минут. Извлечение фильтруют во флакон темного стекла через бумажный складчатый фильтр (раствор А).

Твердофазную экстракцию раствора А проводят на полиамиде в стеклянном фильтре, отбрасывая первые порции.

1,0 мл полученного анализа переносят в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки водой очищенной и перемешивают.



**Рисунок 4.** УФ-спектры поглощения водного раствора аскорбиновой кислоты:

1 – водный раствор с нейтральной средой; 2 – водный раствор, подкисленный ортофосфорной кислотой

**Figure 4.** UV spectra of ascorbic acid aqueous solutions:

1 – an aqueous solution with a neutral medium; 2 – an aqueous solution acidified with orthophosphoric acid

Оптическую плотность полученного раствора измеряют в диапазоне длин волн 190–500 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

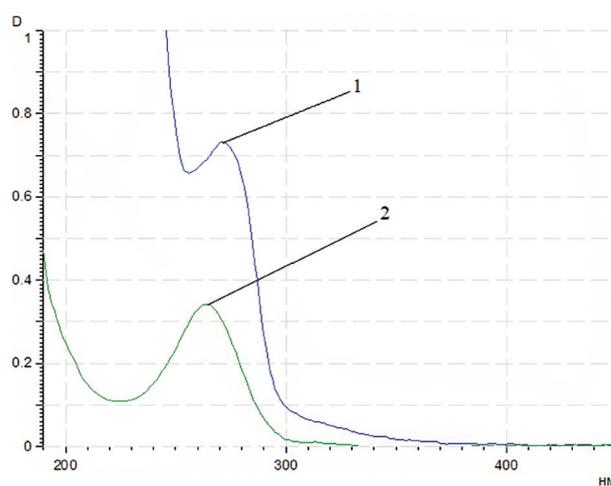
**Примечание:** Подготовка полиамида. В стеклянную воронку диаметром 2 см и впаивным фильтром Шотта 3-го класса пористости помещают достаточное количество полиамида для формирования слоя толщиной  $\approx 1,5$  см (около 1 г). Затем последовательно промывают кипящим этиловым спиртом 96 % и водой очищенной. Процедуру повторяют 3 раза.

При изучении электронных спектров водных извлечений из всех исследуемых образцов плодов шиповника обнаруживается характерный для аскорбиновой кислоты максимум поглощения при длине волны  $264 \pm 2$  нм (рисунок 5).

### **Определение аскорбиновой кислоты в низковитаминных видах плодов шиповника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

Из физико-химических методов анализа перспективной является ВЭЖХ, что связано с ее универсальностью, достаточно большой скоростью и эффективностью разделения.

В качестве подвижной фазы для проведения анализа была выбрана система ацетонитрил – вода в соотношении 1:9. Сравнение значений времени удерживания пиков на ВЭЖХ-хроматограмме извлечения плодов шиповника (2,133 мин) и времени удерживания пика РСХ (2,016 мин) (рисунок б) позволило идентифицировать аскорбиновую кислоту.



**Рисунок 5.** УФ-спектры поглощения водных извлечений плодов шиповника:

1 – раствор до твердофазной экстракции на полиамиде; 2 – раствор после твердофазной экстракции на полиамиде

**Figure 5.** UV spectra of rosehip fruits aqueous extracts:

1 – solution before solid-phase extraction on polyamide; 2 – solution after solid-phase extraction on polyamide

Результаты исследования, полученные с использованием метода ВЭЖХ, позволяют рекомендовать данный метод для подтверждения подлинности как высоковитаминных, так и низковитаминных видов плодов шиповника.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате фитохимического исследования обоснована целесообразность использования современных подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов, заключающихся в качественном определении аскорбиновой кислоты методами УФ/Вид-спектроскопии и ВЭЖХ, а также рутин методом ТСХ.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Хотим Е. Н., Жигальцов А. М., Аппаду К. Некоторые аспекты современной фитотерапии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2016;3(55):136–140.
2. Морозов С. В., Ткачева Н. И., Ткачев А. В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений. *Химия растительного сырья*. 2018;4:5–28. DOI: 10.14258/jscrpm.2018044003.
3. David B., Wolfender J.-L., Dias D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*. 2015;14(2):299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
4. Рыбалко М. В., Шмыгарева А. А., Саньков А. Н. Совершенствование методики количественного определения антраценпроизводных в корневищах и корнях марены красильной. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2019;5–6:143–147. DOI: 10.17816/2072-2354.2019.19.3.143-147.
5. Ермакова В. А., Зорин Е. Б., Ивашенко Н. В., Косенко Н. В., Самылина И. А., Сапронова Н. Н., Северцев В. А., Северцева О. В., Сорокина А. А. Лекарственные растения Государственной фармакопеи. Фармакогнозия. М.: ООО «АНМИ»; 2003. 534 с.

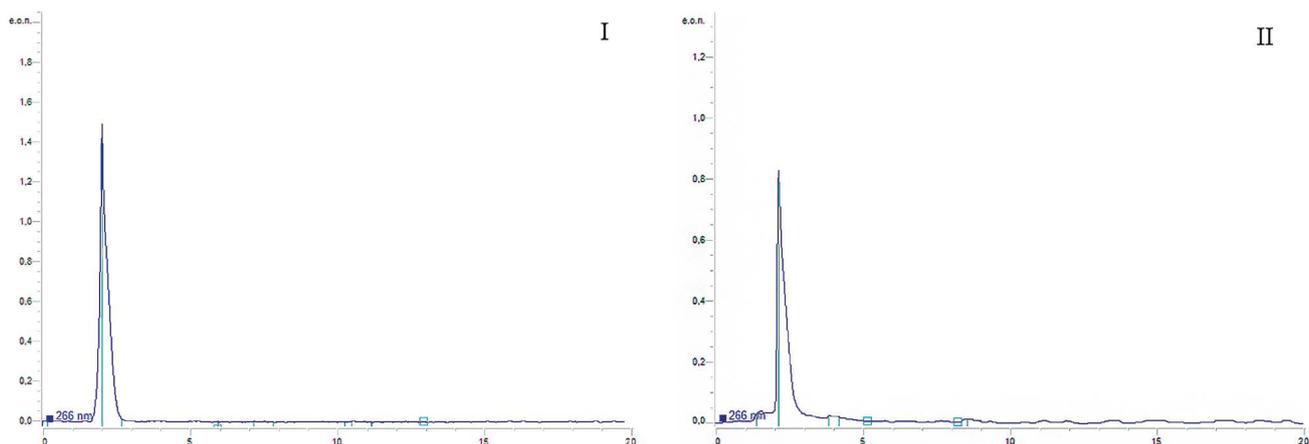


Рисунок 6. Хроматограмма рабочего стандартного образца аскорбиновой кислоты (I) и извлечения из плодов шиповника (II)

Figure 6. Chromatogram of ascorbic acid reference solution (I) and extract from rosehip fruits (II)

- Белодубровская Г. А., Блинова К. Ф., Вандышев В. В., Жохова Е. В., Клемпер А. В., Комарова М. Н., Маргна У. В., Пряхина Н. И., Селенина Л. В., Степаненко О. Г., Сыровежко Н. В., Теслов Л. С., Фомина Л. И., Харитоновна Н. П., Шатохина Р. К., Шевцовца Е. Г., Яковлев Г. П. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия. СПб.: СпецЛит; 2004. 765 с.
- Муравьева Д. А., Самылина И. А., Яковлев Г. П. Фармакогнозия. М.: Медицина; 2002. 656 с.
- Новрузов А. Р. Содержание и динамика накопления аскорбиновой кислоты в плодах *Rosa canina* L. *Химия растительного сырья*. 2014;3:221–226. DOI: 10.14258/jcprm.1403221.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Федеральная электронная медицинская библиотека. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 04.04.2021.
- The European Pharmacopoeia 10th Edition. European Directorate for the Quality of Medicines. Available at: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Accessed: 02.04.2021.
- The British Pharmacopoeia 2021. British Pharmacopoeia. Available at: <https://www.pharmacopoeia.com/BP2021>. Accessed: 02.04.2021.
- The United States Pharmacopoeia Online Edition. United States Pharmacopoeia. Available at: <https://login.usp.org/cas/login?service=https%3A%2F2Fonline.uspnf.com%2Fcas%2Flogin>. Accessed: 26.03.2021.
- Вершинина В. В., Куркин В. А. Определение подлинности плодов и сиропа шиповника с использованием тонкослойной хроматографии. *Медицинский альманах*. 2011;2(15):144–146.
- Куркин В. А., Шарова О. В., Афанасьева П. В. Совершенствование методики количественного определения суммы каротиноидов в сырье «Шиповника плоды». *Химия растительного сырья*. 2020;3:131–138. DOI: 10.14258/jcprm.2020036093.
- Юзепчук С. В. Роза (Шиповник) – *Rosa* L. В кн.: Флора СССР. Том 10. М.-Л.: Издательство Академии Наук СССР; 1941. С. 431–506.
- Хржановский В. Г. Розы. Филогения и систематика. Опыт и перспективы использования. М.: Советская наука; 1958. 497 с.
- Блинова К. Ф., Борисова Н. А., Гортинский Г. Б., Грушвицкий И. В., Забинкова Н. Н., Комарова М. Н., Мусаева Л. Д., Николаева Л. А., Регир В. Г., Селенина Л. В., Сыровежко Н. В., Теслов Л. С., Харитоновна Н. П., Шатохина Р. К., Яковлев Г. П. Ботанико-фармакогностический словарь. М.: Высшая школа; 1990. 272 с.
- Bandelin F. J., Tuschhoff J. V. The stability of ascorbic acid in various liquid media. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific edition)*. 1955;44(4):241–244. DOI: 10.1002/jps.3030440419.
- Голубицкий Г. Б., Будко Е. В., Басова Е. М., Костарной А. В., Иванов В. М. Устойчивость аскорбиновой кислоты в водных и водно-органических растворах для количественного определения. *Журнал аналитической химии*. 2007;62(8):823–828.
- Маркряян Ш. А., Саркисян А. Р. Электронные спектры поглощения аскорбиновой кислоты в водных и водно-диалкилсульфоксидных растворах. *Журнал прикладной спектроскопии*. 2011;78(1):11–15. DOI: 10.1007/s10812-011-9418-9.
- Ogata Y., Kosugi Y. Ultraviolet spectra of l-ascorbic acid and cupric ascorbate complex. *Tetrahedron*. 1970;26(20):4711–4716. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)93122-9.
- Shukla M. K., Mishra P. C. Electronic structures and spectra of two antioxidants: uric acid and ascorbic acid. *Journal of Molecular Structure*. 1996;377(3):247–259. DOI: 10.1016/0022-2860(95)09129-7.

## REFERENCES

- Khotsim E. N., Zhigaltsov A. M., Appadoo K. Some aspects of modern phytotherapy. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2016;3(55):136–140. (In Russ.)
- Morozov S. V., Tkacheva N. I., Tkachev A. V. Problems of comprehensive chemical profiling of medicinal plants. *KhiKhimija rastitel'nogo syr'ja = Chemistry of plant raw material*. 2018;4:5–28. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2018044003.
- David B., Wolfender J.-L., Dias D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*. 2015;14(2):299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
- Rybalko M. V., Shmygareva A. A., Sankov A. N. Development of the method of quantitative determination of anthracen derivatives in rhizomes and roots of *Rubia tinctorum*. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2019;5–6:143–147. (In Russ.) DOI: 10.17816/2072-2354.2019.19.3.143-147.
- Ermakova V. A., Zorin E. B., Ivashenko N. V., Kosenko N. V., Samylyna I. A., Saponova N. N., Severtsev V. A., Severtseva O. V., Sorokina A. A. *Lekarstvennye rasteniya Gosudarstvennoy farmakopei. Farmakognoziya* [Medicinal plants of the State Pharmacopoeia. Pharmacognosy]. Moscow: LLC "Anmi"; 2003. 534 p. (In Russ.)
- Belodubrovskaya G. A., Blinova K. F., Vandyshev V. V., Zhokhova E. V., Klemper A. V., Komarova M. N., Margna U. V., Pryakhina N. I., Selenina L. V., Stepanenko O. G., Syrovezhko N. V., Teslov L. S., Fomina L. I., Kharitonova N. P., Shatokhina R. K., Shekhovtsova E. G., Yakovlev G. P. *Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. Farmakognoziya* [Medicinal plant raw materials. Pharmacognosy]. St. Petersburg: SpetsLit; 2004. 765 p. (In Russ.)
- Murav'eva D. A., Samylyna I. A., Yakovlev G. P. *Farmakognoziya* [Pharmacognosy]. Moscow: Meditsina; 2002. 656 p. (In Russ.)

8. Novruzov A. R. *Soderzhanie i dinamika nakopleniya askorbinovoy kisloty v plodakh Rosa canina L.* [Contents and dynamics of accumulation of the ascorbic acid in fruits of *Rosa canina L.*]. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya = Chemistry of plant raw material*. 2014;3:221–226. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.1403221.
9. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdanie Federal'naya elektronnyaya meditsinskaya biblioteka* [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV Edition. Federal Electronic Medical Library]. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 04.04.2021. (In Russ.)
10. The European Pharmacopoeia 10th Edition. European Directorate for the Quality of Medicines. Available at: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Accessed: 02.04.2021.
11. The British Pharmacopoeia 2021. British Pharmacopoeia. Available at: <https://www.pharmacopoeia.com/BP2021>. Accessed: 02.04.2021.
12. The United States Pharmacopoeia Online Edition. United States Pharmacopoeia. Available at: <https://login.usp.org/cas/login?service=https%3A%2F%2Fonline.uspnf.com%2Fcas%2Flogin>. Accessed: 26.03.2021.
13. Vershinina V. V., Kurkin V. A. *Opreделение podlinnosti plodov i siropa shipovnika s ispol'zovaniem tonkosloynoy khromatografii* [Identification of rosehip fruits and syrup with the use of TLC]. *Meditsinskiy al'manakh*. 2011;2(15):144–146. (In Russ.)
14. Kurkin V. A., Sharova O. V., Afanaseva P. V. Improving the method of quantitative determination of the amount of carotenoids in the raw material «Rosehip fruit». *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya = Chemistry of plant raw material*. 2020;3:131–138. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2020036093.
15. Yuzepchuk S. V. *Roza (Shipovnik) – Rosa L. V kn.: Flora SSSR* [Rose (Rosehip) – *Rosa L.* In: *Flora of the USSR*]. Volume 10. Moscow–Leningrad: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR; 1941. P. 431–506. (In Russ.)
16. Khrzhanovskiy V. G. *Rozy. Filogeniya i sistematika. Opyt i perspektivy ispol'zovaniya* [Roses. Phylogeny and taxonomy. Experience and prospects of use]. Moscow: Sovetskaya nauka; 1958. 497 p. (In Russ.)
17. Blinova K. F., Borisova N. A., Gortinskiy G. B., Grushvitskiy I. V., Zambinkova N. N., Komarova M. N., Musaeva L. D., Nikolaeva L. A., Regir V. G., Selenina L. V., Syrovezhko N. V., Teslov L. S., Kharitonova N. P., Shatokhina R. K., Yakovlev G. P. *Botaniko-farmakognosticheskiy slovar'* [Botanical and Pharmacognostic Dictionary]. Moscow: Vysshaya shkola; 1990. 272 p.
18. Bandelin F. J., Tuschhoff J. V. The stability of ascorbic acid in various liquid media. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific edition)*. 1955;44(4):241–244. DOI: 10.1002/jps.3030440419.
19. Golubitskii G. B., Budko E. V., Basova E. M., Kostarnoi A. V., Ivanov V. M. Stability of Ascorbic Acid in Aqueous and Aqueous-Organic Solutions for Quantitative Determination. *Zhurnal analiticheskoy khimii = Journal of Analytical Chemistry*. 2007;62(8):823–828 (In Russ.)
20. Markarian S. A., Sargsyan H. R. Electronic absorption spectra of ascorbic acid in water and water-dialkylsulfoxide mixtures. *Zhurnal prikladnoy spektroskopii*. 2011;78(1):11–15. (In Russ.) DOI: 10.1007/s10812-011-9418-9.
21. Ogata Y., Kosugi Y. Ultraviolet spectra of l-ascorbic acid and cupric ascorbate complex. *Tetrahedron*. 1970;26(20):4711–4716. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)93122-9.
22. Shukla M. K., Mishra P. C. Electronic structures and spectra of two antioxidants: uric acid and ascorbic acid. *Journal of Molecular Structure*. 1996;377(3):247–259. DOI: 10.1016/0022-2860(95)09129-7.

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-176-187>  
УДК 61:621



Обзорная статья / Review article

## Биомедицинское применение наночастиц серебра (обзор)

Д. Т. Реджепов\*, А. А. Водяшкин, А. В. Сергородцева, Я. М. Станишевский

Института биохимической технологии и нанотехнологии РУДН (ИБХТН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10/2

\*Контактное лицо: Реджепов Довлет Таганович. E-mail: redzhepov-d@rudn.ru

ORCID: Д. Т. Реджепов – <https://orcid.org/0000-0003-3203-6676>; А. А. Водяшкин – <https://orcid.org/0000-0003-1556-7635>; А. В. Сергородцева – <https://orcid.org/0000-0003-4861-8929>; Я. М. Станишевский – <https://orcid.org/0000-0002-0387-397X>.

Статья поступила: 10.06.2021

Статья принята в печать: 19.07.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Наночастицы серебра, обладая уникальными физико-химическими свойствами, могут применяться для диагностики и лечения различного рода инфекций, онкологических заболеваний, а также доставки лекарственных средств. В обзоре представлен анализ научной литературы по применению наночастиц серебра в биомедицинских целях.

**Текст.** В обзоре рассмотрены перспективы применения наночастиц серебра в лечении онкологических заболеваний в качестве носителя лекарственных средств, а также непосредственного проявления ими цитотоксического эффекта на раковые клетки. Также проанализированы области применения наночастиц серебра для придания или усиления антибактериальных эффектов перевязочных и стоматологических материалов. Рассмотрен механизм действия наночастиц серебра в отношении вирусов. В материале представлено применение в биомедицинских целях композиционных материалов, содержащих наночастицы серебра.

**Заключение.** На основании проведенного авторами анализа литературных данных показаны перспективы применения достижений нанотехнологии в медицине.

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, онкология, вирусы, антимикробный эффект, композиционные материалы

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Все авторы участвовали в анализе научной литературы, написании и обсуждении статьи. Д. Т. Реджепов занимался разделами антимикробная и противовирусная активность. А. А. Водяшкин участвовал в написании разделов по противораковой активности наночастиц серебра, а также композиционных материалов на их основе. А. В. Сергородцева участвовала в редактировании статьи, а также в написании раздела противовирусной активности. Я. М. Станишевский участвовал в редактировании статьи, написании введения и выводов по статье.

**Благодарность.** Публикация подготовлена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Российского университета дружбы народов.

**Для цитирования:** Реджепов Д. Т., Водяшкин А. А., Сергородцева А. В., Станишевский Я. М. Биомедицинское применение наночастиц серебра. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):176–187. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-176-187>

## Biomedical Applications of Silver Nanoparticles (Review)

Dovlet T. Rejepov\*, Andrey A. Vodyashkin, Antonina V. Sergorodceva, Yaroslav M. Stanishevskiy

Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, RUDN University, 10/2, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

\*Corresponding author: Dovlet T. Rejepov. E-mail: redzhepov-d@rudn.ru

ORCID: Dovlet T. Rejepov – <https://orcid.org/0000-0003-3203-6676>; Andrey A. Vodyashkin – <https://orcid.org/0000-0003-1556-7635>; Antonina V. Sergorodceva – <https://orcid.org/0000-0003-4861-8929>; Yaroslav M. Stanishevskiy – <https://orcid.org/0000-0002-0387-397X>.

Received: 10.06.2021

Revised: 19.07.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Silver nanoparticles have unique physicochemical properties and can be used for the diagnosis and treatment of various kinds of infections, oncological diseases, as well as drug delivery. The review presents an analysis of scientific literature on the use of silver nanoparticles for biomedical purposes.

**Text.** The review discusses the perspectives of the silver nanoparticles use in the treatment of oncological diseases as a carrier of drugs, as well as the direct manifestation of their cytotoxic effect on cancer cells. Also, there is considered the use of silver nanoparticles for imparting or enhancing the antibacterial effects of dressings and dental materials. The mechanism of action of silver nanoparticles against viruses is considered. This research presents the use of composite materials containing silver nanoparticles for biomedical purposes.

**Conclusion.** On the basis of the literature data analysis, carried out by the authors, there are shown possibilities of the nanotechnology achievements for the application in medicine.

**Keywords:** silver nanoparticles, oncology, viruses, antimicrobial effect, composite materials

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** All authors participated in the collection and processing of scientific literature data, writing the article and discussing the results. Dovlet T. Rejepov prepared the material on the antimicrobial and antiviral activity. Andrey A. Vodyashkin on the anticancer

© Реджепов Д. Т., Водяшкин А. А., Сергородцева А. В., Станишевский Я. М., 2021

© Rejepov D. T., Vodyashkin A. A., Sergorodceva A. V., Stanishevskiy Ya. M., 2021

activity of silver nanoparticles, as well as composite materials based on them. Antonina V. Sergorodceva participated in the editing of the article, as well as in the writing of the section on antiviral activity. Yaroslav M. Stanishevskiy participated in the editing of the article, writing the introduction and conclusions on the article.

**Acknowledgment.** This publication has been prepared with the support of the Peoples' Friendship University of Russia Strategic Academic Leadership Program.

**For citation:** Rejepov D. T., Vodyashkin A. A., Sergorodceva A. V., Stanishevskiy Ya. M. Biomedical applications of silver nanoparticles. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):176–187. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-176-187>

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время существует потребность в разработке новых форм фармацевтических объектов. Бионанотехнология предлагает уникальные системы, которые в ближайшем будущем смогут применяться в медицине в различных целях. Ввиду наноразмерности функциональных компонентов живых клеток применение нанотехнологий в биомедицинских целях неизбежно. Уже проведены исследования по возможным сферам применения различных нанообъектов (квантовых точек, липосом, металлоорганических приложений, наночастиц) в качестве сенсоров, улучшающих изображение, агентов доставки и тераностических систем [1].

Наноматериалы (включая плазмонные наночастицы) стали основой для разработки биоактивных материалов. Однако применение таких материалов в биомедицине требует направленного проектирования, обеспечивающего эффективность и стабильность, в особенно сложной среде, такой как живые организмы. Используются усовершенствованные диагностические инструменты для различных онкологических и вирусных заболеваний, в этом направлении наночастицы обладают эксклюзивными физико-химическими свойствами для точного биосенсинга, а также терапевтического действия. Наноматериалы демонстрируют очень высокое отношение площади поверхности к объему, и в современных методах антимикробной терапии были предприняты попытки объединить наноматериалы и современные противомикробные препараты, которые проявляют синергизм и улучшают эффект в несколько раз. Кроме того, в настоящее время активно исследуются новые методы лечения, основанные на таргетной доставке лекарственных средств и фототермической терапии, активируемой наночастицами.

Наночастицы серебра (AgNP) наиболее изучены и являются многообещающими кандидатами для нетрадиционного и эффективного применения в области фармацевтических наук, косметических продуктов, антимикробных покрытий и упаковок для пищевых продуктов. Особый интерес к AgNP в биомедицинских приложениях основан на их обширных антибактериальных, антимикотических и противови-

русных свойствах, биосовместимости и эффективности против микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью [2].

В настоящее время существует большое количество методов получения наночастиц серебра, которые можно подразделить на физические [3, 4], химические [5–8] и биологические [9–11] (рисунок 1).

### Наночастицы серебра для противораковой терапии

В последние годы проявился интерес к получению и применению наночастиц для противораковой терапии. Онкологические заболевания являются одной из причин смертности и инвалидности трудоспособного населения, а также отличаются продолжительностью и стоимостью лечения [12]. Рак продолжает оставаться одной из самых сложных проблем глобального здравоохранения, хотя и существует огромное разнообразие лекарственных препаратов, которые можно использовать для лечения рака, проблема заключается в уничтожении всех раковых клеток при одновременном снижении побочной токсичности для здоровых клеток. Существует несколько биологических барьеров для эффективной доставки лекарств при раке, такие как почечный, печеночный или иммунный клиренс. Наночастицы, содержащие лекарственные препараты, могут быть разработаны для преодоления этих биологических барьеров, а также для повышения эффективности при одновременном снижении побочных эффектов. Наномедицина открыла новую эру доставки лекарств, улучшив терапевтические индексы активных фармацевтических ингредиентов [13].

Способность наномедицинских препаратов переносить несколько терапевтических агентов может повысить их эффективность. Было обнаружено, что сочетание наночастиц серебра с бортезомибом и доксорубицином проявляют противоопухолевый синергетический эффект при раке яичников. Загрузка нескольких мРНК по отдельности или вместе с другими лекарствами может повысить чувствительность опухоли к лечению. Также было исследовано использование систем, реагирующих на стимулы, с целевыми лигандами. Перспективным подходом является



Рисунок 1. Основные методы получения наночастиц серебра

Figure 1. The main methods of synthesis of silver nanoparticles

использование тераностики, сочетающей в себе возможности диагностики и лечения рака. В тераностике можно не только отслеживать высвобождение лекарственного средства, но и визуализировать действие лекарств в опухолевой ткани [14].

Различные виды наночастиц серебра и материалов на их основе могут применяться в противоопухолевой терапии, в качестве цитостатиков или для адресной доставки терапевтических агентов к опухоли.

Наночастицы серебра размером 70 нм, полученные с использованием производного куркумина, проявляли цитотоксические свойства против линии клеток рака шейки матки HeLa в концентрации 5 мкг/л. Кроме того, были проведены эксперименты на мышах с индуцированной опухолью EAC. Наночастицы, в концентрации 5 мг/кг, значительно подавляли рост опухоли у животных, не влияя на массу тела. Данное исследование подтверждает высокую перспективность разработанных наночастиц в терапии раковых заболеваний [15].

А. С. Gomathi и др. разработали экологичный способ получения наночастиц серебра с использованием экстракта *Tamarindus indica*. В ходе работы авторы доказали дозозависимое влияние наночастиц на жизнеспособность клеток инвазивной аденокарциномы протоков молочной железы человека MCF-7 (ингибирующая полумаксимальная концентрация  $IC_{50}$  20 мкг/мл). Механизмы, участвующие в ингибировании раковых клеток наночастицами серебра, привели

к повреждению ДНК, что еще раз подтверждает тот факт, что AgNP индуцировали апоптоз в клетках рака груди. Также автор показал влияние активных форм кислорода и окислительных процессов, вызванных наночастицами серебра, что и привело к гибели клеток MCF-7. Результаты работы продемонстрировали, что наночастицы серебра, синтезированные с участием *Tamarindus indica*, могут быть потенциальным терапевтическим средством для лечения рака груди человека [16].

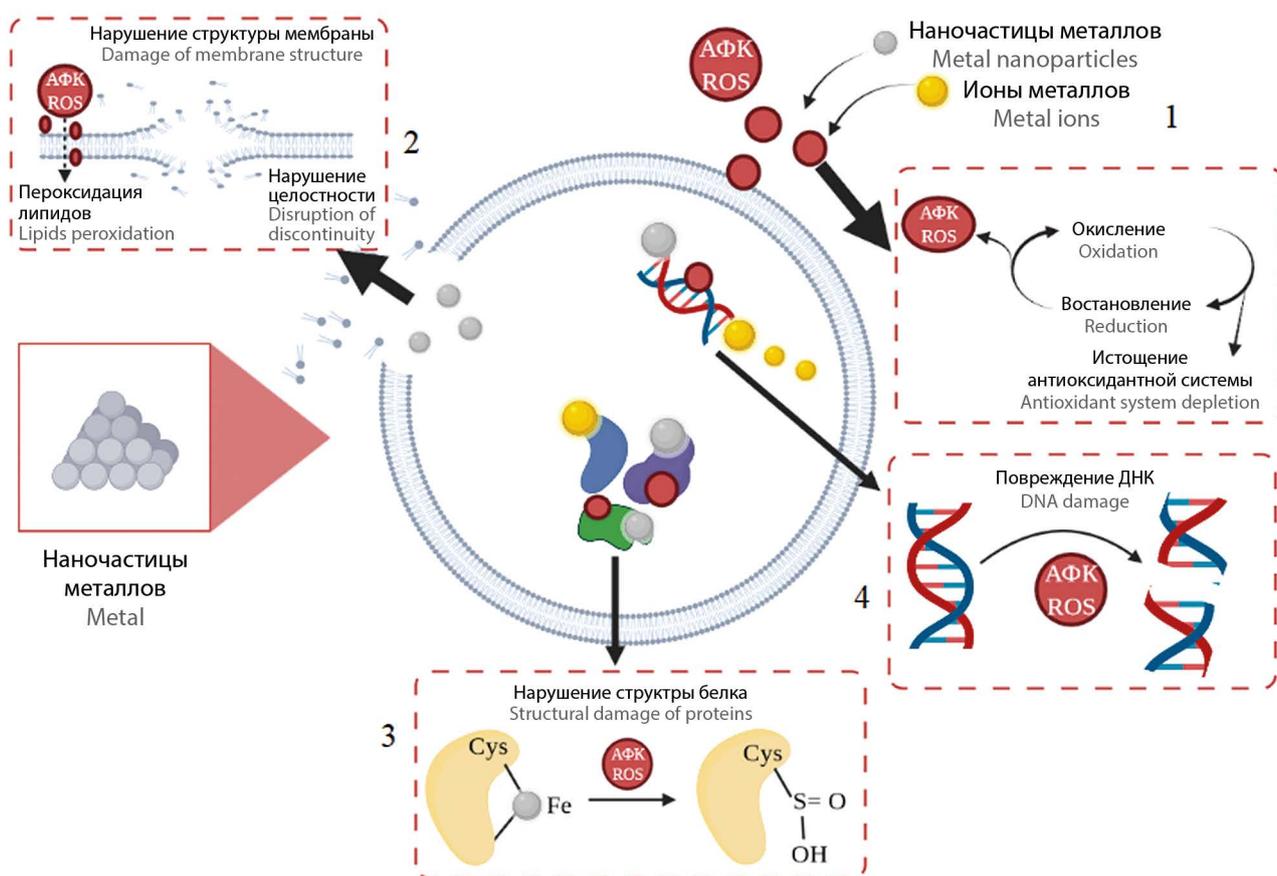
D. Acharya и др. получали наночастицы серебра восстановлением раствора нитрата серебра с помощью водного экстракта водорослей *Chaetomorpha linum*. В данном способе водный экстракт водорослей выступает в качестве восстановителя и стабилизирующего агента, что упрощает методику получения и делает ее экологически безопасной и экономически выгодной. Комплексом методов, таких как проточная цитофлуориметрия, анализ митохондриальной дисфункции, анализ экспрессии белков, обработанных наночастицами, была показана высокая цитотоксическая активность [17]. Данная работа демонстрирует возможность применения наночастиц серебра в качестве альтернативного метода лечения опухолевых заболеваний толстой кишки, так как жизнедеятельность клеток HCT-116 подавляется обработкой S-AgNP в концентрации 48,84 и 32,75 мкг/мл в течение периода лечения 24 и 48 часов соответственно. Необходимы дальнейшие исследования для установления биологического механизма по отношению к раковым

клеткам, фармакокинетики и фармакодинамики получаемых частиц в организме человека.

S. M. A. Mousavi и др. для получения наночастиц серебра использовали лизат *Lactobacillus rhamnosus* GG, которой был смешан с раствором нитрата серебра в концентрации 1 мМ. Наночастицы имели сферическую форму и средний размер 50 нм. Авторы показали, что биологически синтезированные AgNP могут индуцировать активные формы кислорода внутри линии клеток колоректального рака (HT-29) и вызывать повреждение клеточных компонентов, что приводит к гибели клеток [18]. Это исследование показало потенциальный подход к синтезу противоопухолевых AgNP с использованием пробиотических бактерий. В перспективе необходимо провести изучение с помощью тестов *in vivo*, чтобы использовать в биомедицинских приложениях.

## Антимикробная активность

Наночастицы серебра применяют для придания или усиления антимикробных свойств материалов [19–21]. Антимикробные свойства AgNP проявляются за счет повреждения клеточной мембраны, а также проникновения внутрь клетки (рисунок 2). Ингибируя ферменты дыхательной цепи, AgNP способствуют накоплению АФК, вызывая оксидативный стресс и гибель клетки [22, 23]. За счет наличия фосфатных, карбоксильных и аминогрупп отрицательно заряженная клеточная стенка бактерий [24] способствует взаимодействию с положительно заряженными AgNP, что может привести к увлечению проницаемости мембраны, нарушению транспорта ионов, ее повреждению с последующей гибелью клетки. Антибактериальный эффект AgNP более выражен в отношении грамотрицательных, чем грамположительных бактерий, что, возможно, связано с толщиной клеточной



**Рисунок 2.** Механизм антибактериального действия наночастиц металлов:

1 – образование внеклеточных и внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) и повреждение липидов, белков и ДНК окислительным стрессом; 2 – связывание наночастиц с клеточной стенкой и высокие уровни АФК вызывают повреждение клеточной мембраны; 3 – соединяясь с тиоловой группой белка, наночастицы вызывают нарушение их функций; 4 – связываясь напрямую с ДНК, а также за счет АФК наночастицы являются причиной нарушения работы генного аппарата клетки и фрагментации ДНК

**Figure 2.** Mechanism of antibacterial action of metal nanoparticles:

1 – formation of extracellular and intracellular reactive oxygen species (ROS) and damage to lipids, proteins and DNA by oxidative stress; 2 – Binding of nanoparticles to the cell wall and high levels of ROS cause damage to the cell membrane; 3 – connecting with the thiol group of the protein, nanoparticles cause a impairment of their functions; 4 – binding directly to DNA, as well as due to ROS, nanoparticles cause disruption of the cell gene apparatus and DNA fragmentation

стенки [25]. Согласно другому предположенному механизму: антибактериальный эффект AgNP проявляется за счет проникновения в клетку и повреждения ДНК [25, 26]. Также AgNP попадая внутрь клетки способны связываться с белками, содержащими тиоловую группу, вызывая нарушение в конформации, блокируя активные центры ферментов [27, 28].

Стоматология является перспективной областью применения антибактериального эффекта AgNP. В стоматологии AgNP применяются как в составе композитных материалов, так и непосредственно в лечении, профилактике различных стоматологических проблем [29].

A. Mohan и др. исследовали покрытие гуттаперчи AgNP при пломбировании каналов зуба [30]. Гуттаперчивые штифты на данный момент являются одним из основных материалов для изоляции канала зуба от проникновения различных микроорганизмов. Для усиления антимикробного эффекта при пломбировании канала зуба исследователями были использованы AgNP в концентрации 1 и 2 %. Антимикробную активность исследовали в отношении *Enterococcus faecalis* как патогена, часто встречающегося в ротовой полости и устойчивому ко многим препаратам. Был установлен дозозависимый антибактериальный эффект, количество бактерий снизилось с 30 до 26 КОЕ/мл для образцов, содержащих 1 % серебра, а для образцов гуттаперчи, содержащих серебро в концентрации 2 %, с 28 до 11 КОЕ/мл [31]. Данные результаты показывают перспективы применения покрытия из наночастиц серебра для усиления антибактериальных свойств материалов, используемых при пломбировании канала зуба.

J. Deng и др. изучали модификацию акриловых подкладок под протезы наночастицами серебра для придания им антимикотических свойств и перспективы их применения у лиц, страдающих кандидозом ротовой полости. В качестве предшественника металла применяли 2-этилгексаноат серебра. Полученные наночастицы со средним размером 5 нм, равномерно распределенные по пластинке, образовывались за счет восстановления ионов серебра до наночастиц *in situ* в ходе реакции полимеризации акриловых мономеров, образующимися свободными радикалами. Оценка антимикотической активности продемонстрировала уменьшение количества колоний *Candida albicans* на  $75,51 \pm 3,61$  %;  $63,38 \pm 1,77$  %;  $44,17 \pm 5,65$  % для образцов, содержавших 0,3, 0,2 и 0,1 масс. доли соли серебра, относительно контроля на 14 день исследования (средняя продолжительность применения подкладок) [32]. Таким образом, исследователями были разработаны акриловые подкладки с перспективой применения в клинической стоматологии, содержащие наночастицы серебра, обладающие антимикотическим эффектом в отношении *Candida albicans*, а также поддерживающие этот эффект на протяжении срока применения подкладок для профилактики и лечения кандидоза ротовой полости.

A. S. Takamiya и др. добавляли AgNP размером 5 и 10 нм, полученные классическим методом с применением цитратов, в акриловую смолу для изготовления протезов с целью придания ей антимикотических свойств в отношении *Candida albicans*. В ходе исследования поверхности нанокомпозита было установлено значительное уменьшение КОЕ и прерывистость биопленки, состоящей из *Candida albicans*, при концентрации наночастиц 0,05 и 0,5 % от полимерной массы. Примечательно, что концентрация наночастиц 5 % не показала антимикотических результатов, что связано с изменениями в строении материала. Изучение биосовместимости показало подострое местное воспаление в течение первой недели, которое на 60 день наблюдения не отличалось от контроля [33]. Данное исследование показывает перспективы применения AgNP для изготовления зубных протезов с антимикробными свойствами без изменения их физических свойств.

Важным вопросом при применении в стоматологии материалов содержащих AgNP является их цветовая характеристика. В исследованиях R. Linguan и др. [34] и L. C. Natale и др. [32] было показано изменение цвета конечного материала от желтого до темно-коричневого по мере увеличения концентрации AgNP в стоматологической смоле. Также выявили потемнение и пожелтение смолы с добавлением наночастиц серебра. M. C. Rodrigues и др. предложили в качестве возможного компонента, не влияющего на цвет материала, применение AgNP, покрытых диоксидом кремния. Наночастицы со средним размером около 35 нм получали биологическим методом с применением экстракта зеленого чая, далее путем экстракции удаляли с поверхности наночастицы полифенолы и покрывали их кремнеземом. Размер полученных частиц Ag-SiO<sub>2</sub> составил около 278 нм, цвет которых был более светлым по сравнению с порошком наночастиц серебра. Результаты антимикробного исследования в отношении *Streptococcus mutans*, бактерий способных вызывать кариес, показали значительное снижение метаболической активности (44 %) при концентрации 600 мкг/мл. Оценка цитотоксичности на фибробластах пульпы зуба в диапазоне МИК 100–600 мкг/л продемонстрировала жизнеспособность клеток от 80–98 %, что позволило сделать вывод об отсутствии токсического эффекта у данных частиц [35]. Таким образом, было показано, что композиты, содержащие антибактериальные агенты, такие как AgNP уменьшают образование кариесогенных биопленок и могут найти полезное применение в стоматологических материалах.

При применении AgNP в стоматологии следует учитывать их цитотоксический эффект на клетки организма. Исследователи M. M. Youssef и др. изучали влияние AgNP на пульпу зубов крыс альбиносов. Животные ежедневно в течение 21 дня перорально получали раствор наночастиц серебра размером от 3 до 20 нм в концентрации 10 мг/кг, которые были по-

лучены с применением экстракта кожуры граната. Результаты гистопатологического анализа показали дегенерацию и атрофию одонтобластов, а также фибробластов тканей пульпы. Иммуногистохимический анализ выявил значительное снижение экспрессии факторов роста эндотелия сосудов (VEGF), что неприемлемо для здоровых тканей, однако данное исследование показывает перспективу применения наночастиц для лечения онкологических заболеваний. Выявленная повышенная экспрессия белка каспазы-3 указывает на апоптотические изменения, вызванные наночастицами [36]. Исходя из этих данных, следует учитывать дозозависимые цитотоксические свойства [37, 38] наночастиц серебра при применении их в стоматологии и медицине в целом.

Перспективным направлением применения антибактериальных свойств AgNP является разработка повязочных материалов, пластырей для ускорения заживления, а также предотвращения инфицирования ран [39–41].

V. P. Veeraghavan и др. исследовали нанесение AgNP на хлопчатобумажную ткань для придания ей антимикробных свойств и применения в качестве ранозаживляющего средства. AgNP размером 20–40 нм получали биологическим методом с применением экстракта шлемника бородатого (*Scutellaria barbata*). AgNP наносили на ткань путем ее вымачивания в 1%-м растворе наночастиц. Исследование зон ингибирования роста в отношении *Staphylococcus aureus* (20 мм), *Klebsiella pneumoniae* (23 мм), *Escherichia coli* (22 мм) и *Pseudomonas aeruginosa* (19 мм) показало наличие антибактериальных свойств у ткани покрытой наночастицами серебра. Наночастицы не проявляли цитотоксичности в диапазоне концентраций от 2,5 до 15 мкг/мл. Анализ клеточной миграции методом «царапин» показал значительное уменьшение миграции клеток при обработке наночастицами серебра в концентрации 7,5 мкг/мл по сравнению с 5 мкг/мл [42]. Данные наночастицы могут применяться для придания антибактериального эффекта перевязочным материалам, а также способствуют ранозаживлению.

A. K. Kar исследовали синтез AgNP с помощью полимеров *in situ*, а также добавлении галлата эпигаллокатехина (EGCG) для применения в качестве перевязочных материалов для ран. AgNP размером 6–12 нм получали *in situ* с применением нитрата серебра и аминированной гуаровой камеди, используя ее в качестве восстанавливающего и стабилизирующего агента. Далее во время получения пластыря добавляли EGCG, благодаря наличию у него антиоксидантных, противовоспалительных и антимикробных свойств [43]. Изучение высвобождения AgNP в течение 15 дней показало первоначальный всплеск 2–2,5 частей на миллион в первые сутки и дальнейшее стабильное высвобождение в пределах 3–4 частей на миллион. Выживаемость клеточных линий кератиноцитов кожи мыши (MSC-P5) 75–80 % показывает отсутствие цитотоксических эффектов у данного мате-

риала. Анализ на антибактериальную активность выявил наибольшую эффективность гидрогелей, содержащих AgNP без добавления EGCG, в отношении грамположительных (*B. subtilis*, *S. aureus*) и грамотрицательных (*E. coli*, *P. aeruginosa*) бактерий, добавление EGCG незначительно снижало антибактериальный эффект. Однако добавление EGCG способствовало снижению количества провоспалительного фактора IL-6 и поддержанию базального уровня противовоспалительного цитокина IL-10, что важно для запуска процессов восстановления ткани [44]. Исследователями были получены гидрогели, обладающие антибактериальными свойствами в течение продолжительного периода времени, также способствующие быстрому заживлению раны за счет проявления противовоспалительных эффектов.

### Применение наночастиц серебра в лечении вирусных заболеваний

Вирусы представляют собой одну из основных причин смертности и болезней во всем мире. Появление устойчивых вирусных штаммов продолжают замедлять применение эффективных противовирусных методов лечения [45]. Наночастицы серебра используют в качестве противовирусных агентов из-за их ингибирующей активности против множества вирусов, включая определенные штаммы коронавируса [46, 47], гепатита, гриппа, герпеса и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) на разных этапах жизненного цикла [48].

Пандемия синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), вызванная инфекцией вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1), является актуальной проблемой мирового общественного здравоохранения [49]. По последним данным Организации Объединённых Наций по ВИЧ/СПИДу (UNAIDS) общее мировое число людей, живущих с ВИЧ-1 или СПИДОМ, составляет более 38 млн человек [50]. Высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ) значительно снизила заболеваемость СПИДОМ [51], но имеет ограничения по побочным эффектам [52], частый режим дозирования, ведущий к несоблюдению приема препаратов и возникновению резистентных штаммов. В связи с этим имеются перспективы применения достижений нанотехнологии в лечении данного заболевания [53–55].

R. K. Sharma и др. изучали непосредственное влияние наночастиц серебро-куркумин на латентно инфицированные ВИЧ-1 клетки (ACH-2). Наночастицы размером 45 нм были получены биологическим методом с применением куркумы как восстанавливающего и стабилизирующего агента. Анализ на цитотоксичность продемонстрировал 90 % выживаемость при концентрациях от 20–100 мкл. Было установлено снижение экспрессии гена LTR ВИЧ-1 на 73 % через 48 ч, при этом для наночастиц серебра, полученных восстановлением цитратом, этот показатель составил 14 %. Также было показано снижение экспрессии

гена NF-κB, участвующего в транскрипции воспалительных факторов и сигналов к апоптозу (повышенная экспрессия воспалительных факторов, которая способствует возникновению неврологических и других осложнений при ВИЧ-инфекции [56]), на 79 % для наночастиц серебро-куркумин, для AgNP данный показатель составил 60 % [57]. Таким образом, были получены наночастицы серебра, не оказывающие цитотоксического эффекта, усиленные куркумином и более эффективные в отношении ВИЧ.

Н. Н. Lara и др. установили ингибирующую активность AgNP размером 30–50 нм в концентрации 0,3–5,0 мг/мл против взаимодействия вирусного белка gp120 и трансмембранного гликопротеина CD4, экспрессируемого на иммунных клетках, поражаемых ВИЧ. Наблюдалось снижение взаимодействия на 60 % (50,0 мг/мл) по сравнению с контролем [58].

С. G. Whiteley и др. изучали взаимодействие AgNP с протеазой ВИЧ-1. Наночастицы размером около 2 нм получали путем восстановления боргидридом и стабилизировали цитратом натрия. Было установлено, что AgNP взаимодействуют с тиолатной группой Cys<sup>95</sup> протеазы ВИЧ, которая расположена на расстоянии 1,05 нм от реактивного COO<sup>-</sup> активного сайта Asp<sup>25</sup> и 1,07 нм от Trp<sup>6</sup>, уменьшая при этом нуклеофильный потенциал COO<sup>-</sup> и возможно способны ингибировать фермент [59]. Однако последующие исследования С.-Н. Tsai и др. по изучению влияния AgNP на протеазу ВИЧ-1 показали, что образование комплекса, AgNP с протеазой, не влияло на работу фермента. Наночастицы размером 0,92–3,48 нм в данном исследовании были получены ранее описанным методом. Помимо изучения влияния на протеазу, рассматривали активность наночастиц в отношении белков, подвергаемых ее воздействию. Для этого были синтезированы пептиды, содержащие последовательность соединения матричного белка p17 – Val-Ser-Gln-Asn-Tyr\* и белка вирусного капсида p24 – Pro-Ile-Val-Gln-Asn (\* – место расщепления соединения протеазой ВИЧ-1). Исследование продемонстрировало, что комплекс образованный наночастицами серебра с пептидами защищает их от последующего действия протеазы, однако при одновременном воздействии часть пептидов оказывается «разрезанными» [60]. Исходя из этого, возможно применение AgNP для усиления терапевтического эффекта ингибиторов протеазы ВИЧ.

S. D. Kumar и др. изучали влияние AgNP на обратную транскриптазу ВИЧ-1. В ходе исследования AgNP размером 12–28 нм были получены биологическим методом с применением экстракта мангрового дерева *Rhizophora lamarckii* в качестве восстанавливающего и стабилизирующего агента. Был установлен дозозависимый эффект ингибирования обратной транскриптазы ВИЧ-1 *in vitro*, IC<sub>50</sub> составило 0,4 мкг/мл [61]. Следовательно, имеет место применение AgNP в качестве ингибитора обратной транскриптазы при лечении ВИЧ, а также имеется перспек-

тива в лечении гепатитов, к которым относится возбудитель гепатита В.

Влияние AgNP на вирус гепатита В (HBV) было изучено Лэй Лу и др., которые сообщили, что AgNP размером от 10 до 50 нм проявляют противовирусную активность без клеточной токсичности. Кроме того, AgNP подавляют выработку РНК HBV и внеклеточных вирионов *in vitro* [62].

Еще одно применение наночастиц серебра, разработанных в противовирусных целях, касается лечения гриппа. Было опубликовано большое количество исследований, по результатам которых AgNP проявляют ингибирующую активность против вируса H1N1, а также вируса H3N2. Система доставки препарата амантадин, используемого для лечения и профилактики гриппа, была сформирована в наномасштабе вместе с наночастицами серебра, которые синтезированы с использованием аскорбиновой кислоты [63]. С использованием аналогичного метода была разработана совместная доставка AgNP с препаратом занамивир для снижения устойчивости вируса H1N1 [64]. Сообщалось, что занамивир и амантадин самоорганизуются на поверхности AgNP, проявляя более высокий ингибирующий потенциал нейраминидазы и активности гемагглютинаина, по сравнению с использованием при лечении только противовирусного препарата. По исследованиям Д. Сян и др. AgNP оказывают положительное влияние на предотвращение инфицирования вирусом гриппа H3N2 как *in vitro*, так и *in vivo*, и демонстрируют, что AgNP могут использоваться в качестве потенциальных терапевтических средств для подавления вспышек гриппа. Вирусы гриппа H3N2, обработанные AgNP, были проанализированы с помощью просвечивающей электронной микроскопии, и обнаружено, что они взаимодействуют друг с другом, что приводит к разрушению морфологических вирусных структур в зависимости от времени в диапазоне от 30 минут до 2 часов. Кроме того, интраназальное введение AgNP мышам значительно увеличивало выживаемость после заражения вирусом гриппа H3N2 [65].

В таблице 1 приведены данные по применению AgNP в качестве противовирусного средства.

### **Композитные материалы наночастиц серебра, применяемые в биомедицинских целях**

С развитием нанотехнологий серебро используется в сочетании с другими материалами, которые усиливают свойства друг друга, особенно в биомедицинской области [73–76].

Используя преимущества серебра в сочетании с рядом других веществ, AgNP применяется в области медицины в качестве перевязочных материалов, способствующих заживлению ран, так и для адресной доставки лекарства. Например, А. Nameed и др. получали нанокомпозиты серебра и золота, стабилизи-

Таблица 1. Наночастицы серебра, используемые в противовирусной терапии

Table 1. Silver nanoparticles that are used in antiviral therapy

Вирус Virus	Механизм действия Mechanism of action	Размер наночастиц, нм; метод получения Size of NP, nm Synthesis methods of NP	Форма наночастиц Shape of NP	Ссылка Reference
1	2	3	4	5
Респираторно-синцитиальный вирус человека Human respiratory syncytial virus	Прикрепление AgNP к поверхностному гликопротеину RSV-F вируса Adhesion of AgNP to the surface glycoprotein RSV-F of the virus	8–12; применялись готовые наночастицы 8–12; ready NP	Сферическая Spherical	[66]
Вирус герпеса 2 типа Herpes virus type 2	Прикрепление AgNP к поверхностным гликопротеинам gB, gD и gH-gL вируса Adhesion of AgNP to the surface glycoprotein gB, gD и gH-gL of the virus	13, 33, 46; получены цитратным методом с добавлением дубильной кислоты 13, 33, 46; obtained by the citrate method with the addition of tannic acid	Сферическая Spherical	[67]
Вирус полиомиелита Poliovirus	Взаимодействие с вирусными частицами, препятствуя их связыванию с рецепторами клеток Interaction with viral particles, preventing them from binding to cell receptors	4–9; получены электрохимическим методом с применением цитрата 4-9; obtained by electrochemical method using citrate	Сферическая Spherical	[68]
Аденовирус типа 3 Adenovirus type 3	Взаимодействие с оболочкой и ДНК вируса Interaction with the shell and the DNA of the virus	11,4; получены восстановлением дубильной кислоты 11.4; obtained by reduction with tannic acid	Сферическая Spherical	[69]
Вирус денге Denge virus	Исследование показало значительное снижение титра вируса, механизм не изучен The study showed a significant decrease in the titer of the virus, the mechanism has not been studied	100; синтезированы с применением <i>Moringa oleifera</i> 100; synthesized with <i>Moringa oleifera</i>	Сферическая Spherical	[70]
Коронавирус SARS-CoV-2 Coronavirus SARS-CoV-2	Возможный механизм внеклеточного действия за счет разрыва дисульфидных связей на спайковом белке вируса и рецепторах ангиотензинпревращающего фермента 2 клетки [71]; внутриклеточные механизмы нуждаются в дополнительном изучении Possible mechanism of extracellular action due to the rupture of disulfide bonds on the spike protein of the virus and receptors of the angiotensin-converting enzyme 2 of the cell [71]; intracellular mechanisms need further study	2–15; применялись готовые наночастицы 2–15; finished nanoparticles were used	Сферическая Spherical	[72]

рованные цефуроксимом (антибиотиком). Композиционные материалы показали различную активность ингибирования ферментов бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella typhi* [77]. Данные композитные наночастицы проявляют антибактериальные свойства против широкого спектра бактерий, что может быть актуально для обработки поверхностей, различных медицинских изделий и поверхностей.

Х. Jiang и др. получали биметаллические наночастицы Au-Ag экологически безопасным и простым, микробиологическим путем, используя кишечную палочку *E. coli*. В ходе исследования было установлено наличие антибактериального эффекта у получа-

емых композитов в отношении *E. coli* и *Staphylococcus aureus*, а также возможность их применения для колориметрического обнаружения перекиси водорода без использования пероксидазы. [78]. Разработанный композитный материал показывает широкий спектр биологической активности, и показывает возможность применения данного материала в медицинской практике.

P. Dallas и др. разработали композитный материал, который представлял из себя пленки Ti/TiO<sub>2</sub>, покрытые наночастицами серебра. Авторы продемонстрировали простой способ модификации поверхности Ti/TiO<sub>2</sub> наночастицами серебра. Методами рентгеноструктурно анализа и атомно-силовой микроскопии

было доказано, что через 24 часа спонтанная адсорбция AgNP с блокировкой цитратом приводит к образованию островков трехмерных наночастиц, однородно распределенных на поверхности Ti/TiO<sub>2</sub>. Была установлена антибактериальная активность, по отношению к *P. aeruginosa* [79, 80]. Данную разработку можно использовать для модификации поверхностей имплантатов из различных металлов, например титана без необходимости в дорогостоящем оборудовании или сложных процедурах.

B. S. Necula и др. показали успешный метод анодного формирования для получения нанокompозитных материалов MgO-Ag. Данный материал имеет высокую пористость и толщину около 7 мкм. Магниево-серебряные сплавы имеют высокий потенциал в качестве металлических биоматериалов для медицинских устройств из-за их низкого модуля Юнга по сравнению с титаном и кобальт-хромовыми сплавами. Пористые покрытия могут обеспечить расширенную биофункциональность магниевых изделий за счет границы раздела ткань – имплантат, а наночастицы серебра формируют рельеф поверхности и обеспечивают антибактериальные свойства [81]. Все это делает данный материал перспективным для использования в биомедицинских целях, позволяет сочетать различные композиции, а также получать импланты заданных параметров в широком диапазоне.

D. Lee и др. исследовали дентальные барьерные мембраны, применяемые в стоматологии для укрепления подвижных зубов при пародонтологических лоскутных операциях, состоящие из композита наночастицы серебро-хитозан и полиуретана. Нановолоконные мембраны получали путем смешивания композита и полиуретана методом электроформования. Было установлено, что мембраны не проявляют цитотоксического эффекта в процентном содержании серебра до 0,034 %, а также проявляют дозозависимый антибактериальный эффект в отношении *Porphyromonas gingivalis*, являющихся причиной возникновения воспалительных процессов в период лечения. Зоны ингибирования роста *Porphyromonas gingivalis* для образцов, содержащих 0,01, 0,024 и 0,034 %, составили 10,70 ± 0,23 мм, 11,84 ± 0,32 мм и 12,85 ± 0,13 мм соответственно, что показывает возможность применения низких концентраций серебра для достижения эффективных результатов. Включение AgNP в дентальные барьерные мембраны обеспечивало эффективное применение данных мембран для процессов восстановления и формирования кости в стоматологических операциях [82].

Одним из популярных композитных материалов на основе наночастиц являются нанообъекты серебра, поверхность которых модифицирована различными соединениями, в основном полимерными [83].

Ju. M. Galdorogro и др. получали наночастицы серебра с помощью экстракта Падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*), который использовался в

качестве восстанавливающего и стабилизирующего агента, а также образовывал на поверхности полифенольный слой. Средний размер композитных наночастиц составлял 70 нм, что было доказано методом динамического рассеяния света и электронной микроскопией, а также ИК-спектроскопией. Показана антибактериальная активность в отношении в отношении *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* и *C. albicans*. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) для различных микроорганизмов составила 50 г/мл для *P. aeruginosa* и 125 г/мл для *S. epidermidis* и *C. albicans*. Также установлена антиоксидантная активность в относительно низкой концентрации. Кроме того, наночастицы в концентрации до 60 мкг/мл показывают отсутствие цитотоксических эффектов, что демонстрирует их биосовместимость. Все эти свойства делают данный композитный материал уникальным материалом для тканевой инженерии [84].

Еще одним материалом, применяемым в биомедицинских целях, являются гидрогели, включающие в свою структуру наночастицы серебра. Наночастицы серебра могут включаться в гели различных полимеров, таких как каррагинаны, альгинаты, крахмал, поливиниловый спирт и др. Примером таких систем является наночастицы серебра, включенные в гидрогель гуаровой камеди. Гуаровая камедь является полисахаридом, содержащим остатки галактозы. Композитный материал был получен путем обработки ультразвуком смеси тетрабората натрия, нитрата серебра, поливинилового спирта и гуаровой камеди. В ходе работы были установлены антибактериальные свойства полученных наночастиц против грамотрицательных бактерий, например *E. Coli* [85]. Гидрогелевые композиты PVA-GG-AgNPs показали отличные механические и антибактериальные свойства, что делает данный материал перспективным для применения в различных биологических системах.

M. S. Rubina и др. разработали композитный материал, который включал в себя коллаген-хитозановую матрицу, наночастицы серебра и ибупрофен. Таким образом, коллаген-хитозановый каркас был модифицирован нестероидным противовоспалительным препаратом ибупрофеном и наночастицами серебра. Авторы подробно изучили механизмы высвобождения лекарств и рассмотрели кинетику высвобождения ибупрофена в раствор [86]. Разработанные композитные материалы могут применяться в качестве повязок с контролируемой доставкой лекарств с антимикробными свойствами для облегчения боли и предотвращения инфекции во время лечения ран и порезов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе было проведено исследование по изучению основных направлений применения наночастиц серебра в биомедицинских целях.

Было показано, что AgNP могут быть использованы в противоопухолевой терапии для доставки лекарственных средств, а также возможность их применения в качестве цитостатических препаратов. Кроме того, в данной работе сообщается об исследованиях, которые доказывают эффективное применение наночастиц серебра в терапии опухолевых заболеваний.

Наночастицы серебра обладают ярко-выраженными антибактериальными свойствами и на основе этого могут применяться для усиления или придания антибактериальных свойств различным материалам. Актуальным является использование AgNP в области стоматологии в качестве добавки к пломбирочным материалам, а также к дентальным мембранам.

В настоящее время вирусные заболевания являются одной из главных проблем человечества. AgNP успешно используются в качестве противовирусных агентов.

Высокая значимость исследований, посвященных применению наночастиц серебра в медицинских целях, доказывает перспективу использования в медицинской практике новых нанобъектов.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Abadeer N. S., Murphy C. J. Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*. 2016;120(9):4691–4716. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b11232.
- Daraee H., Eatemadi A., Abbasi E., Aval S.F., Kouhi M., Akbarzadeh A. Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2016;44(1):410–422. DOI: 10.3109/21691401.2014.955107.
- Malekzadeh M., Halali M. Production of silver nanoparticles by electromagnetic levitation gas condensation. *Chemical Engineering Journal*. 2011;168(1):441–445. DOI: 10.1016/j.cej.2010.12.081.
- Tsuji T., Iryo K., Watanabe N., Tsuji M. Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in solution: Influence of laser wavelength on particle size. *Applied Surface Science*. 2002;202(1–2):80–85. DOI: 10.1016/S0169-4332(02)00936-4.
- Dong X., Ji X., Wu H., Zhao L., Li J., Yang W. Shape control of silver nanoparticles by stepwise citrate reduction. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009;113(16):6573–6576. DOI: 10.1021/jp900775b.
- Ahlatw D. S., Kumari R., Rachna, Yadav I. Synthesis and characterization of sol-gel prepared silver nanoparticles. *International Journal of Nanoscience*. 2014;13(1). DOI: 10.1142/S0219581X14500045.
- Van Dong P., Ha C. H., Binh L. T., Kasbohm J. Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. *International Nano Letters*. 2012;2(1):1–9. DOI: 10.1186/2228-5326-2-9.
- Nourafkan E., Alamdari A. Study of effective parameters in silver nanoparticle synthesis through method of reverse microemulsion. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2014;20(5):3639–3645. DOI: 10.1016/j.jiec.2013.12.059.
- Feroze N., Arshad B., Younas M., Afridi M. I., Saqib S., Ayaz A. Fungal mediated synthesis of silver nanoparticles and evaluation of antibacterial activity. *Microscopy Research and Technique*. 2020;83(1):72–80. DOI: 10.1002/jemt.23390.
- Singh R., Shedbalkar U.U., Wadhvani S. A., Chopade B. A. Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015;99(11):4579–4593. DOI: 10.1007/s00253-015-6622-1.
- Manikandan R., Manikandan B., Raman T., Arunagirinathan K., Prabhu N.M., Basu M. J., Perumal M., Palanisamy S., Munusamy A. Biosynthesis of silver nanoparticles using ethanolic petals extract of *Rosa indica* and characterization of its antibacterial, anticancer and anti-inflammatory activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015;138:120–129. DOI: 10.1016/j.saa.2014.10.043.
- Sanli O., Dobruch J., Knowles M. A., Burger M., Alemozaffar M., Nielsen M. E., Lotan Y. Bladder cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;3. DOI: 10.1038/nrdp.2017.22.
- Tran S., DeGiovanni P.-J., Piel B., Rai P. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clinical and Translational Medicine*. 2017;6(1):44. DOI: 10.1186/s40169-017-0175-0.
- Wang L., Shi C., Wright F. A., Guo D., Wang X., Wang D., Wojcikiewicz R. J. H., Luo J. Multifunctional telodendrimer nanocarriers restore synergy of bortezomib and doxorubicin in ovarian cancer treatment. *Cancer Research*. 2017;77(12):3293–3305. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3119.
- Murugesan K., Koroth J., Srinivasan P. P., Singh A., Mukundan S., Karki S. S., Choudhary B., Gupta C. M. Effects of green synthesised silver nanoparticles (ST06-AgNPs) using curcumin derivative (ST06) on human cervical cancer cells (HeLa) in vitro and EAC tumor bearing mice models. *International Journal of Nanomedicine*. 2019;14:5257–5270. DOI: 10.2147/IJN.S202404.
- Gomathi A. C., Rajarathinam S. R. X., Sadiq A. M., Rajeshkumar S. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7 human breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020;55:101376. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.101376.
- Acharya D., Satapathy S., Somu P., Parida U. K., Mishra G. Apoptotic Effect and Anticancer Activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles from Marine Algae *Chaetomorpha linum* Extract Against Human Colon Cancer Cell HCT-116. *Biological Trace Element Research*. 2021;199(5):1812–1822. DOI: 10.1007/s12011-020-02304-7.
- Aziz Mousavi S. M. A., Mirhosseini S. A., Panahi M. R. Sh., Hosseini H. M. Characterization of Biosynthesized Silver Nanoparticles Using *Lactobacillus rhamnosus* GG and its In Vitro Assessment Against Colorectal Cancer Cells. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2020;12(2):740–746. DOI: 10.1007/s12602-019-09530-z.
- Ali S., Perveen S., Ali M., Jiao T., Sharma A. S., Hassan H., Devaraj S., Li H., Chen Q. Bioinspired morphology-controlled silver nanoparticles for antimicrobial application. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;108:110421. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110421.
- He H., Cai R., Wang Y., Tao G., Guo P., Zuo H., Chen L., Liu X., Zhao P., Xia Q. Preparation and characterization of silk sericin/PVA blend film with silver nanoparticles for potential antimicrobial application. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;104:457–464. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.009.
- Kalaivani R., Maruthupandy M., Muneeswaran T., Beevi A. H., Anand M., Ramakritinan C. M., Kumaraguru A. K. Synthesis of chitosan mediated silver nanoparticles (Ag NPs) for potential antimicrobial applications. *Frontiers in Laboratory Medicine*. 2018;2(1):30–35. DOI: 10.1016/j.flm.2018.04.002.
- Liao S., Zhang Y., Pan X., Zhu F., Jiang C., Liu Q., Cheng Z., Dai G., Wu G., Wang L., Chen L. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Nanomedicine*. 2019;14:1469–1487. DOI: 10.2147/IJN.S191340.
- Qayyum S., Oves M., Khan A. U. Obliteration of bacterial growth and biofilm through ROS generation by facilely synthesized green silver nanoparticles. *PLOS ONE*. 2017;12(8):e0181363. DOI: 10.1371/journal.pone.0181363.
- Hajipour M. J., Fromm K. M., Ashkarran A. A., de Aberasturi D. J., de Larramendi I. R., Rojo T., Serpooshan V., Parak W. J., Mahmoudi M. Antibacterial properties of the nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. 2012;30(10):499–511. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004.
- Wu Yu., Yang Ya., Zhang Z., Wang Z., Zhao Ya., Sun L. A facile method to prepare size-tunable silver nanoparticles and its antibacterial mechanism. *Advanced Powder Technology*. 2018;29(2):407–415. DOI: 10.1016/j.apt.2017.11.028.
- Abbas W. S., Atwan Z. W., Abdulhussein Z. R., Mahdi M. A. Preparation of silver nanoparticles as antibacterial agents through DNA damage. *Materials Technology*. 2019;34(14):867–879. DOI: 10.1080/10667857.2019.1639005.
- Jiang H. S., Zhang Y., Lu Z. W., Lebrun R., Gontero B., Li W. Interaction between Silver Nanoparticles and Two Dehydrogenases: Role of Thiol Groups. *Small*. 2019;15(27):1900860. DOI: 10.1002/smll.201900860.

28. Godoy-Gallardo M., Eckhard U., Delgado L.M., de Roo Puentente Y.J.D., Hoyos-Nogués M., Gil F.J., Perez R.A. Antibacterial approaches in tissue engineering using metal ions and nanoparticles: From mechanisms to applications. *Bioactive Materials*. 2021;6(12):4470–4490. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.04.033.
29. Yin I.X., Zhang J., Zhao I.S., Mei M.L., Li Q., Chu C.H. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:2555–2562. DOI: 10.2147/IJN.S246764.
30. Friedman C.M., Sandrik J.L., Heuer M.A., Rapp G.W. Composition and Mechanical Properties of Gutta-Percha Endodontic Points. *Journal of Dental Research*. 1975;54(5):921–925. DOI: 10.1177/00220345750540052901.
31. Mohan A., Dipallini S., Lata S., Mohanty S., Pradhan P.K., Patel P., Makkar H., Verma S.K. Oxidative stress induced antimicrobial efficacy of chitosan and silver nanoparticles coated Gutta-percha for endodontic applications. *Materials Today Chemistry*. 2020;17:100299. DOI: 10.1016/j.mtchem.2020.100299.
32. Deng J., Ren L., Pan Ya., Gao H., Meng X. Antifungal property of acrylic denture soft liner containing silver nanoparticles synthesized in situ. *Journal of Dentistry*. 2021;106:103589. DOI: 10.1016/j.jdent.2021.103589.
33. Takamiya A.S., Monteiro D.R., Gorup L.F., Silva E.A., de Camargo E.R., Gomes-Filho J.E., de Oliveira S.H.P., Barbosa D.B. Biocompatible silver nanoparticles incorporated in acrylic resin for dental application inhibit *Candida albicans* biofilm. *Materials Science and Engineering: C*. 2021;118:111341. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111341.
34. Natale L.C., Alania Y., Rodrigues M.C., Simões A., de Souza D.N., de Lima E., Arana-Chavez V.E., Hewer T.L.R., Hiers R., Esteban-Florez F.L., Brito G.E.S., Khajotia S., Braga R.R. Synthesis and characterization of silver phosphate/calcium phosphate mixed particles capable of silver nanoparticle formation by photoreduction. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;76:464–471. DOI: 10.1016/j.msec.2017.03.102.
35. Rodrigues M.C., Rolim W.R., Viana M.M., Souza T.R., Gonçalves F., Tanaka C.J., Bueno-Silva B., Seabra A.B. Biogenic synthesis and antimicrobial activity of silica-coated silver nanoparticles for esthetic dental applications. *Journal of Dentistry*. 2020;96:103327. DOI: 10.1016/j.jdent.2020.103327.
36. Youssef M.M., El-Mansy M.N., El-Borady O.M., Hegazy E.M. Impact of biosynthesized silver nanoparticles cytotoxicity on dental pulp of albino rats (histological and immunohistochemical study). *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 2021;11(3):386–392. DOI: 10.1016/j.jobocr.2021.04.002.
37. AshaRani P.V., Mun G.L.K., Hande M.P., Valiyaveetil S. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells. *ACS Nano*. 2009;3(2):279–290. DOI: 10.1021/nn800596w.
38. Zhang T., Wang L., Chen Q., Chen C. Cytotoxic potential of silver nanoparticles. *Yonsei Medical Journal*. 2014;55(2):283–291. DOI: 10.3349/ymj.2014.55.2.283.
39. Rigo C., Ferroni L., Tocco I., Roman M., Munivrana I., Gardin C., Cairns W.R.L., Vindigni V., Azzena B., Barbante C., Zavan B. Active silver nanoparticles for wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(3):4817–4840. DOI: 10.3390/ijms14034817.
40. Diniz F.R., Maia R.C.A.P., Andrade L.R., Andrade L.N., Chaud M.V., da Silva C.F., Corrêa C.B., de Albuquerque Junior R.L.C., da Costa L.P., Shin S.R., Hassan Sh., Sanchez-Lopez E., Souto E.B., Severino P. Silver nanoparticles-composing alginate/gelatine hydrogel improves wound healing in vivo. *Nanomaterials*. 2020;10(2):390. DOI: 10.3390/nano10020390.
41. Chen K., Wang F., Liu S., Wu X., Xu L., Zhang D. In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;148:501–509. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.156.
42. Veerarahgavan V.P., Periadurai N.D., Karunakaran T., Hussain S., Surapaneni K.M., Jiao X. Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of *Scutellaria barbata* and coating on the cotton fabric for antimicrobial applications and wound healing activity in fibroblast cells (L929). *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021;28(7):3633–3640. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.05.007.
43. Henning S.M., Niu Ya., Liu Y., Lee N.H., Hara Yu., Thames G.D., Minutti R.R., Carpenter C.L., Wang H., Heber D. Bioavailability and antioxidant effect of epigallocatechin gallate administered in purified form versus as green tea extract in healthy individuals. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2005;16(10):610–616. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2005.03.003.
44. Kar A.K., Singh A., Dhiman N., Purohit M.P., Jagdale P., Kamthan M., Singh D., Kumar M., Ghosh D., Patnaik S. Polymer-Assisted In Situ Synthesis of Silver Nanoparticles with Epigallocatechin Gallate (EGCG) Impregnated Wound Patch Potentiate Controlled Inflammatory Responses for Brisk Wound Healing. *International Journal of Nanomedicine*. 2019;14:9837–9854. DOI: 10.2147/IJN.S228462.
45. Galdiero S., Falanga A., Vitiello M., Cantisani M., Marra V., Galdiero M. Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents. *Molecules*. 2011;16(10):8894–8918. DOI: 10.3390/molecules16108894.
46. Zachar O. Formulations for COVID-19 Early Stage Treatment via Silver Nanoparticles Inhalation Delivery at Home and Hospital. *ScienceOpen*. 2020:1–14. DOI: 10.14293/S2199-1006.1.SOR-.PPHBJEO.v1.
47. Siadati S.A., Afzali M., Sayadi M. Could silver nanoparticles control the 2019-nCoV virus?; An urgent glance to the past. *Chemical Review and Letters*. 2020;3:9–11. DOI: 10.22034/crl.2020.224649.1044.
48. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.-S., Chen G. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*. 2015;20(5):595–601. DOI: 10.1016/j.drudis.2014.11.014.
49. AIDS. United Nations. Available at: <https://www.un.org/en/global-issues/aids>. Accessed: 04.06.2021.
50. Global HIV & AIDS statistics – Fact sheet. UNAIDS. Available at: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>. Accessed: 04.06.2021.
51. Survival after introduction of HAART in people with known duration of HIV-1 infection. *Lancet*. 2000;355(9210):1158–1159. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02069-9.
52. Burgoyne R.W., Tan D.H.S. Prolongation and quality of life for HIV-infected adults treated with highly active antiretroviral therapy (HAART): a balancing act. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008;61(3):469–473. DOI: 10.1093/jac/dkm499.
53. Parboosing R., Maguire G.E.M., Govender P., Kruger H.G. Nanotechnology and the treatment of HIV infection. *Viruses*. 2012;4(4):488–520. DOI: 10.3390/v4040488.
54. Liu Y., Chen Ch. Role of nanotechnology in HIV/AIDS vaccine development. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016;103:76–89. DOI: 10.1016/j.addr.2016.02.010.
55. Garrido C., Simpson C.A., Dahl N.P., Bresee J., Whitehead D.C., Lindsey E.A., Harris T.L., Smith C.A., Carter C.J., Feldheim D.L., Melander C., Margolis D.M. Gold nanoparticles to improve HIV drug delivery. *Future Medicinal Chemistry*. 2015;7(9):1097–1107. DOI: 10.4155/fmc.15.57.
56. Shah A., Gangwani M.R., Chaudhari N.S., Glazyrin A., Bhat H.K., Kumar A. Neurotoxicity in the Post-HAART Era: Caution for the Antiretroviral Therapeutics. *Neurotoxicity Research*. 2016;30(4):677–697. DOI: 10.1007/s12640-016-9646-0.
57. Sharma R.K., Cwiklinski K., Aalinkeel R., Reynolds J.L., Sykes D.E., Quaye E., Oh J., Mahajan S.D., Schwartz S.A. Immunomodulatory activities of curcumin-stabilized silver nanoparticles: Efficacy as an antiretroviral therapeutic. *Immunological Investigations*. 2017;46(8):833–846. DOI: 10.1080/08820139.2017.1371908.
58. Lara H.H., Ayala-Nuñez N.V., Ixtepan-Turrent L., Rodríguez-Padilla C. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology*. 2010;8(1):1–10. DOI: 10.1186/1477-3155-8-1.
59. Shing C.-Y., Whiteley C.G., Lee D.-J. HIV protease: Multiple fold inhibition by silver nanoparticles-Spectrofluorimetric, thermodynamic and kinetic analysis. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2014;45(4):1140–1148.
60. Tsai C.-H., Whiteley C.G., Lee D.-J. Interactions between HIV-1 protease, silver nanoparticles, and specific peptides. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2019;103:20–32. DOI: 10.1016/j.jtice.2019.07.019.

61. Kumar S. D., Singaravelu G., Ajithkumar S., Murugan K., Nicoletti M., Benelli G. Mangrove-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles with High HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitory Potential. *Journal of Cluster Science*. 2017;28(1):359–367. DOI: 10.1007/s10876-016-1100-1.
62. Lu L., Sun R. W.-Y., Chen R., Hui C.-K., Ho C.-M., Luk J. M., Lau G. K. K., Che C.-M. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antiviral Therapy*. 2008;13:253–262.
63. Li Y., Lin Z., Zhao M., Guo M., Xu T., Wang Ch., Xia H., Zhu B. Reversal of H1N1 influenza virus-induced apoptosis by silver nanoparticles functionalized with amantadine. *RSC Advances*. 2016;6(92):89679–89686. DOI: 10.1039/c6ra18493f.
64. Lin Z., Li Y., Guo M., Xu T., Wang Ch., Zhao M., Wang H., Chen T., Zhu B. The inhibition of H1N1 influenza virus-induced apoptosis by silver nanoparticles functionalized with zanamivir. *RSC Advances*. 2017;7(2):742–750. DOI: 10.1039/C6RA25010F.
65. Xiang D., Zheng Ya., Duan W., Li X., Yin J., Shigdar S., O'Connor M. L., Marappan M., Zhao X., Miao Y., Xiang B., Zheng C. Inhibition of A/Human/Hubei/3/2005 (H3N2) influenza virus infection by silver nanoparticles in vitro and in vivo. *International Journal of Nanomedicine*. 2013;8:4103–4114. DOI: 10.2147/IJN.S53622.
66. Morris D., Ansar M., Speshock J., Ivanciuc T., Qu Y., Casola A., Garofalo R. Antiviral and immunomodulatory activity of silver nanoparticles in experimental RSV infection. *Viruses*. 2019;11(8):732. DOI: 10.3390/v11080732.
67. Orlowski P., Tomaszewska E., Gniadek M., Baska P., Nowakowska J., Sokolowska J., Nowak Z., Donten M., Celichowski G., Grobelny J., Krzyzowska M. Tannic Acid Modified Silver Nanoparticles Show Antiviral Activity in Herpes Simplex Virus Type 2 Infection. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e104113. DOI: 10.1371/journal.pone.0104113.
68. Huy T. Q., Thanh N. T. H., Thuy N. T., Chung P. V., Hung P. N., Le A.-T., Hanh N. T. H. Cytotoxicity and antiviral activity of electrochemical – synthesized silver nanoparticles against poliovirus. *Journal of Virological Methods*. 2017;241:52–57. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.12.015.
69. Chen N., Zheng Y., Yin J., Li X., Zheng C. Inhibitory effects of silver nanoparticles against adenovirus type 3 in vitro. *Journal of Virological Methods*. 2013;193(2):470–477. DOI: 10.1016/j.jviromet.2013.07.020
70. Sujitha V., Murugan K., Paulpandi M., Panneerselvam C., Suresh U., Roni M., Nicoletti M., Higuchi A., Madhiyazhagan P., Subramaniam J., Dinesh D., Vadivalagan C., Chandramohan B., Alarfaj A. A., Munusamy M. A., Barnard D. R., Benelli G. Green-synthesized silver nanoparticles as a novel control tool against dengue virus (DEN-2) and its primary vector *Aedes aegypti*. *Parasitology Research*. 2015;114(9):3315–3325. DOI: 10.1007/s00436-015-4556-2.
71. Hati S., Bhattacharyya S. Impact of Thiol–Disulfide Balance on the Binding of Covid-19 Spike Protein with Angiotensin-Converting Enzyme 2 Receptor. *ACS Omega*. 2020;5(26):16292–16298. DOI: 10.1021/acsomega.0c02125.
72. Jeremiah S. S., Miyakawa K., Morita T., Yamaoka Yu., Ryo A. Potent antiviral effect of silver nanoparticles on SARS-CoV-2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2020;533(1):195–200. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.09.018.
73. Ravindran A., Chandran P., Khan S. S. Biofunctionalized silver nanoparticles: Advances and prospects. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;105:342–352. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.07.036.
74. Mohammadi R., Eidi E., Ghavami M., Kassaee M. Z. Chitosan synergistically enhanced by successive Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and silver nanoparticles as a novel green catalyst in one-pot, three-component synthesis of tetrahydrobenzo[a]xanthene-11-ones. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2014;393:309–316. DOI: 10.1016/j.molcata.2014.06.005.
75. Cai Yu., Tan F., Qiao X., Wang W., Chen J., Qiu X. Room-temperature synthesis of silica supported silver nanoparticles in basic ethanol solution and their antibacterial activity. *RSC Advances*. 2016;6(22):18407–18412. DOI: 10.1039/c5ra27053g.
76. Al-Masoodi A. H. H., Nazarudin N. F. F. B., Nakajima H., Tunmee S., Goh B. T., Majid W. H. B. A. Controlled growth of silver nanoparticles on indium tin oxide substrates by plasma-assisted hot-filament evaporation: Physical properties, composition, and electronic structure. *Thin Solid Films*. 2020;693:137686. DOI: 10.1016/j.tsf.2019.137686.
77. Hameed A., Fatima S., Rahman F.U., Yoon T.-H., Azam A., Khan S., Khan A., Islam N.U. Synergistic enzyme inhibition effect of cefuroxime by conjugation with gold and silver. *New Journal of Chemistry*. 2014;38(4):1641. DOI: 10.1039/c3nj00974b.
78. Jiang X., Fan X., Xu W., Zhang R., Wu G. Biosynthesis of Bimetallic Au–Ag Nanoparticles Using *Escherichia coli* and its Biomedical Applications. *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2020;6(1):680–689. DOI: 10.1021/acsbomaterials.9b01297.
79. Dallas P., Tucek J., Jancik D., Kolar M., Panacek A., Zboril R. Magnetically Controllable Silver Nanocomposite with Multifunctional Phosphotriazine Matrix and High Antimicrobial Activity. *Advanced Functional Materials*. 2010;20(14):2347–2354. DOI: 10.1002/adfm.200902370.
80. Flores C. Y., Diaz C., Rubert A., Benítez G. A., Moreno M. S., Fernández Lorenzo de Mele M. A., Salvarezza R. C., Schilardi P. L., Vericat C. Spontaneous adsorption of silver nanoparticles on Ti/TiO<sub>2</sub> surfaces. Antibacterial effect on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010;350(2):402–408. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.06.052.
81. Necula B. S., Fratila-Apachitei L. E., Berkani A., Apachitei I., Duszczuk J. Enrichment of anodic MgO layers with Ag nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2009;20(1):339–345. DOI: 10.1007/s10856-008-3589-9.
82. Lee D., Lee S. J., Moon J.-H., Kim J. H., Heo D. N., Bang J. B., Lim H.-N., Preparation of antibacterial chitosan membranes containing silver nanoparticles for dental barrier membrane applications. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2018;66:196–202. DOI: 10.1016/j.jiec.2018.05.030.
83. Bhatia D., Mittal A., Malik D. K. Antimicrobial activity of PVP coated silver nanoparticles synthesized by *Lysinibacillus varians*. *3 Biotech*. 2016;6(2):1–8. DOI: 10.1007/s13205-016-0514-7.
84. Galdopórpóra J. M., Ibar A., Tuttolomondo M. V., Desimone M. F. Dual-effect core-shell polyphenol coated silver nanoparticles for tissue engineering. *Nano-Structures & Nano-Objects*. 2021;26:100716. DOI: 10.1016/j.nanoso.2021.100716.
85. Deka R., Sarma S., Patar P., Gogoi P., Sarmah J. K. Highly stable silver nanoparticles containing guar gum modified dual network hydrogel for catalytic and biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116786. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116786.
86. Rubina M. S., Said-Galiev E. E., Naumkin A. V., Shulenina A. V., Belyakova O. A., Vasil'kov A. Yu. Preparation and characterization of biomedical collagen–chitosan scaffolds with entrapped ibuprofen and silver nanoparticles. *Polymer Engineering and Science*. 2019;59(12):2479–2487. DOI: 10.1002/pen.25122.



**ISPE**®

Eurasian Economic  
Union Affiliate



**16–18 ноября 2021**

**Конференция ISPE ЕАЭС - 2021**

**ОЭЗ «Технополис Москва»**

## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

В своей редакционной политике журнал следует принципам целостности публикаций в научных журналах, соответствующим положениям авторитетных международных ассоциаций, таких как Committee on Publication Ethics (COPE), Council of Science Editors (CSE), International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), European Medical Writers Association (EMWA) и World Association of Medical Editors (WAME), устанавливающих стандарты этического поведения всех вовлеченных в публикацию сторон (авторов, редакторов журнала, рецензентов, издательства и научного общества). Журнал с помощью всестороннего, объективного и честного рецензирования стремится отбирать для публикации лишь материалы, касающиеся научных исследований наивысшего качества.

Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Разработка и регистрация лекарственных средств» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты передовых исследований фармацевтической отрасли.

Журнал публикует оригинальные и обзорные научные статьи по темам:

- поиск и разработка новых лекарственных средств;
- фармацевтическая технология;
- методы анализа лекарственных средств;
- доклинические и клинические исследования;
- регуляторные вопросы.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», должно соответствовать науке:

- 14.04.01 – Технология получения лекарств (фармацевтические науки);
- 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки);
- 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Публикуемые материалы должны соответствовать следующим критериям:

- Научная актуальность и значимость проблемы, которой посвящена статья (тематика статьи должна представлять интерес для широкого круга исследователей, занимающихся разработкой и регистрацией лекарственных средств).
- Высокая степень доказательности (современная исследовательская база, наличие сертификатов на оборудование, достаточный объем выборок и подходы к математической обработке результатов исследования).
- Концептуальный характер исследования (авторы не должны ограничиваться констатацией фактов, необходим анализ полученного материала с учетом данных литературы, должны быть высказаны новые идеи и гипотезы).

### УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

1. К рассмотрению принимаются материалы только в электронном виде, направленные в редакцию через систему на сайте в формате .doc или .docx (незащищенный формат файлов).
2. Рассматриваются только оригинальные материалы, ранее не публиковавшиеся и не нарушающие авторские права других лиц. Все статьи проходят проверку в системе «Антиплагиат»; уникальность текста статьи должна составлять не менее 75 %. При выявлении подобных текстов одного и того же автора в других печатных и электронных изданиях, статья снимается с публикации.
3. Согласно требованиям Высшей аттестационной комиссии, журнал отдает приоритет аспирантским и докторским работам, срок их публикации зависит от предполагаемой даты защиты, которую авторы должны указать в первичных документах, прилагаемых к рукописи.
4. Авторы должны заполнить и подписать Сопроводительное письмо, отсканировать и загрузить при подаче рукописи в редакцию (в формате \*.pdf или \*.jpg).

### ПОРЯДОК ПУБЛИКАЦИИ РУКОПИСЕЙ

1. Рукопись обязательно проходит первичный отбор на соответствие оформления статьи согласно требованиям журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств». В случае несоответствия правилам оформления Редакция вправе отказать в публикации или прислать свои замечания к статье, которые должны быть исправлены Автором перед рецензированием.

2. Все рукописи, прошедшие первичный отбор, направляются по профилю научного исследования на экспертизу и проходят обязательное конфиденциальное рецензирование. Все рецензенты являются признанными специалистами, имеющими публикации по тематике рецензируемой статьи в течение последних 3 лет или в области обработки данных. Рецензирование проводится конфиденциально как для Автора, так и для самих рецензентов. При получении положительных рецензий работа считается принятой к рассмотрению редакционной коллегией, которая выносит решение, в каком номере журнала будет опубликована статья.

3. Все утвержденные статьи поступают в работу к редактору и корректору.

Окончательный макет статьи согласовывается с автором.

### ЕДИНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РУКОПИСЯМ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫМ В ЖУРНАЛ «РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

Составлены с учетом требований Высшей аттестационной комиссии РФ и «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов.

Оригинальную версию «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов, можно посмотреть на сайте [www.ICMJE.org](http://www.ICMJE.org)

Проведение и описание всех клинических исследований должно быть в полном соответствии со стандартами CONSORT – <http://www.consort-statement.org>

### ОБЩИЕ ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

Электронный вариант статьи прилагается в формате A4 Microsoft Word (\*.doc), Поля 2 см, шрифт Times New Roman, размер шрифта 14 пунктов через 1,5 интервала.

Объем рукописи: обзор – 15–20 страниц; оригинальные статьи – 10–12 страниц, включая литературу, таблицы и подписи к рисункам. Страницы рукописи следует нумеровать.

**Перечень документов**, подаваемый на рассмотрение в редакцию журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», должен включать в себя:

1. Сопроводительное письмо.
2. Текст статьи.

#### 1. СОПРОВОДИТЕЛЬНОЕ ПИСЬМО

Авторы должны предоставить заполненное и подписанное сопроводительное письмо, приложив к нему указанные в тексте письма документы.

#### 2. РУКОПИСЬ

##### РУССКОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

##### Титульный лист:

1. УДК;
2. название статьи;
3. фамилии и инициалы авторов;
4. полные названия учреждений (надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы), полный почтовый адрес учреждений;
5. e-mail и телефон автора, ответственного за контакты с редакцией
6. ORCID всех авторов статьи.

##### Резюме и ключевые слова

Объем резюме должен составлять 250–300 слов. Резюме оригинальной статьи должно быть структурированным:

**Введение** (введение работы в сжатой форме).

**Цель** (цель работы в сжатой форме).

**Материалы и методы** (методы исследования, если необходимо, то указать их преимущества по сравнению с ранее применявшимися методическими приемами; характеристика материала).

**Результаты** (основные результаты исследования).

**Заключение** (основные выводы).

Резюме обзорной статьи также должно быть структурированным:

**Введение** (введение работы в сжатой форме).

**Текст** (описание содержания текста статьи в сжатой форме)

**Заключение** (основные выводы).

Все аббревиатуры в резюме необходимо раскрывать (несмотря на то, что они будут раскрыты в основном тексте статьи). Текст резюме должен быть связанным, с использованием слов «следовательно», «например», «в результате».

На сайте британского издательства Emerald приведены примеры качественных рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи – <http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESSID=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nr1v>)

**Ключевые слова:** (5–8) помещают под резюме после обозначения «Ключевые слова». Ключевые слова должны использовать термины из текста статьи, определяющие предметную область и способствующие индексированию статьи в поисковых системах, и не повторять название статьи.

**Вклад авторов.** Авторы должны написать информацию о их вкладе в работу (пример: Авторы X1, X2 и X3 придумали и разработали эксперимент, авторы X4 и X5 синтезировали образцы и провели их электрохимическое исследование. X3 и X4 провели исследование методом спектроскопии комбинационного рассеяния и ЯМР. Авторы X1 и X6 участвовали в обработке данных. Автор X7 проводил теоретические расчеты. Авторы X1, X2 и X7 участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов).

#### АНГЛОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

##### Article title

Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

##### Affiliation

Необходимо указывать официальное англоязычное название учреждения и почтовый адрес. Наиболее полный список названий учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: <http://elibrary.ru>

##### Образец оформления

Mental Health Research Institute  
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

##### Abstract

Резюме статьи на английском языке должно по смыслу и структуре (для оригинальной статьи: Introduction, Aim, Materials and methods, Results and discussion, Conclusion; для обзорной статьи: Introduction, Text, Conclusion) соответствовать русскоязычному, по содержанию может быть более полным. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог. Во избежание искажения основных понятий желательно иметь соответствующие английские термины. Это особенно важно, когда приводятся названия особых заболеваний, синдромов, упоминаются авторы или конкретные методы.

##### Keywords

Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

**Contribution of the authors.** Вклад авторов на английском языке должен соответствовать русскоязычному.

#### ОСНОВНОЙ ТЕКСТ

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру: а) введение; б) материалы и методы; в) результаты; г) обсуждение; д) заключение.

Обзорные статьи должны иметь следующую структуру а) введение; б) текст; д) заключение.

Текст обзорной статьи следует разделять на соответствующие содержанию статьи подразделы.

Должен быть переведен текст в таблицах и в рисунках. Текст должен быть и на русском, и на английском языках.

##### Введение

В разделе дается обоснование актуальности исследования и четко формулируется цель исследования.

##### Материалы и методы

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. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств ([grls.rosminzdrav.ru](http://grls.rosminzdrav.ru)). 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-производителя и страну происхождения [пример: хлористоводородная кислота, х.ч. (Сигма Тек, Россия)]. При описании специфических импортных реактивов [пример: из каталога Sigma-Aldrich] необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива.

При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: Синдрол таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 4 мг, производства ФАРМАТЕН С.А., Греция, серия 1100638, срок годности до 05.2013].

При описании используемых стандартных образцов необходимо приводить количественное содержание активного вещества в стандартном образце, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: римантадина гидрохлорид, субстанция-порошок, содержание римантадина 99,9%, Чжецзян Апелоа Кангю Фармацевтикал Ко.Лтд, Китай, серия KY-RH-M20110116, годен до 27.01.2016 г.].

При описании используемого аналитического оборудования необходимо указывать его название, фирму-производителя и страну происхождения [пример: прибор для теста «Растворение» DT-720 (Erweka GmbH, Германия)].

При описании используемого программного обеспечения необходимо указывать его название, версию, фирму-производителя, страну происхождения [пример: ChemStation (ver. B.04.03), Agilent Technologies, США].

При приведении в работе первичных данных аналитических исследований (спектров, хроматограмм, калибровочных графиков) их необходимо приводить в цвете, в прослеживаемом формате, с четкими, разборчивыми подписями осей, пиков, спектральных максимумов и т. д.). 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.

Рукописи статей, в которых при достаточном объеме экспериментальных данных отсутствует статистический анализ, а также некорректно использованы или описаны применяемые статистические методы, могут быть отклонены редакцией журнала.

Необходимо давать определение всем используемым статистическим терминам, сокращениям и символическим обозначениям. Например:  $M$  – выборочное среднее;  $m$  – ошибка среднего;  $\sigma$  – стандартное квадратичное отклонение;  $p$  – достигнутый уровень значимости и т.д. Если используется выражение типа  $M \pm m$ , указать объем выборки  $n$ . Если используемые статистические критерии имеют ограничения по их применению, указать, как проверялись эти ограничения и каковы результаты проверок. При использовании параметрических критериев описывается процедура проверки закона распределения (например, нормального) и результаты этой проверки.

Точность представления результатов расчетных показателей должна соответствовать точности используемых методов измерения. Средние величины не следует приводить точнее, чем на один десятичный знак по сравнению с исходными данными. Рекомендуется проводить округление результатов (средних и показателей вариабельности) измерения показателя до одинакового количества десятичных знаков, так как их разное количество может быть интерпретировано как различная точность измерений.

Согласно современным правилам, рекомендуется вместо термина «достоверность различий» использовать термин «уровень статистической значимости различий». В каждом конкретном случае рекомендуется указывать фактическую величину достигнутого уровня значимости  $p$  для используемого статистического критерия. Если показатель может быть рассчитан разными методами и они описаны в работе, то следует указать, какой именно метод расчета применен (например, коэффициент корреляции Пирсона, Спирмена, бисериальный и т. п.).

## Результаты и обсуждение

В разделе в логической последовательности представляются результаты исследования в виде текста, таблиц или рисунков (графики, диаграммы). Следует избегать повторения в тексте данных из таблиц или рисунков. В качестве альтернативы таблицам с большим числом данных используются графики. На графиках и диаграммах рекомендуется указывать доверительный интервал или квадратичное отклонение. На графиках обязательно должны быть подписи и разметка осей, указаны единицы измерений.

В разделе следует выделить новые и важные аспекты результатов проведенного исследования, проанализировать возможные механизмы или толкования этих данных, по возможности сопоставить их с данными других исследователей. Не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации и возможное применение полученных результатов в предстоящих исследованиях.

В обзорных статьях рекомендуется описать методы и глубину поиска статей, критерии включения найденных материалов в обзор.

## Заключение

В разделе представляются сформулированные в виде выводов результаты решения проблемы, указанной в заголовке и цели статьи. Не следует ссылаться на незавершенную работу. Выводы работы должны подтверждаться результатами проведенного статистического анализа, а не носить декларативный характер, обусловленный общими принципами.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

### Конфликт интересов

Указать наличие так называемого конфликта интересов, то есть условий и фактов, способных повлиять на результаты исследования (например, финансирование от заинтересованных лиц и компаний, их участие в обсуждении результатов исследования, написания рукописи и т. д.).

При отсутствии таковых использовать следующую формулировку: «Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи».

### Источник финансирования

Необходимо указывать источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется. При отсутствии источника финансирования использовать следующую формулировку: «Авторы заявляют об отсутствии финансирования».

### Соответствие принципам этики

Научно-исследовательские проекты с участием людей должны соответствовать этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, должны дать информированное согласие на участие в исследовании. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие.

Научно-исследовательские проекты, требующие использования экспериментальных животных, должны выполняться с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации

В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, номера протокола и даты заседания комитета).

### Благодарности

Все члены коллектива, не отвечающие критериям авторства, должны быть перечислены с их согласия с подзаголовком «Выражение признательности».

## ССЫЛКИ В ТЕКСТЕ СТАТЬИ

В журнале применяется **ванкуверский стиль цитирования**: в списке литературы ссылки нумеруются в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по ал-

фавиту. Библиографические ссылки в тексте статьи обозначаются цифрами в квадратных скобках (ГОСТ Р 7.0.5-2008).

Библиографическая информация должна быть современной, авторитетной и исчерпывающей. Ссылки должны даваться на первоисточники и не цитировать один обзор, где они были упомянуты. Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Каждый научный факт должен сопровождаться отдельной ссылкой на источник. Если в одном предложении упоминается несколько научных фактов, после каждого из них ставится ссылка (не в конце предложения). При множественных ссылках они даются в порядке хронологии [5–9]. Необходимо убедиться в том, что все ссылки, приведенные в тексте, присутствуют в списке литературы (и наоборот).

**Не следует ссылаться:** на неопубликованные статьи, на диссертации, а также авторефераты диссертаций, правильнее ссылаться на статьи, опубликованные по материалам диссертационных исследований.

**Следует избегать** ссылок на тезисы и статьи из сборников трудов и материалов конференций, поскольку их названия по требованию зарубежных баз данных должны быть переведены на английский язык. Еще не опубликованные, но принятые к печати статьи указываются «в печати» или «готовится к выходу», с добавлением письменного разрешения автора и издательства.

**Недопустимо самоцитирование**, кроме случаев, когда это необходимо (в обзоре литературы не более 3–5 ссылок).

Документы (приказы, ГОСТы, медико-санитарные правила, методические указания, положения, постановления, санитарно-эпидемиологические правила, нормативы, федеральные законы) нужно указывать в скобках в тексте.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы под заголовком **Литература/References** размещается в конце статьи и включает библиографическое описание всех работ, которые цитируются в тексте статьи.

Библиографические списки составляются с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals). Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

Учитывая требования международных систем цитирования, библиографические списки входят в англоязычный блок статьи и, соответственно, должны даваться не только на языке оригинала, но и в романском алфавите (латинскими буквами). Поэтому авторы статей должны представлять англоязычные источники латиницей, а русскоязычные – кириллицей и в романском алфавите. Транслитерируются фамилии авторов и русскоязычные названия источников (выделяется курсивом). Переводятся на английский язык названия статей, монографий, сборников статей, конференций с указанием после выходных данных языка источника (In Russ.). Название русскоязычных журналов в REFERENCES дается в *транслитерации*, затем ставится знак = и дается английское название журнала (не нужно самостоятельно переводить русское название журнала на английский язык, можно указать лишь ту версию названия на английском языке, которая, как правило, имеется на англоязычном сайте этого журнала. Если же ее нет, можно ограничиться транслитерацией).

Технология подготовки описания с использованием системы автоматической транслитерации и переводчика на сайте <http://www.translit.ru>

1. Войти на сайт [translit.ru](http://translit.ru). В окошке «варианты» выбрать систему транслитерации BGN (Board of Geographic Names). Вставить в специальное поле ФИО авторов, название издания на русском языке и нажать кнопку «в транслит».
2. Копировать транслитерированный текст в готовящийся список.
3. Перевести с помощью переводчика Google название книги, статьи на английский язык, перенести его в готовящийся список. Перевод, безусловно, требует редактирования, поэтому данную часть необходимо готовить человеку, понимающему английский язык.
4. Объединить транслитерируемое и переводное описания, оформляя в соответствии с принятыми правилами.

5. В конце описания в круглых скобках указывается (In Russ.).

Образец оформления списка литературы

#### Литература/References

##### 1. Литература

Насырова Р. Ф., Иванов М. В., Незнанов Н. Г. Введение в психофармакогенетику. СПб.: Издательский центр СПб НИПНИ им. В. М. Бехтерева; 2015. 272 с.

##### References

Nasyrova R. F., Ivanov M. V., Neznanov N. G. *Vvedenie v psikhofarmakogenetiku* [Introduction to psychopharmacogenetics]. St. Petersburg: Izdatel'skiy tsentr SPb NIPNI im. V. M. Bekhtereva; 2015. 272 p. (In Russ.).

##### 2. Литература

Колесник А. П. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого. *Онкология*. 2013;15(1):20–23

##### References

Kolesnik A. P. Prognostic value of p53 expression in patients with early non-small cell lung cancer. *Onkologiya*. 2013;15(1):20–23. (In Russ.).

##### 3. Литература

Шульженко М. Г., Василенко И. А., Уграк Б. И., Шохин И. Е., Медведев Ю. В., Малашенко Е. А. Сравнительный анализ методов определения подлинности субстанции-порошок «Даларгин». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):111–117 DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

##### References

Shulzhenko M. G., Vasilenko I. A., Ugrak B. I., Shohin I. E., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A. Comparative analysis of methods for determining the authenticity of the substance – «Dalargin» inquiry. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):111–117. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

##### 4. Литература/References

Üçok A., Gaebel W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. *World Psychiatry*. 2008;7(1):58–62. DOI: 10.1002/j.2051-5545.2008.tb00154.x.

##### 5. Литература/References

Cornier M. A., Dabelea D., Hernandez T. L., Lindstrom R. C., Steig A. J., Nicole R. S., Van Pelt R. E., Wang H., Eckel R. H. The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*. 2008;29(7):777–822. DOI: 10.1210/er.2008-0024.

**В библиографическом описании** каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Список литературы должен соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным стандартам (National Information Standards Organisation – NISO), принятому National Library of Medicine (NLM) для баз данных (Library's MEDLINE/PubMed database) NLM: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>.

Названия периодических изданий могут быть написаны в сокращенной форме в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine (NLM Catalog). Обычно эта форма написания самостоятельно принимается изданием; ее можно узнать на сайте издательства либо в списке аббревиатур Index Medicus. Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Названия отечественных журналов сокращать нельзя. Недопустимо сокращать название статьи.

**Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций**

##### Монографии

Выходные данные указываются в следующей последовательности: фамилия и инициалы автора (авторов), название монографии (полностью раскрывая все слова), номер повторного издания, место издания (город), издательство, год издания, количество страниц.

##### Образец оформления

Для русскоязычных источников

##### Литература

Соколова Г. Н., Потапова В. Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис; 2009. 328 с.

##### References

Sokolova G. N., Potapova V. B. *Kliniko-patogeneticheskie aspekty yazvennoy bolezni zheludka* [Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer]. Moscow: Anacharsis; 2009:328 p. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Jenkins P. F. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Статья из журнала

Выходные данные указываются в следующей последовательности: автор(ы) (фамилии и инициалы всех авторов). Название статьи. Название журнала (курсивом). Год; том (в скобках номер журнала): цифры первой и последней страниц.

##### Образец оформления

Для русскоязычных источников

##### Литература

Шишкин С. В., Мустафина С. В., Щербакова Л. В., Симонова Г. И. Метаболический синдром и риск инсульта в популяции Новосибирска. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2014;13(3):53–57.

##### References

Shishkin S. V., Mustafina S. V., Shcherbakova L. V., Simonova G. I. Metabolic syndrome and risk of stroke in the population of Novosibirsk. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2014;13(3):53–57. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Dickerson F. B., Brown C. H., Kreyenbuhl J. A., Fang L., Goldberg R. W., Wohlheiter K., Dixon L.B. Obesity among individuals with serious mental illness. *Acta Psychiatrica Scand*. 2006;113(4):306–313. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2005.00637.x.

**Варианты библиографического описания материалов конференций:** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7272/>

**Варианты библиографического описания патентов:** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7260/>

**Варианты библиографического описания ресурсов удаленного доступа:** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7274/>

##### DOI

Во всех случаях, когда у цитируемого материала есть цифровой идентификатор Digital Object Identifier (DOI), его необходимо указывать в самом конце библиографической ссылки. Проверять наличие DOI статьи следует на сайте <http://search.crossref.org/> или <https://www.citethisforme.com>.

Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке. Данный сайт, помимо DOI, автоматически генерирует правильно оформленное библиографическое описание статьи на английском языке в стиле цитирования AMA. Подавляющее большинство зарубежных журнальных статей с 2000 г. и многие русскоязычные статьи (опубликованные после 2013 г.) зарегистрированы в системе CrossRef и имеют уникальный DOI. За достоверность и правильность оформления представляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до отказа в праве на публикацию.

##### ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Таблицы и рисунки должны быть представлены на русском и английском языках.

##### Таблицы

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок на русском и английском языке и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию.

Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Для сноски применяется символ \*. Если используются данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, должно быть полностью приведено его название.

##### Рисунки

Все рисунки (диаграммы, фотографии) нумеруются. В тексте должна быть ссылка на соответствующий рисунок.

Каждый рисунок должен сопровождаться подрисуночной подписью на русском и английском языках. В подрисуночных подписях не должно быть аббревиатур. Внутрисуночные обозначения подписываются цифрами или латинскими буквами.

Если рисунки ранее уже публиковались, необходимо указать оригинальный источник, представить письменное разрешение на их воспроизведение от держателя прав на публикацию.

Список подрисуночных подписей на русском и английском языках размещается в конце статьи.

Рисунки представляются отдельными файлами в формате \*.tif, \*.jpg, \*.cdr, \*.ai. с разрешением не менее 300 dpi.

Каждый файл именуется по фамилии первого автора и номеру рисунка.

pharmtech  
& ingredients



a Hyve event

**Международная  
выставка оборудования,  
сырья и технологий  
для фармацевтического  
производства**

**23-26  
НОЯБРЯ  
2021**

Россия, Москва  
МВЦ «Крокус Экспо»

**ПОЛУЧИТЕ  
БЕСПЛАТНЫЙ БИЛЕТ  
НА САЙТЕ  
ПО ПРОМО-КОДУ:**

**pha21print**

**pharmtech-expo.ru**  
+7 (495) 799-55-85  
pharmtech@hyve.group



Реклама



# Ингредиенты и добавки

Международная  
конференция  
и выставка

**30 ноября —  
2 декабря 2021**

Москва, Технопарк «Сколково»

## «Ингредиенты и добавки» — это:

- Масштабная деловая программа с эксклюзивными знаниями из первых рук
- Широкий выбор ингредиентов и добавок для производства товаров повседневного спроса
- Современная выставочная площадка с хорошей транспортной доступностью



Получите бесплатный  
электронный билет  
по промокоду: **pharmj21**

[new.ingred.ru](http://new.ingred.ru)

Организатор



Международная  
Выставочная  
Компания

+7 (495) 252-11-07  
[ingred@mvk.ru](mailto:ingred@mvk.ru)

# ТЕСТИРОВАНИЕ РАСТВОРЕНИЯ

## DT 950 Series

ЦИФРОВОЕ  
ТЕСТИРОВАНИЕ  
РАСТВОРЕНИЯ



## RoboDis II+

ПОЛНОСТЬЮ  
АВТОМАТИЧЕСКОЕ  
ТЕСТИРОВАНИЕ



## USP 4 DFZ II

ТЕСТИРОВАНИЕ ПО МЕТОДУ  
ПРОТОЧНАЯ ЯЧЕЙКА



ООО „ЭРВЕКА“

115114 Москва  
Летниковская 16-103

E-Mail: [sales@erweka.ru](mailto:sales@erweka.ru)  
Тел.: +7 499 110 90 60

# ERWEKA



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 иммунетоксическое действие)
- специфическая фармакологическая активность
- фармакокинетические исследования

## МЫ РАБОТАЕМ ДЛЯ ВСЕЙ ФАРМЫ

[WWW.OLPHARM.RU](http://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](mailto:INFO@OLPHARM.RU)