WWW.PHARMJOURNAL.RU

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN2305-2066

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

СТРАТЕГИЧЕСКИЙ ИНФОРМАЦИОННЫЙ ПАРТНЕР

ПРИ ПОДДЕРЖКЕ

МГНОВЕННЫЙ АНАЛИЗ САМЫХ СЛОЖНЫХ ОБРАЗЦОВ

Портативный рамановский спектрометр Metrohm Mira с ORS технологией

стр. 247

Pharmcontract group of companies

Авторизованный партнер в фармацевтической отрасли АО «АВРОРА» – эксклюзивного дилера оборудования Metrohm AG в России

В НОМЕРЕ:

ПРИМЕНЕНИЕ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ С НЕСТЕРОИДНЫМИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ СРЕДСТВАМИ В ФАРМАЦИИ

СОЗДАНИЕ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК CHO

АНАЛИЗ МЕЖДУНАРОДНЫХ ТРЕБОВАНИЙ К КОМПЛЕКСНОМУ ПРОЕКТИРОВАНИЮ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ РАСТВОРИМОСТИ ГИДРОФОБНЫХ И ТРУДНОРАСТВОРИМЫХ ВЕЩЕСТВ

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ИННОВАЦИОННОГО АНТИРЕТРОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА НИКАВИР® И ЕГО ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ С ЛАМИВУДИНОМ (ФОСФАЛАДИН®)

ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ АНАЛЬГЕТИКАХ

№ 2 (15) МАЙ 2016

Summum bonum medicinae sanitas

Pharmcontract® group of companies

ВЕДУЩИЙ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ХОЛДИНГ РОССИИ

СОЗДАНИЕ И МОДЕРНИЗАЦИЯ «ПОД КЛЮЧ» ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ, ХИМИЧЕСКИХ, ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ И ЛАБОРАТОРИЙ

ПРОЕКТИРОВАНИЕ

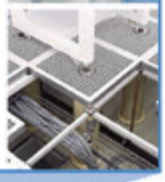
- Концептуальное проектирование
- Проектирование на стадии Проект (П) и Рабочая документация (Р)
- Прохождение экспертизы
- Проведение квалификации DQ
- Автоматизированное проектирование
- Авторский надзор
- Управление проектами

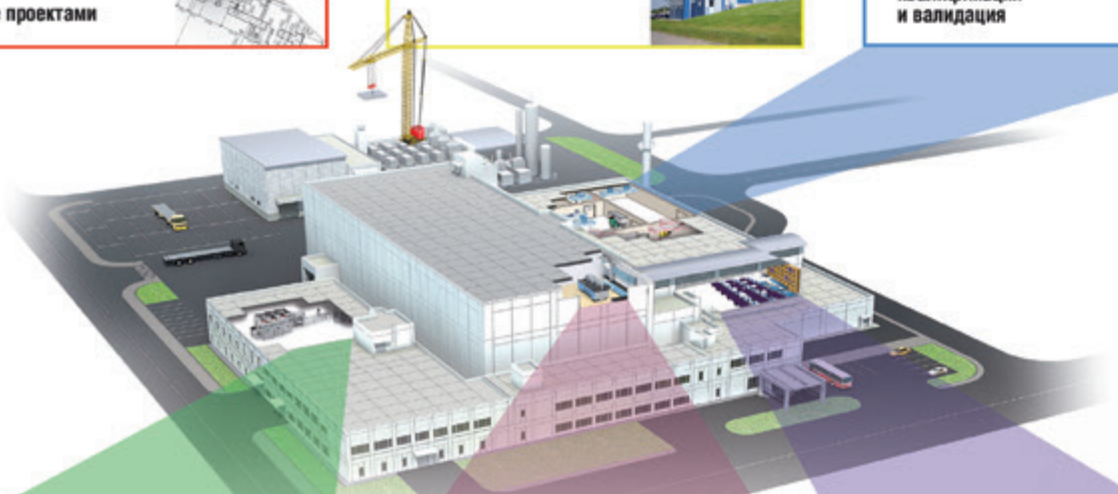
СТРОИТЕЛЬСТВО

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

ИНЖИНИРИНГ И КОМПЛЕКС ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

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





ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОСНАЩЕНИЕ

- Подготовка и согласования технического задания (URS)
- Формирование ТКП (технико-коммерческих предложений)
- Разработка детальных спецификаций
- оборудования и сопровождающей
- документации
- Сопровождение поставки, включая SAT и FAT
- Сопровождение
- валидационных работ IQ/OQ

ЛАБОРАТОРНОЕ ОСНАЩЕНИЕ

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

СЕРВИС, ВАЛИДАЦИЯ, ОБУЧЕНИЕ

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

+7 (495) 252–00–98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)

8 800 333–69–11
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК ПО РОССИИ 24 ЧАСА)

www.phct–group.com
www.phct.ru

WWW.PHARMJOURNAL.RU

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

При поддержке ФБУ «ГИЛС и НП»

Учредитель

Группа компаний «Фармконтракт»
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

Директор журнала

Залеских О.В.

Редакционная коллегия

Главный редактор:
Шохин И.Е., к.фарм.н.
info@pharmjournal.ru

Редактор раздела «Фармацевтическая технология и нанотехнологии»:
Демина Н.Б., проф., д.фарм.н.

Редактор раздела «Биотехнология»:
Гусаров Д.А., к.х.н.

Редактор раздела «Аналитические методики и методы контроля»:
Медведев Ю.В., к.фарм.н.

Редактор раздела «Эффективность и безопасность лекарственных средств»:
Малашенко Е.А., к.фарм.н.

Редактор раздела «Регуляторные вопросы»:
Василенко И.А., проф., д.х.н.

Русинов В.Л., чл.-корр. РАН, д.х.н.
Белоусов М.В., проф., д.фарм.м.
Емшанова С.В., д.фарм.н.
Князев А.С., доц., д.х.н.
Леонидов Н.Б., проф., д.биол.н.
Макеев О.Г., проф., д.м.н.
Попов В.В., проф., д.м.н.
Сливкин А.И., проф., д.фарм.н.
Станишевский Я.М., проф., д.х.н.
Смехова И.Е., д.фарм.н.
Сысуев Б.Б., доц., д.фарм.н.
Чучалин В.С., д.фарм.н.
Аммур Ю.И., к.биол.н.

Кулинич Ю.И., к.фарм.н.
Мустафин Р.И., к.фарм.н.
Павлов В.М., к.фарм.н.
Павлова Л.А., к.фарм.н.
Палеева М.А., к.фарм.н.
Смирнов В.В., к.фарм.н.
Ташлицкий В.Н., к.х.н.
Хуторянский В., проф. (Великобритания)
Боян Салия (Сербия)
Книттер Х.-Ю. (Германия)
Поль Смит (Великобритания)

Выпускающий редактор:
Дорина Е.А., к.п.н.
info@pharmjournal.ru

Дизайн-концепция:
Григорьев В.А.
Михайлова Н.С.
info@phct-media.ru

Редактор-корректор:
Троицкая Е.Н.

Адрес редакции

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

Отпечатано в типографии

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

Свидетельство о регистрации СМИ:

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

ISSN 2305-2066

Журнал зарегистрирован в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ)
Тираж 40000 экземпляров
Журнал выходит один раз в квартал
Подписной индекс в каталоге «Пресса России» 57964

Ответственность за опубликованные материалы несут авторы

Цена свободная

Founder

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

Journal director

Zaleskikh O.V.

Editorial board

Editor-in-chief:
Shohin I.E., PhD
info@pharmjournal.ru

Editor of «Pharmaceutical Technology and Nanotechnology» part:
Diomina N.B., prof., PhD

Editor of «Biotechnology» part:
Gusarov D.A., PhD

Editor of «Analytical and Quality Control Methods» part:
Medvedev Y.V., PhD

Editor of «Drug Products Efficacy and Safety» part:
Malashenko E.A., PhD

Editor of «Regulatory Issues» part:
Vasilenko I.A., prof., PhD

Rusinov V.L., RAS c.-m., PhD
Belousov M.V., prof., PhD
Emshanova S.V., PhD
Knyazev A.S., as.prof., PhD
Leonidov N.B., prof., PhD
Makeev O.G., prof., PhD
Popov V.V., prof., PhD
Slivkin A.I., prof., PhD
Stanishevskiy Ya.M., prof., PhD
Smekhova I.E., PhD
Sysuev B.B., as.prof., PhD
Chuchalin V.S., PhD
Ammur Yu.I., PhD

Kulinich J.I., PhD
Moustafine R.I., PhD
Pavlov V.M., PhD
Pavlova L.A., PhD
Paleeva M.A., PhD
Smirnov V.V., PhD
Tashlitskiy V.N., PhD
Khutoryanskiy V., prof., PhD (UK)
Bojan Calija, as.prof., PhD (Serbia)
Knitter H.-J. (Germany)
Paul Smith (UK)

Commissioning Editor:
Dorina E.A., PhD
info@pharmjournal.ru

Design concept:
Grigoriev V.A.
Mikhaylova N.S.
info@phct-media.ru

Corrector:
Troitskaya E.N.

Media registration certificate:

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

ISSN 2305-2066

Journal is registered in Russian index of scientific citation

Circulation: 40000 copies
A peer-reviewed quarterly journal
Index listing «The Russian Press» 57964

Editorial office address

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

Printing office

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

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

Free Price

Научно-производственный рецензируемый журнал
РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Содержание

Contents

От редакции	6	**Introduction**
Экспертное мнение	8	**Expert Opinion**
Мероприятия	14	**Events**
Раздел «Фармацевтическая технология и нанотехнологии»		**«Pharmaceutical Technology and Nanotechnology» part**
Секция «Современные технологии создания лекарственных форм»		***«Modern Technology of Creating Dosage Forms» section***
Краснюк (мл.) И.И., Овсянникова Л.В., Степанова О.И., Беляцкая А.В., Краснюк И.И., Харитонов Ю.Я., Грих В.В., Кошелева Т.М., Король Л.А.	40	*Krasnuk (junior) I.I., Ovsyannikova L.V., Stepanova O.I., Belyatskaya A.V., Krasnuk I.I., Kharitonov Yu.Ya., Grikh V.V., Kosheleva T.M., Korol L.A.*
ПРИМЕНЕНИЕ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ С НЕСТЕРОИДНЫМИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ СРЕДСТВАМИ В ФАРМАЦИИ		APPLICATION OF SOLID DISPERSIONS WITH NON STEROIDAL ANTI INFLAMMATORY DRUGS IN PHARMACY
Козлова Ж.М., Пчелинцев С.О., Халикова Э.Р., Заболотная П.Г., Маслова М.Н., Ким Г.А.	46	*Kozlova Z.M., Pchelintcev S.O., Khalikova E.R., Zabolotnaya P.G., Maslova M.N., Kim G.A.*
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК, ДИСПЕРГИРУЕМЫХ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ, МЕТОДОМ ПРЯМОГО ПРЕССОВАНИЯ		THE USE OF MODERN COMBINED ADDITIVE AGENTS FOR DIRECTLY COMPRESSED ORODISPERSIBLE TABLETS
Гулякин И.Д., Николаева Л.Л., Оборотова Н.А., Дмитриева М.В., Ланцова А.В., Санарова Е.В., Орлова О.Л., Полозкова А.П., Лаврухин Н.И., Бунятян Н.Д.	52	*Gulyakin I.D., Nikolaeva L.L., Oborotova N.A., Dmitrieva M.V., Lantsova A.V., Sanarova E.V., Orlova O.L., Polozkova A.P., Lavrukhin H.I., Bunyatyan N.D.*
ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ РАСТВОРИМОСТИ ГИДРОФОБНЫХ И ТРУДНОРАСТВОРИМЫХ ВЕЩЕСТВ		COMMON METHODS INCREASING THE SOLUBILITY OF POORLY SOLUBLE HYDROPHOBIC SUBSTANCES
Демина Н.Б.	60	*Diomina N.B.*
СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ СУППОЗИТОРИИ		MODERN ASPECTS OF SUPPOSITORIES MANUFACTURING
Секция «Биофармация»		***«Biopharmacy» section***
Орлова Т.В., Панкрушева Т.А., Огнещикова Н.Д., Нестерова А.В.	70	*Orlova T.V., Pankrusheva T.A., Ogneschikova N.D., Nesterova A.V.*
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СУППОЗИТОРИЕВ ПАРАЦЕТАМОЛА ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ		THE BIOPHARMACEUTICAL INVESTIGATION OF PARACETAMOL SUPPOSITORIES FROM DOMESTIC MANUFACTURERS
Секция «Технологический контроль лекарственных форм»		***«Technological Process Quality Control of Dosage Forms» section***
Абрамова Я.И., Чучалин В.С., Кузьмина А.А., Тарабукина С.М.	76	*Abramova Ya.I., Chuchalin V.S., Kuzmina A.A., Tarabukina S.M.*
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗАЦИИ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ		EVALUATION OF THE STERILIZATION PROCESS STABILITY FOR INFUSIONS

Раздел «Биотехнология»

Гусаров Д.А., Государев А.И., Гусарова В.Д., Бырихина Д.В., Ижаева Ф.М. **80**

СОЗДАНИЕ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК СНО

«Biotechnology» part

Gusarov D.A., Gosudarev A.I., Gusarova V.D., Byrikhina D.V., Izhaeva F.M. **80**

THE DEVELOPMENT OF A PRODUCTION SCALE TECHNOLOGY OF RECOMBINANT FOLLICLE STIMULATING HORMONE BIOPROCESS IN CHO CELL LINE

Раздел «Аналитические методики и методы контроля»

Секция «Контроль качества химико-фармацевтических препаратов»

Семина Е.В., Климович П.С., Долинкин А.О., Парфенова Е.В., Рубина К.А. **86**

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧИСТОТЫ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТАДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИИ

Меньшикова Л.А., Львова А.А., Шохин И.Е., Болдина Ю.Е., Комаров Т.Н., Медведев Ю.В. **94**

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОКСИФЛОКСАЦИНА ДЛЯ ТЕСТА «РАСТВОРЕНИЕ» МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Большакова М.В., Буракова М.А., Алексеев Б.О. **98**

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ 5-[2-(3-ТРЕТ-БУТИЛАМИНО-2-ГИДРОКСИПРОПОКСИ)ФЕНОКСИМЕТИЛ]-3-МЕТИЛ-1,2,4-ОКСАДИАЗОЛА ГИДРОХЛОРИДА В ГЛАЗНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНКАХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Кедик С.А., Панов А.В., Тюкова В.С. **104**

СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСА ВКЛЮЧЕНИЯ ДИСУЛЬФИРАМА С ГИДРОКСИПРОПИЛ-β-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ ДЛЯ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ

«Analytical and Quality Control Methods» part

«Quality Control of Chemical Drug Products» section

Semina E.V., Klimovich P.S., Dolinkin A.O., Parfenova E.V., Rubina K.A. **86**

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINING THE PURITY OF GENE THERAPY DRUG FOR TREATMENT OF ISCHEMIA

Menshikova L.A., Lvova A.A., Shohin I.E., Boldina Yu.E., Komarov T.N., Medvedev Yu.V. **94**

VALIDATION OF UV-SPECTROMETRY ASSAY METHOD FOR DISSOLUTION PROFILE TEST FOR MOXIFLOXACINE TABLETS

Bolshakova M.V., Burakova M.A., Alekseev B.O. **98**

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINING THE QUANTITATIVE CONTENT 5-[2-(3-TRET-BUTYLAMINO-2-HYDROXYPROPOXY) PHENOXYMETHYL]-3-METHYL-1,2,4- OXADIAZOLE HYDROCHLORIDE IN OCULAR DRUG FILMS FOR THE TREATMENT OF OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Kedik S.A., Panov A.V., Tyukova V.S. **104**

STANDARDIZATION OF INCLUSION COMPLEX OF DISULFIRAM WITH HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN FOR USE AS PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

Секция «Контроль качества лекарственного растительного сырья»

Боков Д.О., Самылина И.А. **108**

ПРЕДСТАВИТЕЛИ РОДА ПОДСНЕЖНИК (*GALANTHUS* L.): ИСТОРИЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ, АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ГОМЕОПАТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ЕГО ОСНОВЕ

«Quality Control of Herbal Drug Products» section

Bokov D.O., Samylina I.A. **108**

SNOWDROP SPECIES (*GALANTHUS* L.): HISTORY OF MEDICAL USE, TOPICAL STANDARDIZATION ISSUES OF HOMEOPATHIC CRUDE HERBAL DRUGS AND MEDICINES BASED ON IT

Научно-производственный рецензируемый журнал
РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Тринеева О.В. **114** *Trineeva O.V.*

ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЖИРНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ И МАСЛЯНЫХ ЭКСТРАКТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ (ОБЗОР)

FEATURES OF QUALITY ASSESSMENT AND STANDARDIZATION PROSPECTS OF FATTY OILS AND OIL EXTRACTS FOR PHARMACEUTICAL PURPOSES (REVIEW)

Раздел «Эффективность и безопасность лекарственных средств»

«Drug Products Efficacy and Safety» part

Секция «Кинетика растворения»

«Dissolution Profile Test» section

Шохин И.Е., Медведев Ю.В., Комаров Т.Н., Климова О.В., Бровченко Б.В. **136** *Shohin I.E., Medvedev Yu.V., Komarov T.N., Klimova O.V., Brovchenko B.V.*

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ИННОВАЦИОННОГО АНТИРЕТРОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА НИКАВИР® И ЕГО ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ С ЛАМИВУДИНОМ (ФОСФАЛАДИН®)

DISSOLUTION PROFILE STUDY FOR INNOVATION ANTI-RETROVIRAL DRUG PRODUCT NIKAVIR® AND ITS FIXED COMBINATION WITH LAMIVUDINE (PHOSPHALADINE®)

Секция «Доклинические исследования»

«Preclinical Trials» section

Васюков Г.Ю., Мильто И.В., Суходоло И.В., Митрофанова И.В. **146** *Vasukov G.U., Milto I.V., Sukhodolo I.V., Mitrofanova I.V.*

УЛЬТРАСТРУКТУРА ПЕЧЕНИ И ЛЕГКИХ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ МАГНИТОМИЦЕЛЛ НА ОСНОВЕ ПОКРЫТЫХ УГЛЕРОДОМ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА

ULTRASTRUCTURE OF RAT LIVER AND LUNGS AFTER SINGLE INTRAVENOUS INJECTION OF MAGNITOMICELLS BASED CARBON-COATED IRON NANOPARTICLES

Журавлева М.С., Померанцева Т.Я., Борисова Е.Д., Шадрина Н.В., Смирнова Т.Н. **152** *Zhuravleva M.S., Pomerantseva T.Y., Borisova E.D., Shadrina N.V., Smirnova T.N.*

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «ГИОСКАПИН» ПРОИЗВОДСТВА ООО «В-МИН» (РОССИЯ) И ЕГО МОНОКОМПОНЕНТОВ НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ФОРМАЛИНОВОГО АРТРИТА У КРЫС

DRUG «GEOSCAPE» PRODUCED BY «B-MIN» (RUSSIA) AND ITS MONOCOMPONENTS ON THE MODEL OF EXPERIMENTAL FORMALIN ARTHRITIS IN RATS

Секция «Клинические исследования»

«Clinical Trials» section

Яценко К.А., Кузнецов Е.А., Аркадьева А.В., Березина В.С. **158** *Yatsenko K.A., Kuznetsov E.A., Arkadjeva A.V., Berezina V.S.*

СТРАТЕГИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ КОПИЙ РАНЕЕ ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ. ЧАСТЬ 3. ПРОТОКОЛ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

CLINICAL DEVELOPMENT STRATEGY FOR COPIES OF PREVIOUSLY REGISTERED DRUGS. PART 3. PROTOCOL OF CLINICAL TRIAL OF BIOEQUIVALENCE

Кобякова О.С., Куликов Е.С., Деев И.А., Дмитриев А.А., Тюфилин Д.С., Пименов И.Д., Табакаев Н.А. **166** *Kobyakova O.S., Kulikov E.S., Deev I.A., Dmitriev A.A., Tyufilin D.S., Pimenov I.D., Tabakaev N.A.*

«МЕДИЦИНСКИЕ ПИСАТЕЛИ»: ВОЗРАСТАЮЩАЯ ПОТРЕБНОСТЬ ОТРАСЛИ

MEDICAL WRITERS: INCREASING NEED OF INDUSTRY

Кобякова О.С., Куликов Е.С., Деев И.А., Дмитриев А.А., Табакаев Н.А., Пименов И.Д., Тюфилин Д.С. **172** *Kobyakova O.S., Kulikov E.S., Deev I.A., Dmitriev A.A., Tabakaev N.A., Pimenov I.D., Tyufilin D.S.*

АНАЛИЗ МЕЖДУНАРОДНЫХ ТРЕБОВАНИЙ К КОМПЛЕКСНОМУ ПРОЕКТИРОВАНИЮ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ANALYSIS OF INTERNATIONAL REQUIREMENTS FOR DESIGNING OF CLINICAL TRIALS

Секция «Биоаналитические методики»

Мельников Е.С., Шохин И.Е., Аксёнов А.А., Адамов Г.В., Конюшкова А.Н. **180**

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАПЕЦИТАБИНА И ЕГО АКТИВНОГО МЕТАБОЛИТА 5-ФТОРУРАЦИЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

«Bioanalytical Methods» section

Melnikov E.S., Shohin I.E., Aksenov A.A., Adamov G.V., Konyushkova A.N.

DETERMINATION OF CAPECITABINE AND ITS ACTIVE METABOLITE 5-FLUOROURACIL IN BLOOD PLASMA BY HPLC-MS/MS

Секция «Фармакоэкономика»

Абдрашитова Г.Т., Скулкова Р.С. **188**

РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, НУЖДАЮЩИМСЯ В ПРОВЕДЕНИИ ДИАЛИЗА

«Pharmacoeconomics» section

Abdrashitova G.T., Skulkova R.S.

RESULTS OF THE PHARMACOECONOMIC STUDY OF MEDICAL CARE FOR END-STAGE RENAL FAILURE PATIENTS IN NEED OF DIALYSIS

Раздел «Регуляторные вопросы»

Шестаков В.Н., Подпружников Ю.В. **196**

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПОДГОТОВКИ ИНСПЕКТОРОВ GMP

«Regulatory Issues» part

Shestakov V.N., Podpruznikov Yu.V.

TOPICAL ISSUES OF TRAINING OF GMP INSPECTORS

Соснов А.В., Голубев С.С., Пункевич Б.С., Садовников С.В., Семченко Ф.М., Тохмахчи В.Н., Соснова А.А. **202**

ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ АНАЛЬГЕТИКАХ

Sosnov A.V., Golubev S.S., Punkevich B.S., Sadovnikov S.V., Semchenko F.M., Tohmahchi V.N., Sosnova A.A.

ASSESSMENT OF THE RUSSIAN FEDERATION REQUIREMENT IN POTENT ANALGESICS

Осипов К.В. **216**

ПРОДЛЕНИЕ СРОКА ДЕЙСТВИЯ ПАТЕНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В РОССИИ (ОБЗОР ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ)

Osipov K.V.

TERM EXTENSION OF DRUG PATENTS IN RUSSIA (REVIEW OF LEGISLATION AMENDMENTS)

Рожков С.С., Смирнов А.В. **222**

СОПОСТАВЛЕНИЕ РОССИЙСКИХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРЕДЕЛЬНОГО ВРЕДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Rozhkov S.S., Smirnov A.V.

COMPARISON OF RUSSIAN AND FOREIGN HYGIENIC PARAMETERS OF MEDICINES PERMISSIBLE EXPOSURE LIMIT

Раздел «История фармации»

Зеликсон Ю.И. **232**

РЕГЛАМЕНТАЦИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В РОССИИ XVI И XVII ВЕКОВ: ВЕРТОГРАДЫ, ФАРМАКОПЕИ, ЛЕЧЕБНИКИ

«History of Pharmacy» part

Zelikson Yu.I.

REGULATION OF DRUGS PRODUCTION IN RUSSIA XVI AND XVII CENTURIES: VINEYARD, PHARMACOPOEIAS, LECHEBNIK

Публикации партнеров **236** ***Partner Publications***

ОТ РЕДАКЦИИ

Научно-производственный журнал *«Разработка и регистрация лекарственных средств»* практически с первых дней своего существования стал активным участником конгрессно-выставочных мероприятий фармацевтической направленности, которые проводятся как на территории России, так и за ее пределами. Только за прошедший 2015 год издание осуществило информационную поддержку (в статусе «генеральный», «платиновый» или «стратегический партнер») и представило научно-прикладные публикации на более чем 100 отраслевых конгрессах и выставках. Безусловно, изменение макроэкономической ситуации оказало влияние и на современное положение в области конгрессно-выставочной деятельности: по сравнению с прошлым годом за аналогичный период (февраль – май) количество отраслевых мероприятий существенно сократилось, уменьшается количество посетителей, изменяется рынок компаний-организаторов и даже состав компаний-участников. Аналогичная ситуация замечена и в области внешнего обучения, повышения квалификации сотрудников фармпредприятий. Все чаще компании отдают предпочтение внутреннему обучению и системе менторства, наставничества.

Насколько изменилась расстановка сил и в какую сторону сместились акценты при принятии решений компаниями об участии в том или ином мероприятии, мы постарались проанализировать на основе данных наших партнеров – организаторов масштабных деловых мероприятий фармацевтической направленности и мониторинга запросов на проведение обучающих семинаров, поступающих в адрес учредителей нашего журнала.

Участие компании в конгрессно-выставочной деятельности – своеобразный индикатор ее финансово-экономического благополучия. Этот показатель особенно актуален в условиях «новой нормальности», ведь он позволяет оценить степень влияния экономических потрясений на бюджет компании, экономия которого начинается прежде всего с рекламно-маркетинговых затрат. С данной точки зрения две наиболее крупные весенние выставки химико-фармацевтической направленности (IPhEB&CPhI Russia и «Аналитика Экспо») демонстрируют некоторую стабильность по таким показателям, как количество экспонентов и посетителей. При более детальном изучении карты участников мы можем заметить, что статус-кво сохраняется за счет изменения компаний-участников. Например, в прошлом году российские фармацевтические производители, обеспечивающие выпуск импортозамещающей продукции, выступали с единой выставочной экспозицией, организованной под эгидой Минпромторга России в рамках системы демонстрации достижений и поддержки вывода на рынок продукции отечественной фармацевтической и медицинской промышленности. Коллективная экспозиция была одной из самых крупных на территории ВВЦ и «Крокус Экспо» (выставки IPhEB&CPhI Russia и «Аналитика Экспо» соответственно). В этом году, согласно сайту pharmmedexpo.ru (сайт, созданный для информирования отечественных производителей фармацевтической продукции о мероприятиях, проводимых Минпромторгом России в рамках системы демонстрации достижений…), коллективные экспозиции министерством не организуются. Как результат, ряд отечественных компаний не принимал участие в IPhEB&CPhI Russia или участвовал только в деловой программе выставки, в статусе обычного посетителя. С другой стороны, российский фармрынок представляет интерес для зарубежных производителей, которые демонстрируют свои продукты и ищут новых партнеров, участвуя в подобных мероприятиях. Тем самым сохраняется количественный уровень экспонентов.

Стоит отметить, что у компаний сохраняется интерес к деловым программам выставочных площадок. Обусловлено это двумя факторами: доступностью (это бесплатные форумы и семинары) и возможностью получить ответы на конкретные вопросы по адаптации методик к возможностям установленных на производстве приборах, повышению производительной мощности технологических линий. «В рамках подобных мероприятий производители и дистрибьюторы оборудования для фармацевтической отрасли имеют возможность провести квалификационный срез потребностей исследовательских лабораторий и производств, специализирующихся на выпуске лекарственных средств, в новых линейках аналитического и технологического оборудования, адаптации и разработке индивидуальных методик под конкретные задачи предприятий. В свою очередь, исследователи и технологи получают актуальную информацию о новинках в области приборов и методик исследований, технологий производства лекарственных средств», – отмечают участники семинаров, организуемых при поддержке научно-производственного журнала *«Разработка и регистрация лекарственных средств»*. Редакция журнала регулярно проводит на площадках выставочных комплексов известные, зарекомендовавшие себя и крайне востребованные семинары, посвященные аналитическим и технологическим аспектам производства лекарственных средств. Проведение бесплатных семинаров – это не всегда показатель их востребованности и посещаемости. Здесь немаловажный фактор играет географический показатель. «Вы можете удачно сформулировать тему, пригласить крупнейших экспертов, к мнению которых прислушиваются, но столкнетесь с тем, что зал окажется полупустым. Причина неудачи довольно банальна: все чаще работодатели не готовы отпускать сотрудников на целый день

для повышения их квалификации – производство в этот момент будет простаивать, – убеждена директор журнала *«Разработка и регистрация лекарственных средств»* **О.В. Залеских**. – Именно поэтому для наших семинаров мы выбираем площадки выставок. Крупных событий на фармацевтическом рынке, где вы можете ознакомиться с «живыми», реальными образцами современных приборов и одновременно решить научные задачи прикладного характера (как повысить прецизионность исследования или сократить время на синтез субстанции, не нарушая технологию), на самом деле не так и много».

Говоря о современном состоянии конгрессно-выставочной индустрии фармацевтической направленности, невозможно обойти стороной региональный аспект. В частности, все больше мероприятий проводится в регионах, где созданы отраслевые кластеры или наблюдается максимальная концентрация производственных объектов: Калужская (форум «Фармэволюция») и Томская («Конгресс Здрав») области, Санкт-Петербург («Петербургская неделя здравоохранения») и Екатеринбург («Уральская неделя здоровья»).

Еще одной отличительной тенденцией современного положения event-индустрии для фармацевтической отрасли становится организация и проведение отраслевых круглых столов, сессий в рамках крупнейших форумов для GMов: на площадках Петербургского международного экономического форума, Петербургского международного юридического форума. Здесь, в отличие от выставочных площадок, ключевыми темами становятся законодательные трансформации и геополитические, макроэкономические вызовы для индустрии.

Подводя итоги весеннего делового сезона в конгрессно-выставочной индустрии, можно отметить следующие тенденции:

– среди организаторов мероприятий на рынке появляются новые игроки: консалтинговые и юридические компании, информационно-аналитические и рейтинговые агентства; торгово-промышленные палаты; неотраслевые СМИ;

– заметно сокращается количество участников конференций и семинаров: компании отдают предпочтение мероприятиям, организованным в рамках крупного события (выставки), или вебинарам, семинарам без отрыва от производства. Например, на базе *ИЦ «ОЛФАРМ»,* сотрудники которого входят в редакционный совет журнала и регулярно публикуют результаты актуальных доклинических иследований, нередко организуются семинары посредством Skype и других IT-технологий для сотрудников фармацевтических предприятий как субъектов Российской Федерации, так и стран-членов ЕАЭС. Проведение практически ориентированных семинаров для сотрудников одного предприятия – это гарантия не только повышения их квалификации, но и уникальная возможность решить производственные задачи конкретного предприятия в ходе вебинара. Его участники параллельно с лектором выполняют необходимые манипуляции и в случае получения иного результата с недопустимой областью отклонения (погрешности) тут же могут разобрать ошибки оператора или выявить недостатки парка имеющегося на предприятии оборудования. Более того, при организации любого практического семинара редакция журнала заранее обеспечивает слушателей профильной литературой, тем самым стараясь уделять минимум времени на теоретические аспекты в ходе самого семинара. Научно-методические пособия, подготовленные учеными-членами редакционной коллегии журнала раскрывают современные технологии организации всего цикла производства лекарственных средств. Именно поэтому при проведении семинаров приглашенные лекторы стараются больший упор сделать на практическую сторону данного вопроса, ведь, имея под рукой доступно написанный учебник, операторы всегда смогут обратиться к необходимому в определенный момент их работы разделу, а вот уточнить причины расхождения результатов разработки готовых лекарственных форм, выполненных на приборах одной и той же фирмы-производителя, им вряд ли удастся;

– сокращается и количество проводимых для специалистов фармацевтической отрасли мероприятий: какие-то конференции отменяются, у других переносятся сроки и меняются традиционные площадки проведения, а также корректируется повестка дня.

В целом конгрессно-выставочная индустрия ощущает снижение спроса со стороны фармацевтических предприятий, а среди компаний, специализирующихся на eventax, наблюдается серьезная конкуренция. В совокупности эти факторы способствуют не только изменению устоявшегося календаря событий фарминдустрии, но и в будущем могут привести к трансформации качественного и тематического состава мероприятий. Обратной стороной данного процесса становится все больший интерес сотрудников фармацевтических компаний к отраслевым СМИ (как онлайн-изданиям, так и периодическим газетам, журналам), на страницах которых освещаются интересные события, происходящие в отрасли, и приводятся выдержки из наиболее актуальных докладов. Еще большую ценность приобретают научно-практические журналы, где все игроки рынка имеют возможность не только ознакомиться с позицией и точкой зрения экспертного сообщества, но и изучить материалы всего исследования, на основе которого эксперт приходит к озвучиваемому заключению.

Надеемся, что материалы, представляемые на страницах нашего издания, таковыми и являются.

МОДЕРНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Фармацевтическая промышленность России, по данным ряда консалтинговых агентств, является одним из наиболее привлекательных инвестиционных направлений. В рамках продолжающейся модернизации отечественной промышленности в условиях целенаправленной политики государства по обеспечению лекарственной безопасности страны, а также при активном участии транснациональных корпораций в процессе локализации своего производства на территории Российской Федерации формируется спрос на оперативное создание современных производственных площадок. Этот процесс коснулся производства готовых лекарственных форм, фармацевтических субстанций и биотехнологических производств. Организация фармацевтического предприятия представляет собой многостадийный и многогранный процесс с наличием многих неизвестных на начальном этапе. Это обуславливает длительность и сложность процесса ввода объекта в эксплуатацию. Срок сдачи объекта зачастую может переноситься и увеличиваться за счет привлечения к выполнению проекта нескольких независимых исполнителей, каждый из которых отдельно специализируется на проектировании, строительстве, инжиниринге или поставке оборудования. Оказать весь комплекс услуг по организации фармпроизводства сегодня могут лишь единицы компаний. Единственной компанией, предоставляющей подобный клиентский сервис на российском рынке, стала Группа компаний «Фармконтракт». Как это реализуется на практике, какие преимущества дает заказчикам-инвесторам и почему именно такой подход привлекателен, мы спросили у президента ГК «Фармконтракт» С.Н. Быковского.

Несколько лет назад наша компания существенно расширила портфель возможностей для наших заказчиков: из обычного дистрибьютора высокотехнологичного оборудования с сопутствующим комплексом услуг по пусконаладочным и сервисным работам ГК «Фармконтракт» превратилась в вертикально интегрированный холдинг, способный преобразовывать идеи заказчиков в полноценно функционирующие производства любой сложности как в области готовых лекарственных форм, так и в сфере синтеза активных фармацевтических ингредиентов и биотехнологического синтеза. Иными словами, наш партнер (именно партнер – это ключевой посыл корпоративной этики) получает предприятие «под ключ», взаимодействуя только с одним контрагентом на всех этапах создания предприятия, начиная от проектирования и строительства и заканчивая вводом в эксплуатацию конкретного оборудования и производственных линий.

Почему мы пришли к такой политике? Ответ на самом деле лежит практически на поверхности. До определенного момента простая дистрибьюция была основным направлением нашей работы. Однако наша сервисная служба часто сталкивалась с проблемами, связанными с отсутствием у заказчиков комплексного подхода к организации процесса создания производственных мощностей. Это приводило к срыву сроков поставки из-за переноса дат ввода объекта в эксплуатацию ввиду отсутствия необходимых инженерных систем и обвязки оборудования. Противоречия в проектной документации, отсутствие понимания ответственным персоналом заказчика необходимой конфигурации поставляемого оборудования и необходимых параметров технологических процессов приводили к невозможности запуска оборудования. Таким образом, приобретенное у нас оборудование часто не могло быть введено в эксплуатацию, а инвестиции партнеров-заказчиков теряли эффективность. К тому же я нередко слышал нарекания со стороны партнеров по поводу сложности адаптации западных технологий и оборудования к их производственным нуждам. Например, в условиях, когда технологическую линию, допустим, по синтезу субстанций проектирует одна компания, а монтируют другие подрядчики, перед технологами предприятия возникает проблема интеграции в единую систему автоматизированного управления. Не меньшие проблемы наблюдались при организации температурного контроля, водоподготовки или, скажем, систем подачи сжатого воздуха. Более того, оборудование, приобретённое у нескольких, зачастую конкурирующих друг с другом поставщиков, может обладать взаимоисключающими техническими характеристиками, не позволяющими без дополнительных вложений обеспечить его совместную эксплуатацию. Таким образом, единая производственная линия, ожидаемая заказчиком, на деле оказывалась набором разношёрстного (подчас очень дорогого и качественного) оборудования, ожидающего своего запуска, который иногда осуществлялся позже, чем истекал срок гарантийного обслуживания.

Очевидно, что в таких случаях изначальный бюджет проекта может быть значительно превышен, а заказчик вынужден будет на месяцы и годы откладывать выпуск продукции. При этом упущенная выгода от невозможности выпуска готовой продукции в срок может превысить весь бюджет проекта, а рынок изменится за это время настолько, что после ввода в эксплуатацию производства со значительным опозданием выпускаемая продукция будет уже неконкурентоспособна.

Аналогичные проблемы наблюдаются не только при организации производства ГЛФ, синтетических и биотехнологических субстанций, но довольно часто присутствуют при проектировании и создании контрольно-аналитических, микробиологических и научных лабораторий и центров, которые сами по себе являются сложными объектами, требующими комплексного подхода.

Учитывая обозначенные проблемы и особенности организации фармацевтических производств, опираясь на накопленный опыт, ГК «Фармконтракт» разработала новую стратегию, в основе которой лежит комплексный подход при работе с партнерами, и внедрила систему «одного окна». Здесь мне не хотелось бы углубляться в сугубо специфические детали, которые в полном объеме и более компетентно раскроют наши специалисты из отдела проектирования и инжиниринга, – я лишь остановлюсь на крайне важных при организации любого производства аспектах. На практике такой принцип работы по созданию и оснащению фармацевтических предприятий выглядит следующим образом.

На этапе технико-экономического обоснования (ТЭО) и подготовки бизнес-плана по созданию фармацевтического объекта, которые, как правило, осуществляются представителями собственника или сторонними организациями, специалисты ГК «Фармконтракт» разрабатывают технико-ком-

мерческое предложение (ТКП), включающее детализированное описание решения с учетом особенностей технологии производства, помещений (класс чистоты, инженерные коммуникации) и будущих производственных мощностей, задач по объему выпускаемой продукции, её объёмов и требований к качеству. Взявшись за подготовку ТКП, наши сотрудники сразу зададут вопросы, которые нередко упускаются из виду при подготовке бизнес-плана и потому создают существенные проблемы на этапе ввода объекта в эксплуатацию и прохождения госэкспертизы. В результате общения наших специалистов с представителями заказчика рождается общее информационное поле, в котором выявляются ранее незаметные, но существенные факторы и способы их учета, а также формируются четкие технические задания для конкретных работ, алгоритмы их решения, бюджеты и сроки. Как правило, ответственным за подготовку ТЭО будущего предприятия специалистам требуется следующая информация: какие лекарственные формы будут выпускаться на предприятии, к какой фармакологической группе относится активный компонент этой формы, токсично ли вещество. При этом не дается сколь-либо понятной информации о том, на каком оборудовании

и в какой обвязке должны выполняться все технологические этапы, классы защиты оборудования и помещений, санитарно-защитные зоны и другие поставленные задачи. То есть отсутствует элементарный перевод имеющейся информации на язык инженерных возможностей, что, в свою очередь, приводит к отсутствию понимания реальной стоимости проекта.

Основываясь на этих данных, а также на множестве «мелочей», важных с точки зрения работоспособности оборудования и безопасности персонала, сотрудники ГК «Фармконтракт» в тесном контакте с технологами заказчика прорабатывают индивидуальное, ориентированное на конкретную технологическую задачу решение, гарантирующее получение качественного продукта не только на бумаге, но и в условиях реального производства. В целом цепочка нашего взаимодействия с партнером строится следующим образом. На первом этапе, исходя из имеющихся у заказчика знаний и сведений о планируемых к выпуску продуктах, происходит совместное формирование максимально подробного технического задания (URS), включающего максимально детализированную информацию о необходимых технологических решениях, обеспечивающих не только возможность производства текущей номенклатуры препаратов, но и возможности расширения продуктового портфеля, а также данные по типу и мощности оборудования. Для формирования перечня оборудования, специалисты ГК «Фармконтракт» тщательно и подробно анализируют сведения о планируемой к выпуску номенклатуре, состав и технологию производства, параметры лекарственных форм (например немедленное или замедленное высвобождение, форма выпуска, например, пеллеты, микротаблетки, капсулы, гранулы в саше пакетах и др.). Мощность оборудования планируется на основании подробного рассмотрения бизнес-модели и запланированных объемов выпуска с учетом возможной сменности работы будущего предприятия, запланированного штатного расписания. Дополнительное оснащение и конфигурация оборудования (например, QR-кодирование или выпуск нестандартных форматов упаковки или даже таблеток уникальной формы) основаны на подходах к маркетингу, рекламе и системе дистрибьюции, логистики и стратегии компании в области прослеживаемости движения продукции. Кстати, это и есть этап перехода от отношений заказчик – исполнитель к системе партнерских отношений. Далее начинается технологическая проработка проекта, которая включает в себя концептуальное проектирование, подбор основного и сопутствующего оборудования, уточнение его характеристик на основе имеющихся на рынке модельных рядов. В ходе проектирования мы составляем графики проектных и монтажных работ, поставки и квалификации оборудования, что позволяет минимизировать потенциальные потери, связанные с недостаточной проработкой на этапе проектирования, и реализовать принцип «бережливого производства». После этого происходит расчет бюджета проекта, который уже не меняется на последующих этапах. Данное правило является для нашей компании законом, а

для новых наших клиентов, привыкших с другими подрядчиками по старинке закладывать 50 и более процентов на непредвиденное удорожание сметы, оказывается приятным сюрпризом.

В ходе проведенных сессий общения с представителями заказчика мы имеем возможность предоставить нашему партнеру реальное ТЭО, которое не требует последующих корректировок в силу максимально эффективного управления информационными потоками на самом начальном этапе и конвертации идей заказчика и нашего опыта в полноценный и законченный информационный продукт.

Но, как сказал Генри Форд, сами по себе идеи ценны, но всякая идея в конце концов только идея. Задача в том, чтобы реализовать ее практически. Поэтому следующим этапом становится практическое воплощение проекта создания предприятия. В соответствии с процессным подходом все функции по управлению процессом от формирования технического задания до ввода объекта в эксплуатацию, а также координация проектировочных, строительно-монтажных работ, соблюдения сроков другими подрядчиками либо, как часто бывает, по причине того, что строители возвели несущую стену там, где сразу требовалось провести установку крупногабаритной машины. Правда знакомая ситуация? Так вот, в ходе управления проектом с момента подготовки техзадания мы предусматриваем, казалось бы, самые невероятные варианты, чтобы не приходилось демонтировать возведенные стены или переносить технологический участок стерильного розлива в совершенно не предназначенную для этого зону. Это приносит и свои плоды в области финансов: максимально снижен риск увеличения бюджета. Более того, существует возможность серьезной экономии финансовых затрат заказчика.

Для компаний-дистрибьюторов поставка оборудования – самый легкий и простой этап. Но для компании, которая ведет объект от greenfield project до выпуска первой таблетки или ампулы, выбор оборудования и его поставка сопровождаются рядом мероприятий, которые позволяют за счет сквозного отслеживания конечной цели обеспечить успешный

контроль соблюдения их сроков, поставки и ввода в эксплуатацию оборудования передаются в ведение key account manager ГК «Фармконтракт». Этот менеджер с высочайшими полномочиями и компетенцией является руководителем проекта и осуществляет коммуникацию со всеми функциональными подразделениями ГК «Фармконтракт» с целью скорейшего ввода объекта в эксплуатацию. В любое время по запросу заказчика key account manager предоставляет отчет о ходе работ и ведёт активный диалог со всеми специалистами, вовлечёнными в процесс создания производства. На всём протяжении цикла у партнера сохраняется сопричастность к ходу работ и ощущение прозрачности происходящих процессов. Фактически же он лишается такого «увлекательного развлечения», как споры с многочисленными подрядчиками о невозможности выполнения тех или иных видов работ по причине ненесущую стену там, где сразу требовалось провести установку крупногабаритной машины. Правда знакомая ситуация? Так вот, в ходе управления проектом с момента подготовки техзадания мы предусматриваем, казалось бы, самые невероятные варианты, чтобы не приходилось демонтировать возведенные стены или переносить технологический участок стерильного розлива в совершенно не предназначенную для этого зону. Это приносит и свои плоды в области финансов: максимально снижен риск увеличения бюджета. Более того, существует возможность серьезной экономии финансовых затрат заказчика.

Для компаний-дистрибьюторов поставка оборудования – самый легкий и простой этап. Но для компании, которая ведет объект от greenfield project до выпуска первой таблетки или ампулы, выбор оборудования и его поставка сопровождаются рядом мероприятий, которые позволяют за счет сквозного отслеживания конечной цели обеспечить успешный ввод объекта в эксплуатацию в срок. Именно поэтому в рамках комплексного подхода к проектной работе и поставке оборудования технологи и проектные специалисты ГК «Фармконтракт» при проработке технического задания партнеров указывают критические характеристики и параметры работы приборов различных производителей, формулируя оценку по каждому производителю на языке, понятном партнеру. Тем самым заказчик имеет право объективного выбора решений и оборудования по критерию «цена – качество», принимая во внимание критические технические параметры, а также пригодность для конкретного завода и конкретной задачи. После поставки отдельных единиц оборудования (чаще – всей технологической линии) проводятся не просто стандартные пусконаладочные работы и квалификационные испытания, а комплексные тесто-

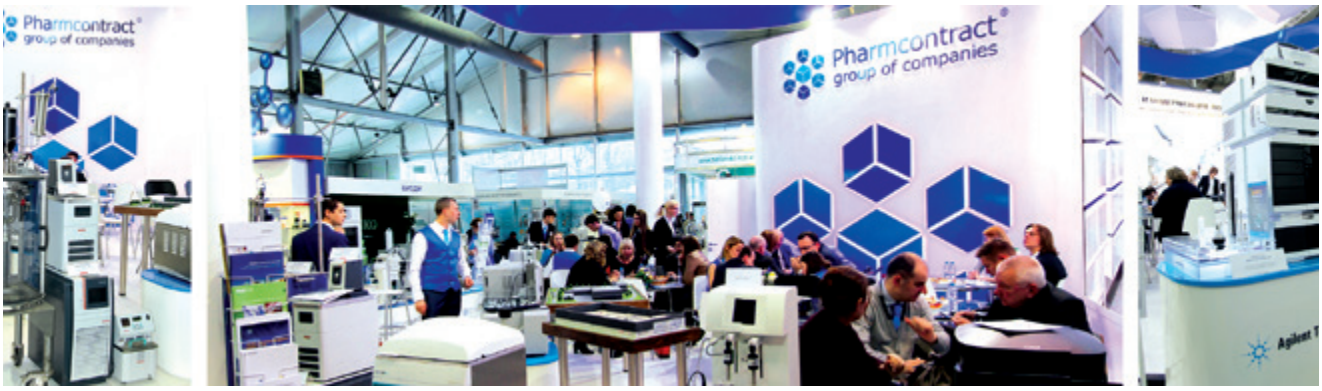
вые мероприятия, завершающиеся проверкой работоспособности всей линии и ее квалификацией. При необходимости проводятся мастер-классы для персонала будущего предприятия по работе на оборудовании с привлечением как специалистов ГК «Фармконтракт», так и производителей оборудования.

Процесс обучения персонала производства и лабораторий – один из ключевых компонентов эффективной работы будущего предприятия. Поэтому ГК «Фармконтракт» в рамках клиентского сервиса проводит обучение сотрудников правилам работы на установленном на объекте оборудовании. При создании предприятия «под ключ» этап обучения начинается еще до завершения строительно-монтажных работ. Его проводят опытные сотрудники наших площадок: ИЦ «ОЛФАРМ», демоцентра НИИ фармации Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и др. Здесь не просто представлен широкий ассортимент оснащения. ИЦ «ОЛФАРМ» – это «живая» лаборатория, специализирующаяся на контроле качества лекарственных средств, фармацевтической разработке и доклинических исследованиях. Таким образом, наши заказчики могут самостоятельно познакомиться с характеристиками предлагаемого оборудования. Также у них появляется уникальная возможность узнать от операторов, имеющих многолетний опыт ежедневной работы на этих приборах, обо всех особенностях эксплуатации оборудования, которые необходимо учитывать в повседневной практике. В результате к моменту выбора оборудования пользователь имеет объективное представление о необходимом и достаточном приборном оснащении, а его персонал получает необходимые для работы на новом объекте знания и компетенцию.

Хочу отметить, что к 2018 году мы планируем запустить аналогичный центр по технологическим линиям.

Безусловно, обучение на практике с возможностью самостоятельно осуществить какое-либо исследование – большой плюс при подготовке персонала к работе на реальном производстве. На демоплощадках либо на функционирующем предприятии под руководством опытного оператора можно получить навык эффективного использования конкретного прибора или установки в своей будущей работе. Однако не стоит забывать и о роли теоретической науки. Да, в век информационных технологий мы имеем неограниченный доступ и возможность получения актуальной информации о методиках исследования лекарственных средств, современных технологиях их производства. В то же время консолидировать теоретические знания и практические навыки не так-то просто. Мы пытаемся это реализовать за счет публикаций порядка 1 млн экземпляров научно-прикладных изданий: отраслевых СМИ, книг, в которых теоретические вопросы производства лекарственных средств рассматриваются через призму проведения определенных манипуляций на конкретных единицах оборудования. В каждом научно-практическом пособии мы схематически изображаем технологическую цепочку описываемого фармацевтического производства, а в ваковском журнале каждая статья содержит раздел «Материалы и методы», где раскрывается технология изготовления или методика исследования препарата. Этот принцип позволяет широко использовать наши публикации в качестве руководств по внедрению указанных процедур в производственную и лабораторную практики. Поскольку завершающей стадией ввода оборудования в эксплуатацию является обучение персонала, в ходе которого слушатели подробно знакомятся с нашими материалами, мы можем у видеть значительное сокращение времени простоя производства, решить индивидуальные технологические задачи, снизить затраты на подготовку специалистов. Кроме этого, перед приобретением оборудования имеется возможность проведения тестовых процедур, что позволяет удостовериться в соответствии предложенной техники требованиям заказчика.

Такой подход, который мы по аналогии с МФЦ назвали системой «одного окна», позволяет заранее выявлять «узкие» места, получать объективную информацию по потенциально возможным мощностям производства (и при необходимости проработать ва-



риант их оптимизации), соблюдать сроки сдачи объекта, успешно проходить инспекторат на соответствие требованиям GMP и обеспечивать начало выпуска продукции в строго установленный в бизнес-плане срок в рамках первично утвержденного бюджета.

Отдельно следует поговорить о желании заказчиков оптимизировать бюджет проекта за счет выбора недорогого в своем классе оборудования в ущерб его качеству. Но прежде чем экономить на принципиальных вопросах, мы предлагаем партнерам трезво оценить соотношение «цена – качество», понять реальную экономику, а не экономию. Именно для этого к разработке критериев балльной интегральной оценки предложений необходимо привлекать не только байеров, но и специалистов, имеющих реальный опыт производства в фармацевтической отрасли и знание современных требований GMP. А руководитель предприятия должен учитывать перспективы будущей коллаборации с другими участниками рынка, которые, как правило, сопровождаются аудитом со стороны партнера. Ведь при организации контрактного производства в случае оснащения оборудованием, произведенным странами ЮВА, которое было дешевле аналогичного и, на первый взгляд, удовлетворяет требованиям, но по факту даже не поддается квалификации, вероятность успешного прохождения производством аудита на соответствие правилам надлежащей производственной практики в разы сокращается. С нашей стороны к этому процессу мы подключаем инспекторов ВОЗ по надлежащей производственной практике. Их участие в проекте – залог соответствия созданного предприятия стандартам Good Manufacturing Practice.

Включение в команду таких людей, отвечающих за приобретение *в рамках бюджета* именно необходимого парка технологического оборудования, позволит избежать в будущем дополнительных затрат и успешно пройти аудит на соответствие национальным GxP-стандартам.

В целом хочу отметить, что сегодня и российские и зарубежные фармкомпании, локализующие свое производство на территории нашей страны, все чаще формируют запрос на выполнение всего объема работ одним исполнителем, который не будет перекладывать ответственность за срыв сроков на нерадивого подрядчика, а будет работать в тесной связке с представителями собственника, прислушиваться к их мнению, переводя желания заказчика на язык инженерных возможностей, разрабатывать различные варианты организации производства фармацевтической продукции, предлагать оптимальные схемы интеграции единиц оборудования различных производителей в единую технологическую линию. Такой спрос, безусловно, сформирует рост предложений на рынке: инжиниринговые компании и компании-дистрибьюторы начнут объединяться, образуя альянсы. Но чтобы достичь нашего уровня, им понадобится гораздо больше времени. Уже сегодня мы имеем серьезный опыт реализации ряда проектов в рамках комплексного подхода к организации выпуска АФС и ГЛФ, биотехнологических производств и созданию полномасштабных лабораторных комплексов по контролю качества различных лекарственных форм и фармацевтической разработки. ГК «Фармконтракт» является серьезным большим игроком на фармацевтическом рынке не только с точки зрения комплекса предоставляемых услуг, но и с позиции выгодного финансового сотрудничества. Вряд ли компания, специализирующаяся только на дистрибьюции или проектировании, будет готова предоставить гарантию авансового платежа на всю сумму контракта. А в условиях современной макроэкономической ситуации это не просто действенный механизм привлечения и поддержки клиентов, но и целевое финансирование товаров и услуг. Для партнеров это своего рода страховка от недобросовестного исполнения услуг. Такая гарантия может быть реализована в случае неисполнения сроков поставки либо в случае поставки товара ненадлежащего качества. При этом данная гарантия является безотзывной, что предусматривает оперативный возврат денежных средств клиенту в случае нарушения пунктов договора. Таким образом, наш партнер еще на стадии заключения договора получает страховку на выполнение всех работ строго в срок и с надлежащим качеством.

Как правило, сотрудничество с партнером на этапе подписания акта сдачи объекта не заканчивается. По завершении срока заводской гарантии от производителя на установленное оборудование клиент снова обращается к нам для проведения обслуживания и последующей технической поддержки. Дальнейшее сотрудничество гарантирует быстрое реагирование на проблему партнера-заказчика и решение ее в кратчайшие сроки (24–48 ч). Оперативное решение возникающих у клиента проблем нередко осуществляется за счет собственного склада расходных материалов и аксессуаров, где представлен широкий выбор оригинальной продукции.

Пожалуй, это ключевые моменты работы ГК «Фармконтракт» по созданию фармацевтического объекта «под ключ», которые обеспечивают серьезный интерес к нашей стратегии со стороны инвесторов и собственников, расширяющих или локализующих свое производство.

САММИТ PHARMABUSINESS-2016: О ЧЕМ ГОВОРИЛИ НА ПЕРВОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ МЕРОПРИЯТИИ ГОДА

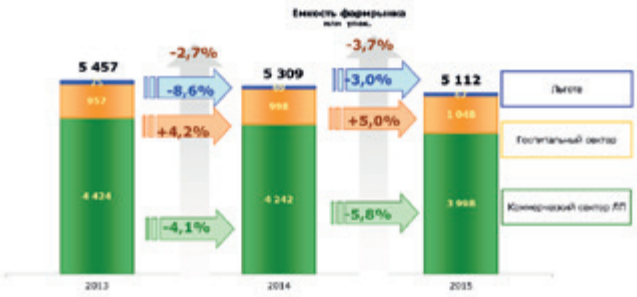
15–16 февраля в Москве состоялся ежегодный фармацевтический саммит, на котором участники рынка и представители регуляторных органов обсудили перспективные сценарии развития отрасли в 2016 году, текущие экономические условия, угрозы, возможности и новые точки роста фармы, емкость рынка, поведенческие тренды потребителей, ценовую эластичность в сегментах, законодательные инициативы и многие другие вопросы, которые волнуют фармкомпании. Информационным партнером саммита выступил научно-производственный рецензируемый журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств».

По традиции саммит проходил в формате двух тематических мероприятий: конференции *«Фармацевтический бизнес в России»* и аптечного саммита *«Эффективное управление аптечной сетью»*.

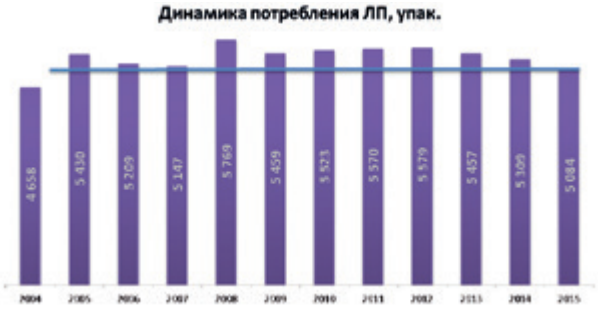
Международная конференция **«Фармацевтический бизнес в России: перспективный сценарий развития фармацевтического рынка на 2016 год»** началась с обзора современной экономической ситуации, оценки существующих рисков и прогноза перспектив. Генеральный директор DSM Group **Сергей Шуляк** представил данные по текущему состоянию национального фармацевтического рынка. Согласно данным исследования, проведенного DSM Group, за последние 5 лет средний рост фармацевтического рынка России составил 11%:

По итогам 2015 г. емкость фармацевтического рынка в ценах конечного потребления выросла на 9,3%:

При измерении емкости рынка в упаковках наблюдается отрицательный прирост:



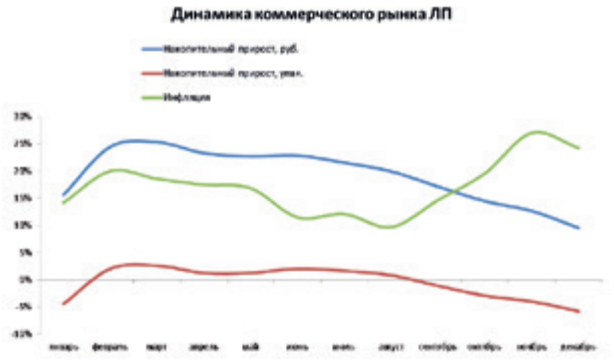
В натуральном выражении фармацевтический рынок в 2015 году упал до уровня 2006–2007 гг.:



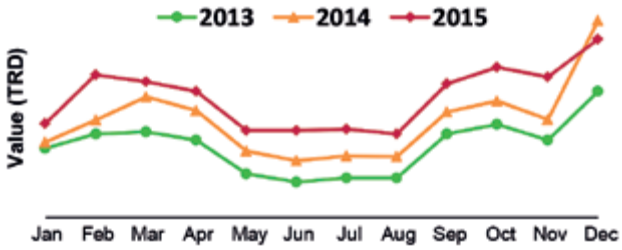
При этом по итогам 12 месяцев 2015 г. инфляция составила 10,3%:

Кризисные явления фармацевтический рынок начал ощущать с осени:

Несмотря на отрицательную динамику, цены на лекарственные препараты сохранили тенденцию к увеличению:



Аналогичную ситуацию с темпами развития фармацевтического рынка России выявило и исследование IMS, результаты которого представил генеральный директор компании **Николай Демидов**. Темпы роста рынка в рублях в 2015 г. не удержались на уровне 2014 г.: высокая база декабря 2014 г. снизила темпы роста рынка по итогам 2015 г. на 1% и усугубила падение объема закупок в упаковках.



Оценивая перспективы развития рынка безрецептурных препаратов в 2016 г., **Николай Демидов** выделил три потенциальных сценария: базовый, негативный и позитивный. По словам спикера, первый сценарий является наиболее вероятным и предполагает сохранение волатильности макропоказателей, снижение реальных доходов при сохраняющихся тенденциях увеличения безработицы, инфляции в пределах 12–15%. При таких условиях розничный рынок может вырасти на 5–6%. Второй сценарий является более негативным. Здесь уровень инфляции находится в пределах 17–22%, темпы снижения реальных доходов при увеличивающемся росте безработицы достаточно высоки, а макропоказатели находятся в стабильно негативном поле. Третий сценарий исходит из того, что инфляция не превысит порог в 9–12%, реальные доходы стабилизируются, а макропоказатели повернутся в сторону позитивной стабильности. В целом **Николай Демидов** видит следующие ключевые тенденции для фармацевтического рынка России в 2016 г.:

– продолжение кризиса означает для фармрынка дальнейшее испытание на прочность, успех которого зависит от внешних факторов;

– снижение потребительской способности населения продолжит «перекраивать» ритейл; в государственном сегменте этот процесс только ожидается;

– инфляция на лекарственные средства будет находиться в системе координат девальвации, регулирования цен и эластичности по цене;

– общая благоприятная ситуация и государственная поддержка еще больше укрепят позиции локальных производителей;

– фактор финансовых рисков в товаропроводящей цепочке будет усиливаться.

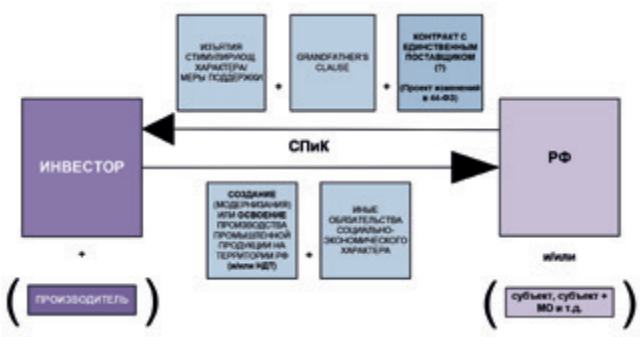
Руководитель отдела стратегического консалтинга Aston Group **Мария Сдвижкова** рассказала участникам первой сессии конференции о ключевых изменениях, которые произошли в 2015 г. в государственной системе здравоохранения. Среди них замедление темпа роста расходов на здравоохранение по сравнению с предыдущими периодами: 2% в 2015 г. и, как ожидается, 1% в 2016 г. Еще одним немаловажным изменением стало усиление поддержки отечественных производителей лекарственных средств при государственных закупках (т.н. правило «третий лишний», бессрочность текущих преференций). При этом спикер видит возможности для продления до конца текущего года статуса отечественного производителя лекарственных средств за теми предприятиями, которые осуществляют только упаковку данного продукта на территории Российской Федерации.

Сессия, посвященная анализу итогов, определению ключевых тенденций и возможностей российского фармацевтического рынка, завершилась докладом директора подразделения здравоохранения Synovate Comcon Healthcare **Олега Фельдмана**, в котором были представлены результаты исследования изменений потребительского поведения в отношении лекарств.

Участники дискуссионной панели, посвященной перспективам инвестиционной активности на фармацевтическом рынке, уделили пристальное внимание специальным инвестиционным контрактам, первым итогам закона о «третьем лишнем», роли региональных органов исполнительной власти в повышении инвестиционной привлекательности фармотрасли. Позицию юридического сообщества по отношению к механизмам, повышающим привлекательность промышленных инвестпроектов, представил руководитель группы «Медицина и здравоохранение» компании «Пепеляев Групп» **Сергей Клименко**. Среди таких механизмов спикер выделил следующие:

- Правовые механизмы гарантированного сбыта производимой продукции.
- Гарантии неизменности налоговой и регуляторной среды на срок проекта, льготные режимы для локализующих производство компаний. Сегодня действует 15%-я преференция и закон о «третьем лишнем».
- Наличие правовых инструментов структурирования таких проектов на уровне мировых стандартов. Стоит отметить, что пакеты поправок в ГК РФ в целом позволяют структурировать сделки с использованием инструментов, аналогичных имеющимся в англосаксонской системе (или близких к ним).
- Предсказуемость применения указанных выше механизмов публичной стороной.
- Предсказуемая и не блокирующая такие механизмы судебная практика.

Говоря о роли специальных инвестиционных контрактов в повышении привлекательности инвестиций, спикер наглядно представил действующую с июля 2015 г. схему заключения специального инвестиционного контракта:



Несмотря на максимально прозрачное проведение процедуры заключения специального инвестиционного контракта, общее количество таких контрактов по всем отраслям – единицы. Типовая форма контракта, установленная постановлением Правительства Российской Федерации № 708, содержит достаточно общие формулировки, а на уровне большинства регионов правила заключения контрактов подобного типа вообще не приняты, как не приняты и поправки в Федеральный закон от 05.04.2013 № 44-ФЗ «О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд» в отношении контракта с единственным поставщиком – стороной специального инвестиционного контракта. Еще одним препятствием на пути к популяризации и увеличению количества специальных инвестиционных контрактов является эпизодический характер судебной практики по новым инструментам структурирования сделок. Недостатки наблюдаются и в сфере практики по мерам стимулирования локализации («третий лишний»), что нередко играет против

локализованных игроков рынка. Таким образом, взаимодействие с отраслевыми регуляторами нуждается в дальнейшем развитии.

О механизмах формирования инвестиционной привлекательности фармацевтической отрасли, которые сегодня задействуют руководители региональных органов власти, рассказал директор департамента инвестиционной политики Ярославской области **Андрей Золотовский**.

Исполнительный директор Союза профессиональных фармацевтических организаций **Лилия Титова** представила примеры существующих проблем в области правоприменительной практики постановления Правительства Российской Федерации от 30 ноября 2015 г. № 1289 «Об ограничениях и условиях допуска происходящих из иностранных государств лекарственных препаратов, включенных в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, для целей осуществления закупок для обеспечения государственных и муниципальных нужд». Поскольку постановление вступило в силу сразу, производители практически не имели возможности представить СТ-1 (подтверждение страны-происхождения товара). В связи с вступлением в силу указанного постановления организаторы аукционов должны увязать требования постановления и Федерального закона от 05.04.2013 № 44-ФЗ «О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд». При этом организаторы предпочитают перестраховаться и довольно часто объявляют аукцион несостоявшимся. Однако спикер полагает, что со временем острота проблемы снизится.

Л. Титова

В рамках сессии, посвященной поиску эффективных решений развития фармацевтического рынка в условиях регуляторных изменений, представители профильных органов власти рассказали о ключевых проблемах и сложностях, с которыми сталкиваются участники рынка при изменении правового поля. Начальник Управления организации государственного контроля качества медицинской продукции Росздравнадзора **Валентина Косенко** отметила, что самым эффективным методом, позволяющим получить сведения о находящихся в обращении на национальном рынке препаратах, остается механизм выборочного контроля: «С 1996 года мы имеем информацию обо всем объеме забракованных продуктов. Продукты и организации, связанные с обращением продуктов неудовлетворительного качества, будут подлежать дальнейшим контрольным мероприятиям».

В. Косенко

Вторая половина первого дня конференции **«Фармацевтический бизнес в России: перспективный сценарий развития фармацевтического рынка на 2016 год»** была посвящена вопросам организации инспектирования иностранных площадок и обзору практик проведения государственных закупок в 2015 г. Юрист «Пепеляев Групп» **Анна Шибанова** представила обзор практики применения постановления Правительства Российской Федерации от 30.11.2015 № 1289 «Об ограничениях и условиях допуска происходящих из иностранных государств лекарственных препаратов, включенных в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарствен-

ных препаратов, для целей осуществления закупок для обеспечения государственных и муниципальных нужд». Данный нормативно-правовой акт имеет более широкое применение по сравнению с постановлением о «третьем лишнем» в отношении медицинских изделий (постановление Правительства России от 05.02.2015 № 102). В частности, общее требование о закупке по МНН (химическому, группировочному наименованию) с учетом лекарственных форм существенно ограничивает свободу заказчика при формировании заказа, в отличие от закупок медицинских изделий. Согласно постановлению № 1289 заказчик имеет право на отклонение заявок, если на участие в определении поставщика подано не менее двух заявок, удовлетворяющих требованиям документации о закупке, либо поданные заявки одновременно содержат предложения о поставке лекарственных препаратов, страной происхождения которых являются государства-члены ЕАЭС, и не содержат предложений о поставке лекарственных препаратов одного и того же производителя либо производителей, входящих в одну группу лиц. Однако эти ограничения не запрещают иностранным производителям участвовать в закупках. В качестве примера спикер привела решение Амурского УФАС по делу № ЖС-3/2016 от 19.01.2016. Таким образом, ограничения применяются ситуативно, в зависимости от количества поданных заявок и содержащихся в них предложений. Особо **Анна Шибанова** отметила, что в случае неотклонения иностранной заявки применяется 15-процентная преференция в соответствии с правилами, предусмотренными приказом Минэкономразвития России от 25.03.2014 № 155 «Об условиях допуска товаров, происходящих из иностранных государств, для целей осуществления закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд».

Еще одним аспектом, вызывающим ряд нареканий, по мнению спикера, является проблема подтверждения страны происхождения лекарственного препарата. Сертификат СТ-1 выдается на товары, происходящие из государств-членов ЕАЭС и изготовленные в соответствии с критериями, предусмотренными соглашением «О правилах определения страны происхождения товаров в СНГ» от 20 ноября 2009 г. Однако сам порядок выдачи сертификатов о происхождении товаров формы СТ-1 для целей осуществления закупок лекарственных препаратов, включенных в перечень ЖНВЛП, был принят только после 10 дней действия постановления № 1289. В результате в одном из дел (указанный выше пример решения Амурского УФАС) были поданы три заявки, две из которых представили российские компании, без предоставления сертификатов СТ-1. Победу одержала заявка иностранного производителя. В решении антимонопольного органа было отмечено, что потенциальные участники закупки, предлагающие к поставке медицинский препарат рос-

сийского производства не имели возможности подать заявку, соответствующую требованиям заказчика, так как процедура выдачи требуемых сертификатов по форме СТ-1 на период срока подачи заявок (с 15.12.2015 по 21.12.2015 гг.) отсутствовала. Приведя еще ряд примеров, связанных со спорными моментами реализации нового постановления, **Анна Шибанова** отметила необходимость учета опыта применения постановления о «третьем лишнем» в отношении медицинских изделий и оперативных, качественных разъяснений со стороны регуляторов.

Первый день конференции завершился интервью директора департамента лекарственного обеспечения и регулирования обращения медицинских изделий Минздрава России **Елены Максимкиной** в импровизированной студии «Фармвестник ТВ», организованной специально для участников мероприятия. **Елена Анатольевна** рассказала, как проходит процесс согласования документов, регулирующих обращение лекарственных средств в рамках ЕАЭС. Одной из нерешенных проблем остается процедура определения взаимозаменяемости препарата на стадии регистрации: «Этот вопрос необходимо решить, чтобы обеспечить окончательное утверждение нормативно-правовой документации… Переходный период вступления новых правил в силу сохраняется, поэтому приостановки поставок, перебоев с лекарствами не ожидается».

В рамках второго дня международной конференции **«Фармацевтический бизнес в России: перспективный сценарий развития фармацевтического рынка на 2016 год»** специалисты рынка продолжили обсуждать перспективы его дальнейшего развития. Представители французской и балканской фармацевтических компаний рассказали о специфике применения тактических решений, успешно реализуемых в международных офисах, и проблемах их адаптации к российским реалиям. Участники конференции также обсудили реализованные в 2015 г. проекты по локализации производства лекарственных средств и их влияние на соотношение российских и зарубежных лекарственных препаратов, находящихся в обращении на национальном фармацевтическом рынке. Представители российских ком-

Е. Максимкина

паний не обошли вниманием и вопросы разработки новых лекарственных средств как механизма развития отечественной инновационной промышленности. Спикеры отметили настоятельную необходимость продолжения государственных мер поддержки производства российских лекарственных средств, а также поиск и разработку новых механизмов привлечения инвесторов. Юристы и специалисты в области патентного права обсудили новые полномочия Евразийской экономической комиссии для единого фармацевтического рынка ЕАЭС, обменялись мнением и поделились примерами нарушения патентных прав на лекарственные средства, представили данные по судебной практике в области закупок лекарственных средств, а также дали оценку действующему запрету на рекламу лекарств в СМИ.

Параллельно с конференцией **«Фармацевтический бизнес в России»** проходил **VI аптечный саммит «Эффективное управление аптечной сетью»**, в рамках которого топ-менеджеры аптечных сетей обсуждали новые вызовы, возможности, риски, тенденции и перспективы развития аптечных сетей в современных условиях. Как отметили участники саммита, несмотря на то, что рынок стагнирует и покупательская способность снижается, все же в объемах продаж крупные аптечные сети показывают пусть и небольшой, но прирост. Спикеры пришли к единому мнению о необходимости поиска новых механизмов управления бизнесом, трансформации взаимоотношений производителей, поставщиков и сетей в условиях непростой экономической ситуации. Участники мероприятия выразили солидарность в том, что 2016 год хоть и будет непростым, все же будет более предсказуемым. Среди главных трендов – консолидация аптечного рынка, уход «случайных игроков, которые во время сверхприбылей, спровоцированных и эпидемией, и ростом валют, инвестировали свои деньги в покупку одиночных аптек» (из выступления **А. Карповой**, генерального директора аптечной сети «Доктор Столетов»). Завершился аптечный саммит церемонией награждения участников в рамках номинаций «Выставка достижений фармацевтического хозяйства».

Саммит PharmaBusiness, ежегодно организуемый компанией infor-media Russia, – это первое ключевое фармацевтическое мероприятие года. Высокий уровень события отражает постоянная поддержка со стороны профессиональных отраслевых ассоциаций: АРФП, СПФО, Российской ассоциации фармацевтического маркетинга и ассоциации «Фармацевтические инновации», отраслевых СМИ. В этом году саммит собрал в конференц-центре «Swissôtel Красные Холмы» 600 участников, среди которых 45% – фармпроизводители (топ-100), 15% – дистрибьюторы (топ-10) и 31% – аптечные сети (топ-100).

ВЫВОД ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА РЫНОК РОССИИ И СНГ

16–18 марта 2016 года компания marcus evans организовала третью практическую конференцию для всестороннего обсуждения участниками фармацевтического рынка задач, стоящих перед индустрией. Ключевой темой конференции стала специфика работы в условиях общего пространства ЕАЭС: функционирование регуляторного механизма, перспективы дальнейшего развития фармотрасли, особенности регистрации лекарственных средств, контроль их качества и унификация стандартов GMP. Мероприятие прошло при поддержке научно-производственного рецензируемого журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств».

Ежегодная конференция для топ-менеджмента фармацевтических компаний с участием представителей профильных органов власти и отраслевых ассоциаций от профессионального организатора мероприятий для сегмента B2B, компании marcus evans – место встречи, где обсуждаются стратегические вопросы и принимаются ключевые бизнес-решения. Лейтмотивом конференции 2016 года стали сложности и новые возможности для фармацевтической промышленности в связи с переходом на единый рынок лекарственных средств ЕАЭС.

Первый день конференции прошел в формате интерактивного практического мастер-класса от руководителя отдела обеспечения качества доклинических исследований, ведущего научного сотрудника Института токсикологии Федерального медико-биологического агентства **Марии Зайцевой**. Спикер рассказала об особенностях внедрения стратегии и подводных камнях, с которыми сталкиваются сотрудники испытательных лабораторий при внедрении системы GLP. На примере изучения безопасности оригинального лекарственного препарата **М. Зайцева** сформулировала ключевые рекомендации по успешной подготовке испытательного центра к оценке соответствия требованиям GLP.

Второй день практической конференции был посвящен обсуждению первых итогов работы в гармонизированном пространстве ЕАЭС, разработке привлекательных стратегий развития фармацевтической индустрии, оценке возможных перспектив правового регулирования национальных рынков и унификации подходов к проведению регистрации лекарственных средств. На сессии *«Гармонизация правил обращения лекарственных препаратов в рамках ЕАЭС»* директор по регуляторным вопросам и политике в области здравоохранения AIPM **Елена Попова** представила детальный обзор нормативной документации, посвященной вопросам качества и допуска лекарственных средств на рынок ЕАЭС. В процессе обсуждения данных актов основные разногласия у представителей стран-членов ЕАЭС возникают по вопросу взаимозаменяемости. Региональный директор направления регуляторных отношений Россия, СНГ, Средний Восток и Северная Африка «ГлаксоСмитКляйн Трейдинг» **Александра Киташова** напомнила гостям мероприятия о целесообразности использования европейского опыта при поиске возможных путей оптимизации и минимизации рисков, связанных с введением нового, наднационального уровня регулирования.

Крупнейшие компании–производители лекарственных препаратов, расположенные на территории Российской Федерации, представили свою точку зрения на внедряемый общий регуляторный режим. Несмотря на то, что, по словам **Елены Поповой**, все необходимые документы разработаны, основная их часть принята в феврале-марте текущего года, форма заявления на подачу регистрационного удостоверения вступила в силу только 22 марта. При этом сам процесс инспектирования производственной площадки будет занимать несколько месяцев (210 рабочих дней). Таким образом, по словам спикера, «скорее всего, в текущем году никто не успеет зарегистрироваться». В результате переходный период для большинства компаний затянется. Еще одну проблему выделила руководитель отдела регистрации лекарственных средств «Байер Фармасьютикалз» **Елена Сычева:** не все производства находятся в собственности фармацевтических компаний, выпускающих лекарственные средства, – трансна-

циональные корпорации активно используют услуги контрактных площадок. «Некоторые считают, что они действуют по другим правилам, иногда они говорят, что не предоставляют техническую документацию и работают через независимого партнера и не хотят менять свою работу ради России», – отметила спикер. В целом участники круглого стола *«Общий регуляторный режим ЕАЭС»* солидарны в оценке российского и европейского стандартов GMP: по их мнению, большая часть отечественных и зарубежных правил совпадают.

Не обошли участники конференции marcus evans вниманием и вопрос правоприменительной практики 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» с точки зрения влияния единого рынка лекарственных средств ЕАЭС на национальный, в т.ч. в области унификации процедур регистрации фармацевтических продуктов. В продолжение темы, заданной генеральным директором «РОЗЛЕКС ФАРМ», членом рабочей группы по формированию общих подходов по регулированию обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС **Дмитрием Румянцевым**, специалисты по развитию бизнеса фармацевтических компаний представили свои позиции и оценили риски бизнеса, влияние наднационального законодательства на конкурентный рынок и стратегии для тендерного и аптечного каналов.

В рамках сессии *«Специфика проведения регистрации и экспертизы лекарственных средств»* директор департамента регистрации лекарственных средств «БИОКАД» **Ольга Кравцова** представила возможности оптимизации процесса формирования регистрационного досье лекарственного препарата, а профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, д.м.н. **Хачик Саядян** остановился на проблемах, возникающих при регистрации новых инновационных лекарственных препаратов – биомолекул. При этом представитель Первого МГМУ им. И.М. Сеченова уверен, что в течение следующих 20 лет за счет развития биотехнологических платформ около 70% химических лекарственных средств могут быть заменены.

Завершился второй день конференции ***«Вывод лекарственных средств на рынок России и СНГ»*** обзором патентного законодательства как механизма защиты торговых знаков и регулирования обращения лекарственных средств.

Последний день мероприятия был посвящен актуальным вопросам организации клинических исследований. Заместитель начальника отдела департамента технического регулирования и аккредитации Евразийской экономической комиссии **Дмитрий Рождественский**, оценивая уровень развития регуляторной базы проведения клинических исследований на территории ЕАЭС, отметил, что 17 марта в ходе очередного заседания комиссии не удалось принять согласованный документ о регистрации лекарственных средств в ЕАЭС. В целом, чтобы единый рынок лекарственных средств ЕАЭС начал свою работу, необходимо принять 23 нормативных документа, утверждение которых должно было произойти до 2016 г. Однако на сегодняшний день принято только 4 нормативных акта. Среди неутвержденных актов находится и документ о регистрации лекарственных средств, где основные споры вызывает вопрос взаимозаменяемости: «Россия настаивает, чтобы положение о ней было в регистрационных документах. Остальные страны – против. … Как только будет решён этот вопрос, принятие остальных документов – дело техники». Также **Д. Рождественский** акцентировал внимание участников конференции на необходимости ссылаться на фармакопеи референтных стран до выхода полного издания Фармакопеи ЕАЭС, которое, по прогнозам эксперта, ожидается до конца 2016 г.

Исполнительный директор СПФО **Лилия Титова** представила позицию бизнес-сообщества по вопросам локализации и мерам государственной поддержки (в т.ч. положение о «третьем лишнем») фармпроизводителей, локализирующих свои производственные участки на территории Российской Федерации. Сегодня компании, производящие первичную и вторичную упаковку, столкнулись с трудностями: «До конца 2016 года им дано время, пока они будут считаться локальным производителем. Но воспользоваться этим сегодня практически невозможно. Во-первых, есть противоречия в самом постановлении, один пункт противоречит другому. Вот-вторых, в приказе ТПП прописано, что палата имеет право рассчитывать адвалорную долю. Понятно, что если считать адвалорную долю для препаратов ЖНВЛП, цена которых не менялась 4 года, то доля иностранной составляющей будет 70–80%. Поэтому сертификат СТ-1 получить невозможно». В этой связи ТПП готовит новую редакцию приказа. **Л. Титова** высказала ожидания отечественных фармпроизводителей, что недоработки в более раннем приказе будут устранены, а срок действия СТ-1 будет продлен до 1 года (сейчас 6 месяцев). Среди иных ожиданий, связанных с приказом ТПП, фармпроизводители выделили отмену обязательной проверки производственной площадки, которая серьезно затягивает сроки выдачи сертификата, и упрощение пакета документов, подаваемых в палату.

Тезисы доклада исполнительного директора СПФО в формате бизнес-кейса на примере локализации производства медицинских изделий продолжил руководитель стратегического отдела «ЛайфСкэн, Джонсон и Джонсон» **Анатолий Клименков**.

Завершилась конференция ***«Вывод лекарственных средств на рынок России и СНГ»*** обзором правового регулирования национальных рынков стран-членов ЕАЭС (Россия, Казахстан, Армения, Киргизия, Белоруссия) и попыткой выработать модель оптимального взаимодействия национальных законодательств в сфере обращения лекарственных средств и медицинских изделий.

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ «ФАРМЭВОЛЮЦИЯ-2016. ПОСТРОЕНИЕ СРЕДЫ ДЛЯ ФАРМИННОВАЦИЙ В РОССИИ: ВЫЗОВЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ»

29 марта 2016 года деловая газета «Ведомости» совместно с правительством Калужской области, Агентством инновационного развития Калужской области при поддержке Калужского фармацевтического кластера провели знаковое для фармацевтической отрасли событие – международный форум, посвященный актуальным вопросам ее развития. На площадке в Обнинске ведущие игроки российского фармацевтического рынка, руководители государственных структур, представители региональных властей, научно-исследовательских и инновационных бизнес-инкубаторов, дистрибьюторских и страховых компаний, аптечных сетей, отраслевых ассоциаций, союзов, фондов, управляющих компаний, банков и рекламных компаний, а также ведущие аналитики, инвесторы и представители экспертного сообщества собрались для выработки консолидированной стратегии.

Калужский фармацевтический кластер – один из крупнейших и успешных проектов эволюции отечественной фармации, ярчайший пример конструктивного взаимодействия представителей органов власти, бизнеса и медицинского сообщества. По состоянию на конец марта 2016 года в кластер интегрированы 62 компании. Такой положительный пример поступательного развития с привлечением не только государственных инвестиций, но и частного капитала обусловил выбор площадки форума с символичным названием «Фармэволюция». «Для сохранения лидирующих позиций и конкурентоспособности фармацевтические компании должны постоянно развиваться и осваивать новые технологии. Мощнейшим драйвером развития в современных условиях функционирования фармацевтической отрасли является приток новых инвестиций и повышение инвестиционной привлекательности отрасли. В этой связи проведение форума **«Фармэволюция-2016. Построение среды для фарминноваций в России: вызовы и перспективы»** является необходимым шагом для скоординированной работы по определению стратегий развития отрасли», – убеждены организаторы форума.

Пленарная сессия форума «*Инвестиционная привлекательность фармацевтической отрасли*» прошла в формате отчета представителей Министерства здравоохранения и Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, руководства Калужской области об успехах, которых удалось достичь фармпромышленности в целом и региону в частности. Директор департамента лекарственного обеспечения и регулирования обращения медицинских из-

делий Минздрава России **Елена Максимкина** представила актуальные данные о реакции фармрынка на изменения, внесенные в 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», распределении инвестиций при проведении государственных закупок препаратов из перечня ЖНВЛП, а также о перераспределении полномочий в этой области между федеральным центром и субъектами. Директор департамента развития фармацевтической и медицинской промышленности Минпромторга России **Ольга Колотилова** отметила позитивные тенденции рынка, достигнутые в ходе реализации ряда государственных программ: «В 2009 году была принята Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года, и если брать 2009 год как базовый, то, например, производство лекарственных средств выросло с этого времени более чем в два раза и по факту 2015 года составляет 231 млрд руб, при том что рынок за 2015 год был где-то в 1,1 трлн, то есть доля российских лекарственных средств составляет 27,18%, при этом в 2013 году она была 23%, в 2014 – 24%. То есть при ежегодном росте объема рынка где-то на 10% мы каждый год подращиваем долю российских лекарственных препаратов… За время действия федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» на рынок выведено уже 28 лекарственных препаратов из перечня ЖНВЛП». Также **Ольга Николаевна** рассказала об активных стимулирующих мерах со стороны министерства: субсидиях на проведение клинических исследований лекарственных препаратов; субсидиях на проекты по производству фармацевтических субстанций и субсидиях на инновационные лекарственные средства. Не обошла вниманием **О. Колотилова** острый вопрос, по которому накануне форума велись жесткие дискуссии в связи с разъяснением ФАС России правил проведения торгов, – вопрос о критериях российского товара. «В целом по законодательству Евразийского союза российским лекарственным средством является лекарственное средство, переработка которого на территории Российской Федерации совершена в достаточном объеме. Это является производством лекарственной формы по законодательству. По «третьему лишнему» до конца 2016 года мы дали преференцию по упаковке для того, чтобы те компании, которые начали локализацию на территории Российской Федерации, завершили ее в достаточно мягком режиме. Делается сейчас предложение в постановление № 719 о российском товаре в целом. Туда вводится дополнение в части лекарственных средств и медицинских изделий. Логика та же: что производство готовой лекарственной формы является российским товаром. Также вводится требование к субстанции, что российской субстанцией будет считаться продукт, молекула которого получена на территории Российской Федерации», – представила развернутый ответ представитель Минпромторга России. Несмотря на это, вопрос о критериях признания товара российским еще не раз поднимался представителями иностранных компаний. В связи с этим в начале пленарной сессии спикер не раз брала слово и делала соответствующие пояснения: «Достаточной переработкой по Таможенному кодексу является смена хотя бы четвертого знака в коде ТН ВЭД. Поэтому, если мы берем субстанцию (это код 29), перерабатываем ее в готовое лекарственное средство в упаковке (это 30 04), мы имеем смену кода не то что в четвертом знаке, а в первом знаке. Поэтому даже производство готового лекарственного препарата из ввозимой фармсубстанции является российским лекарственным препаратом».

Губернатор Калужской области **Анатолий Артамонов** с гордостью представил участникам форума итоги 10-летней работы фармацевтического кластера в регионе, который признан лучшим инновационным кластером России. В кластере 62 компании-участника ведут работы «от формулы, начиная с научных исследований и заканчивая утилизацией использованных фармпродуктов… Формула, парк активных молекул, субстанции, производство, упаковка и сейчас заканчивается строительство завода по производству упаковочных материалов. Дальше использование и утилизация». Высокую оценку калужскому кластеру дал и председатель правления фармацевтических и биомедицинских кластеров России **Захар Голант**, отметив, что из 38 субъектов Российской Федерации, региональные администрации которых изъявили желание создать подобные кластеры, на сегодняшний день это удалось осуществить только в Калуге, Петербурге, Московской области и еще нескольких регионах, где созданы образовательно-научная, медицинская и производственная инфраструктуры. О том, что фарминновации невозможны без ученых, «людей, которые будут придумывать что-то новое», и о важности подготовки таких кадров в своем выступлении говорил председатель комитета предпринимательства в здравоохранении и медицинской промышленности ТПП РФ **Валерий Сергиенко**.

Положительные тенденции развития отечественного фармрынка, в т.ч. за счет государственной поддержки, отметили представители бизнеса – компаний, входящих в Калужский фармацевтический кластер. Это и изменения, внесенные в 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», которые создали «совершенно другую парадигму и правила игры»; и прозрачность закупок: «44-ФЗ [«О контрактной системе в сфере за-

купок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд»], прозрачный, четкий, дает большой набор инструментов нам как производителям и инвесторам для защиты своих интересов и возможность быть представленными во всех регионах Российской Федерации. Если исключить из практики 223-ФЗ [«О закупках товаров, работ, услуг отдельными видами юридических лиц»], это приведет к снижению цен, что мы видим во многих сегментах» (из выступления **П. Родионова**), а также внедрению такого инструмента, как специнвестконтракт. Последний механизм, по словам генерального директора компании «Герофарм» **П. Родионова**, «должен быть направлен на создание уникальных производств по полному циклу разработки и производства самой молекулы здесь, не готовой лекарственной формы, и статус единственного поставщика, на взгляд индустрии, может предоставляться только в случае реализации этого проекта. То есть не в обмен на обещание: ведь есть такое мнение, что «давайте предоставлять статус единственного поставщика в обмен на будущие обещания компании. Делать это нужно только по факту, потому что «единственный поставщик» – очень чувствительное понятие, оно очень сильно может сказаться на отрасли, на конкуренции, поэтому если делать это в каких-то исключительных случаях, то делать только тогда, когда проект реализован, доказан, получены все лицензии и регистрации и продукт появился на рынке».

Подводя итоги пленарной сессии, участники и гости форума представили свое видение развития частных инвестиций в новых экономических условиях. Так, вице-президент завода «Ново Нордиск» в Калуге **Ханс Кеннет Мортенсен** среди первоочередных задач, на которые стоит направлять инвестиции, выделил поднятие производственных процессов на новый уровень. По мнению спикера, это позволит «выработать понимание современных процессов производства фармацевтических продуктов, потому что эта тема все еще находится в очень сложной ситуации для многих участников рынка, и это требует дополнительного обучения, и образовательные процессы должны достигнуть определенного уровня».

Завершилась пленарная сессия подписанием соглашения о стратегическом партнерстве между СПФО и Калужским фармацевтическим кластером.

Форум «Фармэволюция» – авторитетная площадка, организованная газетой «Ведомости» с целью поиска справедливого баланса интересов между представителями государственного сектора, призванного обеспечить социальные блага и доступный уровень качественной медицинской помощи пациентам, и представителями отечественной фармацевтической и медицинской промышленности. На площадке в Обнинске эксперты обсуждали самые насущные проблемы, острые вопросы, совместными усилиями нашли компромиссные пути их решения и развития фармацевтической отрасли страны. Этим обусловлена повестка форума, предложенная организаторами: помимо пленарной сессии, гости Калужской области смогли посетить сессии, посвященные вопросам инноваций в фармацевтике, стоимости лекарственных препаратов, правилам работы в условиях единого рынка ЕАЭС и выводу новых продуктов на отечественный рынок.

В рамках сессии «*Инновации в фармацевтике*» эксперты пришли к единому мнению, что одномоментного изменения произойти не может: «Если вы хотите поменять курс, это потребует много работы, не только желания. Но мы осознаем, что нам нужно делать эти шаги. Что мы должны начинать этот диалог с новаторами, стартапами, университетами и достичь взаимопонимания, какой правильный путь мы должны выработать, чтобы идеи продвигать в продукты» (из выступления **К. Янссен**). В то же время сегодня все больше очевидно: ближайшее будущее тесно связано с развитием по дженериковой модели, позволяющей как развивать отрасль, так и обеспечивать заработки производителей.

С 2016 года начал работать единый рынок лекарственных средств ЕАЭС, который, хоть и предусматривает 10-летний переходный период, предполагает ряд чувствительных изменений, связанных с маркировкой лекарственных средств, порядком формирования и ведения реестра уполномоченных лиц производителей лекарственных средств, объемом полномочий инспекторатов государств-членов. Именно поэтому тема единого фармацевтического рынка остается крайне актуальной для любого форума. В рамках открытых дискуссий эксперты, члены комиссий, участвующие в разработке универсальных нормативно-правовых актов, встречаясь с производителями фармацевтической продукции, пытаются ликвидировать существующий информационный вакуум и предотвратить путаницу в области толкования принимаемых актов.

Завершился форум традиционной темой для производителей лекарственных средств – Market Access, где участники фармкластера (в т.ч. представители зарубежных компаний, локализовавших свое производство в Калуге) поделились успешным опытом внедрения новых продуктов на российский рынок в новых экономических условиях.

ВЫСТАВКА IPHEB & CPHI RUSSIA

30 марта – 1 апреля 2016 года в Москве прошло одно из крупнейших конгрессно-выставочных мероприятий в области отечественной фармации и биотехнологий – шестая международная выставка-форум IPhEB&CPhI Russia. Это идеальная площадка, созданная группой предприятий «РЕСТЭК» для участников российского фармацевтического рынка и потенциальных инвесторов, заинтересованных в новых направлениях развития бизнеса и установлении партнерских отношений с представителями мирового фармацевтического рынка. Второй год подряд выставка проходит на территории ВВЦ при информационной поддержке научно-производственного рецензируемого журнала «*Разработка и регистрация лекарственных средств*», входящего в перечень ВАК.

Проведение второй год подряд в столице России выставки-форума IPhEB&CPhI Russia знаменуется новыми рекордами: за три дня мероприятие посетили порядка 3500 человек, вовлеченных в работу фармацевтической индустрии и смежных с ней отраслей; более 200 компаний из 60 стран представили обширную выставочную экспозицию общей площадью 9000 м^2; на бирже деловых контактов провели около 800 переговоров и встреч сотрудники более 650 компаний. Рекорды были зафиксированы и в деловой программе форума – в этом году организаторы предложили участникам и гостям выставочного комплекса принять участие в работе 13 дискуссионных площадок различной тематики и формата: панельные дискуссии, круглые столы, семинары, мастер-классы, презентации.

Выставку открыли заместитель директора департамента развития фармацевтической и медицинской промышленности Минпромторга России **Алексей Алёхин**, заместитель директора департамента лекарственного обеспечения и регулирования обращения медицинских изделий Министерства здравоохранения Российской Федерации **Константин Бинько**, директор ФБУ «ГИЛС и НП» **Владислав Шестаков**, генеральный директор Выставочного Объединения «РЕСТЭК» **Игорь Кирсанов**, начальник рабочей группы по фармпроектам компании UBM **Кристофер Килби**, а также руководители профильных отраслевых ассоциаций и представители компаний-спонсоров. Приветствуя гостей выставки, все участники церемонии открытия отметили существенное увеличение масштаба выставочной экспозиции, которая позволяет познакомиться не только с отечественными новинками готовых лекарственных форм, но и протестировать современное оборудование ведущих мировых производителей, на котором и производятся данные продукты; а деловая часть выставки-форума открывает перспективы для консолидированной выработки решений самых злободневных вопросов, стоящих перед отраслью в условиях современной геополитической ситуации и финансово-экономической нестабильности. По словам генерального директора группы предприятий «РЕСТЭК», IPhEB&CPhI Russia – это крупнейшее отраслевое мероприятие в стране, которое второй год подряд превращает Москву в мировую столицу фарминдустрии. Возможно, именно этим объясняется повышенный интерес к выставке со стороны отраслевых СМИ и информационно-аналитических порталов. Так, второй год подряд платиновым информационным партнером выставки выступает один из самых востребованных представителями фармацевтического сообщества России научно-производственный рецензируемый журнал *«Разработка и регистрация лекарственных средств»*.

В рамках выставочной экспозиции IPhEB&CPhI Russia сотрудники редакции журнала представили посетителям первый ВАКовский выпуск издания (с декабря 2015 года журнал *«Разработка и регистрация лекарственных средств»* входит в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук), а также профильные для специалистов фармацевтического рынка методические пособия. Высокий научный уровень журнала и признание экспертным сообществом подтверждается тем фактом, что на его страницах публикуются работы представителей (в т.ч. руководителей) крупнейших фармацевтических и медицинских вузов страны, со-

трудников отраслевых органов власти и подведомственных им федеральных бюджетных учреждений. Некоторые из авторов февральского выпуска журнала № 1(14) приняли участие в деловой программе форума IPhEB&CPhI Russia. В частности, ректор ГБОУ ВПО СПХФА Министерства здравоохранения Российской Федерации **Игорь Наркевич** в ходе круглого стола, посвященного текущему состоянию и перспективам развития фармацевтического рынка труда, отметил в качестве основной проблемы системы подготовки кадров для отрасли в настоящее время ограниченное число образовательных учреждений. «Решение этой проблемы лежит на пути интеграции отрасли и системы образования, кластерного развития, модернизации образовательных программ с учетом опыта ведущих фармацевтических вузов страны с обязательным увеличением числа отраслевых кафедр и факультетов. Мы должны идти по инновационному пути развития с оглядкой на наших зарубежных партнеров и свой собственный богатейший опыт фармацевтического высшего образования». С вопросом кадрового обеспечения фармацевтической отрасли связан и такой немаловажный вопрос, как аккредитация специалистов. Тенденции дополнительного профессионального образования в этом направлении рассматривались представителями научного сообщества и отраслевых ассоциаций в рамках мастер-класса. Участники мероприятия представили оценку разработанной единой правовой и методической базы аккредитации и системы сертификации специалистов, а также обсудили механизмы внедрения аккредитационных инструментов для оценки квалификации (профессиональное портфолио, знания, компетенции и проч.).

Одна из ключевых сессий первого дня форума IPhEB&CPhI Russia, *«Модели проведения пилотных проектов лекарственного обеспечения»*, была посвящена вопросам совершенствования лекарственного обеспечения отдельных категорий граждан. Участники сессии обсудили не только угрозы и перспективы модернизации системы лекарственного обеспечения самой уязвимой категории граждан, но и детально рассмотрели наиболее привлекательные модели ценообразования, в т.ч. на основе внедрения референтных цен на лекарственные препараты для медицинского применения, основываясь на механизме сдерживания/оптимизации расходов. Модератор сессии, проректор по инновационному развитию ГБОУ ВПО СПХФА Министерства здравоохранения Российской Федерации **Захар Голант**, отметил недостатки проведенной в 2008 году реформы закупок лекарственных препаратов: «Электронный аукцион в рамках 44-ФЗ – самая популярная на сегодняшний день закупочная процедура, на которую пришлось 53,80% всех закупок, проведенных в России в 2015 году. По форме своей это торги, проводимые в электронном виде на специализированных электронных площадках, победителем которых признается лицо, предложившее наиболее низкую цену государственного (муниципального) контракта… Любой товар, который монопольно находится на рынке, совершенно не подходит для электронного аукциона. К таким товарам необходимо применять принцип прямых переговоров – метод, который в России практически не представлен».

Вопрос лекарственного обеспечения тесно переплетен с Market Access, стратегию и ключевые критерии которого ведущие игроки фармацевтического рынка попытались определить в рамках одноименного мастер-класса с учетом российской системы государственного регулирования и ее влияния на принятие компанией стратегических и тактических решений при выводе на рынок нового продукта. Как отметили

участники мастер-класса *«Market Access в сфере здравоохранения»*, критерий доступности наряду с терапевтической и фармакоэкономической ценностью продукта – базис Market Access.

Второй день деловой программы выставки-форума был посвящен актуальным вопросам производства лекарственных препаратов и ключевым тенденциям развития фармацевтического рынка в ЕАЭС. Не обошли вниманием участники мероприятия и такой вопрос, как поддержка локальных производителей. В рамках одноименной тематической сессии был представлен обзор состояния и изменений фармацевтического рынка в период «зима 2015–2016», где существенное внимание уделили вопросам импортозамещения и локализации производства лекарственных препаратов на территории Российской Федерации. Эксперты тематической сессии единогласно признали, что сегодня, учитывая курс государства на импортозамещение и результаты федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», заканчивается этап развития фармацевтической отрасли, направленный на создание условий для производства только готовых лекарственных препаратов, и начинается новый этап, предполагающий создание технологических кластеров. Отечественная фармацевтическая отрасль на современном этапе способна не только воспроизводить уже существующие в мире разработки, но и обладает компетенциями по внедрению целого ряда необходимых технологий, начиная с самого важного этапа создания лекарственного препарата – исходного сырья (субстанции). Такой подход обусловлен политикой лекарственной безопасности страны в условиях текущей геополитической ситуации. Он характеризуется настоятельной необходимостью создания на территории Российской Федерации высокотехнологических производств от субстанции до готовой лекарственной формы социально значимых лекарственных препаратов. Это, в свою очередь, приводит к росту интереса со стороны бизнес-сообщества к специалистам в области разработок, а значит, «необходимо улучшать образовательные программы так, чтобы производители обращались в вузы не только за выпускниками – молодыми специалистами, но и за профессиональными научными разработками» (из выступления **И. Наркевича**). Что касается интеграции российской фармацевтической промышленности в структуру единого рынка ЕАЭС, здесь участники тематических мастер-классов и сессий видят ряд возможностей для национальных производителей: грамотные и сбалансированные законодательные изменения в сфере поставок импортных лекарственных средств могут стать новым, мощным стимулом для развития отечественной фармацевтической отрасли. В то же время гармонизация норм и требований к фармацевтическому производству в рамках ЕАЭС, унификация процедур регистрации, перерегистрации и экспертизы качества лекарственных препаратов, подготовка квалифицированных специалистов по инспектированию производства лекарственных средств в рамках единых стандартов ЕАЭС – гарантия безопасности и качества современной фармацевтической продукции, а также серьезный механизм конкурентного производства доступных для населения лекарственных препаратов.

Последний день деловой программы прошел в формате круглого стола, традиционной темой которого стала кооперация науки и бизнеса: фармацевтических/медицинских вузов и компаний-производителей на основе государственно-частного партнерства. Участники круглого стола, который ежегодно проходит под председательством заместителя министра образования и науки Российской Федерации **Людмилы Огородовой**, поделились опытом взаимовыгодного сотрудничества в рамках развития научно-производственных отношений. Несмотря на преимущественно положительные тенденции такого сотрудничества (ярчайший пример – технологические платформы), эксперты отметили и проблемы, возникающие в ходе кооперации: координация взаимодействия вузов и компаний-производителей по вопросам развития инновационных технологий в сфере здравоохранения и фармацевтики. Подводя итоги круглого стола, декан фармацевтического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета **Константин Балакин** подчеркнул: «Мы пытаемся объединить в одну работающую сеть несколько десятков ведущих вузов и центров РАН и РАМН. Подготовка кадров высшей квалификации должна способствовать развитию государства – рынка, общества, науки. Если так, то и готовить надо в первую очередь такие кадры, которые бы способствовали развитию всех сфер нашей жизни».

Обширная деловая программа IPhEB&CPhI Russia сопровождалась не менее обширной выставочной экспозицией, поделенной на три тематических раздела: активные фармацевтические ингредиенты, готовые лекарственные формы и биофармацевтические препараты. По аналогии с мировой выставкой CPhI российская выставка включает в себя такие направления, как

– *iCSE Russia*, где представлены контрактные работы, объединяющие представителей фармацевтического сообщества и аутсорсинговые компании.

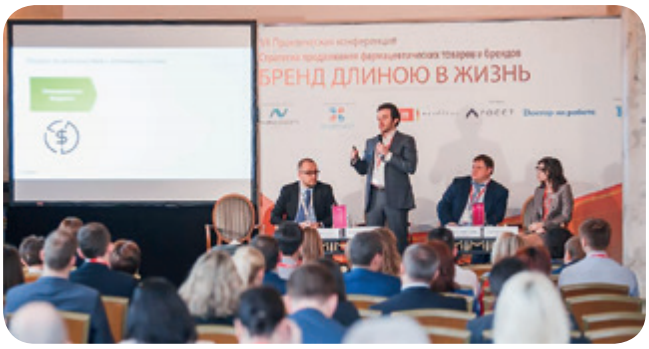
– *P-mec Russia*, в рамках которого ведущие мировые производители и крупнейшие дистрибьюторы представляют новейшее оборудование и технологии для фармацевтического производства.

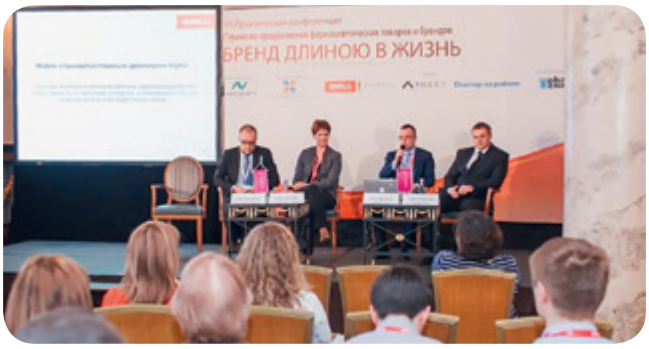
– *InnoPack Russia*, позволяющее познакомиться с инновационными разработками в области упаковки и доставки лекарственных средств.

Следующая выставка IPhEB&CPhI Russia пройдет 28-30 марта 2017 года в Москве на уже ставшей традиционной для этого мероприятия площадке – ВВЦ, 75-й павильон.

VII ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СТРАТЕГИИ ПРОДВИЖЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТОВАРОВ И БРЕНДОВ: БРЕНД ДЛИНОЮ В ЖИЗНЬ»

11–12 апреля 2016 года компания infor-media Russia провела для маркетологов фармацевтических компаний ежегодную конференцию по вопросам жизненного цикла бренда. Практические сессии, посвященные актуальным вопросам вывода нового продукта на рынок и укреплению позиций известного бренда, чередовались с кейсами от практикующих специалистов департаментов маркетинга крупнейших фармацевтических компаний. В рамках конференции состоялась церемония награждения победителей конкурса «Пожиратели рекламы».





Жизненный цикл бренда – непростой и многогранный процесс, в ходе которого происходит неоднократная смена факторов влияния. Одним из ключевых факторов успешности бренда является умение вовремя подстраиваться под условия постоянно меняющейся реальности, правильно прогнозировать дальнейшую судьбу бренда, формировать эффективную маркетинговую стратегию. Именно поэтому ежегодные конференции infor-media о брендировании и выводе фармацевтических продуктов на национальный рынок привлекают более 150 профессионалов отрасли: директоров по маркетингу, развитию, PR, бренд-менеджеров и продакт-менеджеров.

Конференция, которая в этом году прошла под лозунгом «бренд длиною в жизнь», открылась практической сессией *«Магия создания: разработка бренда»*. В ходе сессии директор по маркетингу и развитию бизнеса «ИНВАР» **Тамара Мирзоян** постаралась определить новые тенденции в сфере создания фармацевтического бренда. Не секрет, что в условиях кризиса интересы потребителей претерпевают существенную трансформацию: на первый план выходят социально-экономические приоритеты. «Эффективность, экономия, выживание», – так охарактеризовала фазы потребительского умонастроения и восприятия **Т. Мирзоян**. Помимо экономии на продуктах и товарах медицинского назначения, население начинает экономить и на печатных СМИ, переходя все чаще в сегмент интернет-изданий. Данный факт трансформации предпочтений ключевой целевой аудитории следует учитывать при разработке маркетинговой стратегии и рекламной компании по продвижению продукта. По данным спикера, «вследствие негативного влияния экономической рецессии рынок фармацевтики показывает падение в упаковках и высокий инфляционный прирост в денежном выражении». При этом потребитель отдает предпочтение брендированным аналогам, поскольку в массовом сознании покупателя «небрендированный препарат – ненадежный препарат». Поэтому будущее спикер связывает с «брендированными дженериками с доминантой препаратов, сформировавших почти 100%-й уровень лояльности к себе и врачей, и фармацевтов, и пациентов; их замена на препараты-синонимы маловероятна».

Независимый эксперт **Мария Русинова** в своем докладе акцент сделала на типичных ошибках планирования продуктовой стратегии и механизмах их минимизации на примере нескольких препаратов. Так, перед разработкой стратегии продвижения любого нового товара следует определить ключевые целевые аудитории и выбрать наиболее приоритетные из них для данного продукта. Далее необходимо сформиро-

вать уникальное торговое предложение для каждой целевой аудитории, основываясь на потребностях и приоритетах, которыми данная группа будет руководствоваться при выборе аналогичных продуктов. На основе полученных данных определяются задачи продвижения и механизмы различных активностей со стороны производителя/дистрибьютора. В категориях этапов реализации товара данная схема может быть описана следующим образом:

1. Трафик – привлечение потенциальных покупателей.
2. Конвертация – завладеть вниманием человека и убедить его в том, что ваше предложение решит его проблему.
3. Экономика – товар или услуга должны представлять для человека нечто ценное, за что он готов отдать деньги.

Спикер также подчеркнула, что любая компания, разрабатывая маркетинговую стратегию, прежде всего стремится улучшить свой финансовый показатель. Верно выбранная стратегия позволит избежать существенного разрыва между провалом и удачей. Для этого рекомендуется задействовать так называемый маркетинговый треугольник, определяющий характер взаимодействия продукта, целевой аудитории и методов коммуникации (рисунок 1).

Маркетинговая стратегия обладает максимальной эффективностью при интеграции маркетинговых мероприятий, когда специалисты из разных отделов компании консолидированы для выполнения задачи по выводу продукта на рынок (рисунок 2). Эти специалисты обладают пониманием цепочки потребления: как пациент/покупатель принимает решение о приобретении того или иного продукта, какие элементы и факторы максимально оказывают влияние на этот процесс. При этом, по словам **М. Русиновой**, не следует забывать и о мнениях самих сотрудников компаний относительно выпускаемого на рынок продукта. Такой срез мнений (по методу фокус-групп) позволяет определить ключевые сообщения и предложить позиционирование продукта для целевой аудитории без дополнительных затрат, а также избежать ошибок в продажах.

Маркетинговая стратегия всегда разрабатывается в строгом соответствии с корпоративной стратегией: сложно представить, что декларация не работающих в компании ценностей будет иметь успех при включении данных ценностей в стратегию продвижения бренда.

Согласно данным эксперта **М. Русиновой**, сегодня поведение и потенциал основной категории потребителей фармацевтической продукции (пациентов) определяют специфика их заболеваний и patient flow (рисунок 3).

На основе анализа моделей поведения пациентов при лечении простуды и гриппа, заболеваний предстательной железы и возрастной макулярной дегенерации спикер представила участникам сессии сводную таблицу ключевых проблем планирования продуктовой стратегии и механизмов по их устранению (рисунки 4–5).

Для наиболее успешного определения эффективной стратегии развития продуктового портфеля спикер порекомендовала слушателям придерживаться и активно использовать в своей работе матрицу Boston Consulting Group (рисунок 5).

Первая сессия конференции **«Стратегия продвижения фармацевтических товаров и брендов»** завершилась рядом кейсов, посвященных эффективному мультиканальному планированию фармбрендов, от директора по стратегическому развитию рекламного агентства «РОССТ» **Антона Сиповича**.

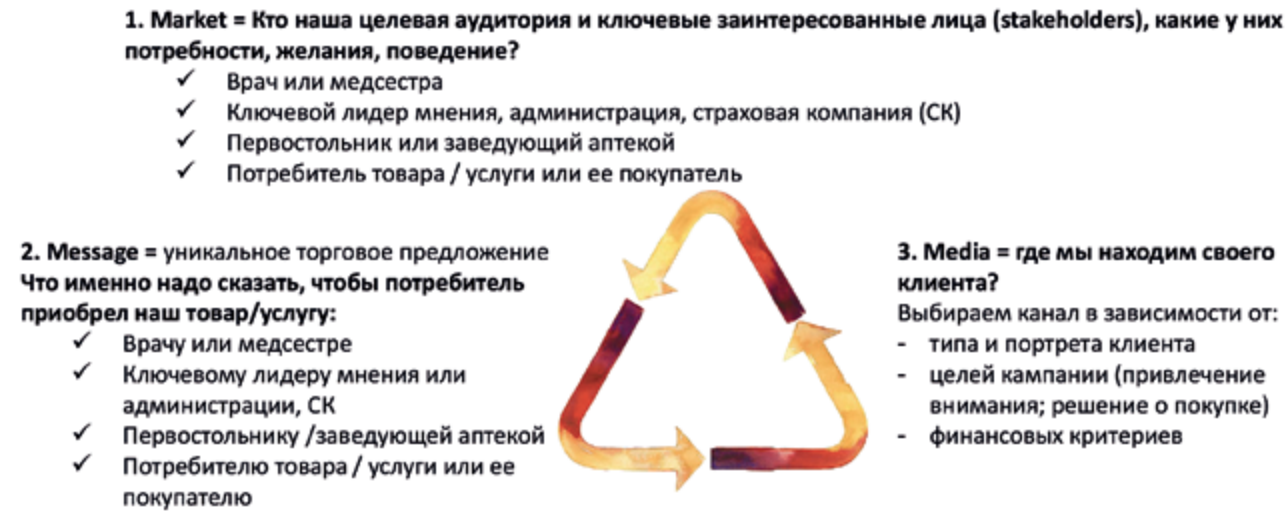


Рисунок 1. **Маркетинговый треугольник взаимодействия продукта, целевой аудитории и метода коммуникации**

Рисунок 2. Воронка маркетинга и продаж

Рисунок 3. Стратегии по каналам продвижения

	Проблема заболевания	Неудовлетворенные потребности	Предложение	Ключевые проблемы и возможности	Основные активности
Регулирующие органы	Аналогичный продукт с таким показанием отсутствует	Пациенты - Восстановление зрения.	Первый препарат, восстанавливающий зрение.	Зарегистрировать препарат вовремя	1.Подготовить и перевести досье 2.Подача досье 3.Своевременные ответы на запросы
Органы, регулирующие ценообразование и возмещение	В настоящее время не существует аналогичного продукта. Высокий уровень госпитализации	Иметь экономически более выгодный метод лечения	Снижение общей стоимости лечения за счет кол-ва дней госпитализации. Снижение уровня инвалидности	Фармакоэкономическое исследование Поддержка лидеров мнений (письма, стандарты)	1. A Организация исследования (дизайн, центры...) B Публикация исследования и использование его результатов 2. A Определение списка КОЛ, шаблона письма B Работа с КОЛ
Лидеры мнений/ Специалисты/ Ассоциации/ Врачи	Пациентов мало, стандарты лечения отсутствуют. Методы лечения старые, неэффективные. Официальной статистики нет	Нет контроля над пациентами	Контроль над заболеванием	Высокая приверженность к лечению, обоснованная клиническими данными Принять идею нового продукта Обучение и мотивация	1. Полное вовлечение ОЛ через план развития, включающего: • Участие в постмаркетинговых КИ • Посещение конгрессов • Работу в экспертном совете 2. Ознакомление с международными стандартами и зарубежным опытом применения, общей информацией по заболеванию 3. Обеспечение процесса направления пациента от первичного звена к специалисту.
Пациенты/ Ассоциации/ Родственники	Быстрая потеря зрения	Сохранение и восстановление зрения	Качество жизни	Большинство населения не знает о заболевании и его развитии Низкое кол-во пациентов, посещающих доктора Низкая приверженность к лечению, нет надежды на выздоровление	Образовательная работа с населением о заболевании, возможностях его лечения и возможных исходах

Рисунок 4. Ключевые проблемы и возможности их решения на основе поведения ключевых стейкхолдеров

Рисунок 5. **Матрица Boston Consulting Group**

О том, как маркетологу спланировать вход в аптечную розницу, победить маркетинг товаропроводящей цены и «продать» идею аптечным сетям, рассказала вице-президент по коммерции и продажам «НоваМедика» **Евгения Ламина** в формате work-shop «*Почему все ненавидят лончи*[1]*?*» Практически у каждого фармпроизводителя минимум раз в год реализуется лонч. Зачем он нужен? Как отметила **Е. Ламина**, новые продукты создают ценность для всех участников фармацевтического рынка: для производителя это выход на новый рынок, для потребителя – закрытие актуальных потребностей, для аптечных сетей – увеличение ассортимента и рост продаж. В то же время лонч – это всегда большой риск. Дистрибьюторы хотят иметь гарантию возврата денег за товар и работать по схеме постоплаты, сегмент розницы не готов вкладывать свои денежные средства из-за проблем, связанных с оборачиваемостью товара, сокращения площадей и проблем доходности.

Вторая практическая сессия «*Зрелость и удержание лидерства*» была посвящена вопросам зрелости компании как неотъемлемой составляющей лидерства в условиях высокой конкуренции на рынке. Руководитель отдела эффективности бизнеса «Гленмарк» **Константин Попов** рассказал о слагаемых компонентах зрелости компании (зрелость людей, процессов, систем и информации) и привел наиболее успешные примеры компаний из разных секторов экономики. При этом под зрелостью людей понимается их опыт в индустрии (понимание законов рынка, знание игроков и заинтересованных сторон, их интересы, история эволюции, взаимосвязи), способность принимать решения, оценивать и принимать риски, соблюдать и создавать правила, лидерские качества. Зрелость процесса предполагает его декомпозицию на простые этапы, доступные для исполнения одним человеком; понятные требования к тому, что требуется на входе в этап процесса, и к тому, что ожидается на выходе этапа процесса; четко прописанная и закрепленная ответственность за ролью (человеком); согласованность сроков этапов процессов; механизм эскалации и внесения изменений в процесс. Зрелость систем включает в себя управление производством, цепочку поставок, бухгалтерию и финансы, автоматизацию работы с клиентами, подбор и оценку персонала, прогнозирование спроса и продаж, электронный документооборот. Зрелость информации – это аналитика, исследования рынка, использование больших данных (Big Data), скорость получения (своевременность), точность и непротиворечивость данных.

Практический пример удачного удержания в организованной рознице лидерских позиций фармпрепаратами, произведенными компанией Navicon, представили ее сотрудники: **Евгений Смирнов, Евгений Голубицкий и Светлана Казанцева**. Управляющий партнер коммуникационного агентства «Нест-Лайн» **Димар Самгуллин** разобрал типичные ошибки медицинских представителей при работе с врачами и представил преимущества использования e-detailing в верном донесении нужной информации.

[1]Лонч (от англ. Launch) – запуск нового продукта на рынок.

Директор отдела коммерческой эффективности и операционного развития Pfizer в России **Дмитрий Щуров** подробно описал процесс стратегического планирования в фармацевтической компании, объяснил особенности применения классических инструментов стратегического маркетинга в российских условиях для различных бизнес-моделей и рассказал о современных подходах к оценке эффективности и оптимизации промо-микс. При управлении портфелем брендов фармацевтические производители используют в различных комбинациях следующие стратегии:

– общую, высокозатратную, но позволяющую провести дифференциацию возможностей и обеспечивающую фокусирование на ключевых позициях;

– стратегию развития, предполагающую уход на какое-то время с рынка для консолидации имеющихся в распоряжении компании возможностей и роста;

– стратегию роли: лидер рынка, атакующий, последователь, нишерующийся;

– стратегию методов, которая базируется на органическом росте, или поглощении, или альянсе;

– стратегию формы: инновационная, обновления, постепенного совершенствования.

Для анализа портфеля спикер рекомендует применять многофакторную матрицу GE (рисунок 6), которая позволяет выявить оптимальное соотношение между привлекательностью/потенциалом рынка и позициями компании на этом рынке.

Рисунок 6. **Многофакторная матрица GE**

В основу стратегии роста **Д. Щуров** предлагает положить матрицу Ансоффа (рисунок 7), на базе которой для нового и существующего рынка определяется наиболее привлекательный продукт.

Рисунок 7. **Матрица Ансоффа**

Сегодня стратегический пейзаж меняется крайне быстро. Расширенное предложение продукции, развитие технологий и их интеграция между собой, размывание границ между отраслями и сегментами (биотехнология), глобальная конкуренция (ценообразование на рынках), быстрое устаревание информации, рост профессионализма и конкуренции за рабочие места, скачки / разрывы (принятие новых законов) – все это ведет к галопирующему ускорению изменений и смене лидеров. Значит, возникает необходимость поиска новых возможностей, создания новой потребительской ценности и ориентации на будущее конкурентное преимущество. Более того, даже успешно выбранная сегодня стратегия может оказаться малоэффективной уже завтра, ведь компания не может быстро адаптировать выбранную стратегию под реальное развитие событий (имплементация стратегии подразумевает инвестиции и позиционирование, которые нельзя мгновенно изменить), а сам выбор стратегии зачастую происходит в условиях неопределенности [будущее неизвестно и не поддается точному прогнозированию, следовательно, выбранная стратегия может быть успешной при одном сценарии будущего и провальной при другом (рисунок 8)].

Последняя сессия VII практической конференции **«Стратегии продвижения фармацевтических товаров и брендов»** была посвящена такому актуальному вопросу, волнующему ключевых стейкхолдеров фармрынка, как получение «максимума в период падения». Менеджер по маркетингу «АстраЗенека Россия» **Сергей Мастягин** рассказал, как вовремя сказать «стоп» инвестициям в бренд. На основе проведенного анализа больших массивов данных исполнительный директор «Фармакей» **Филипп Милевич** показал, что половина рекламного бюджета может расходоваться впустую. Спикер привел примеры инновационных подходов, которые позволяют оперативно принимать решения, анализировать эффективность инвестиций и не повторять ошибки. В заключение своего выступления он отметил, что в условиях падения требова-

Рисунок 8. Управление стратегической неопределенностью

ния к аналитике возрастают, поэтому этим данным необходимо уделять много внимания. Тему актуальных мировых трендов цифрового маркетинга затронул руководитель направления по развитию бизнеса всероссийской аптечной справочной сети Apteki.su **Антон Фотенко**. «Структура рекламных расходов брендов перераспределяется в пользу digital, и, по прогнозам экспертов, в ближайшие 5 лет всё большую роль в этом будет играть mobile. Мобильная реклама станет самым быстрорастущим сегментом в течение следующих пяти лет. Доходы от контекстной рекламы на мобильных устройствах обгонят контекст на десктопе уже к 2019 году. Дисплейная мобильная реклама, включая баннеры, rich-медиа и спонсорства, обгонят десктоп еще раньше – уже к 2017 году», – отметил спикер. Это предполагает, что уже сегодня расходы на рекламу следует начать перераспределять в направлении видеорекламы в mobile. Более того, как показал анализ наиболее эффективных инструментов продвижения фармбрендов в кризис, лидирующие позиции занимают такие механизмы, как грамотный контент-маркетинг в совокупности с нативной рекламой, видеореклама в интернете, DMP и DSP в mobile. Различные грани трейд-маркетинга представил директор по корпоративному развитию «ПрофитМед» **Игорь Климанов**. По мнению спикера, комплексность, мультиформатность и новые технологии сегодня обеспечивают максимальную эффективность. Интеграция в систему электронного маркетинга компании трейд-маркетинга приводит к максимальной автоматизации бизнес-процессов, а синтез маркетинговых программ с элементами СЭМ открывает уникальные возможности по продвижению брендов. Более того, трейд-маркетинг предоставляет эффективную аналитику, позволяя перевести управление продажами и маркетингом в online-режиме, вовлекая в процесс многоканальной коммуникации всех участников маркетинговых программ, осуществляя коллаборацию участников товаропроводящей цепи.

Завершилась последняя практическая сессия конференции докладом независимого эксперта **Ольги Киртаевой**, которая представила три модели бизнес-партнерств, рассказала о многообразии их форм и привела удачные и неудачные примеры. Выбирая ту или иную модель партнерства, компания как правило преследует следующие цели: навести мосты (осуществлять бриджинг) между заинтересованными сторонами, отойти от традиционной тактики (демпфирования или смягчения негативного воздействия факторов внешней среды), которая уменьшает уровень нежелательных последствий и улучшает репутацию корпорации.

Тему digital продолжили обсуждать на вечернем дискуссионном клубе «*Нужно ли идти в digital?*» В дискуссии приняли участие представители фармацевтических компаний, коммуникационных и профессиональных агентств.

Конференция завершилась традиционным вечером «пожирателей рекламы», на котором подвели итоги конкурса «*Лучший рекламный ролик 2016 года*». В числе победителей были представлены работы компаний «Сервье», «НТМ» и «Пфайзер Инновации».

Информационную поддержку конференции оказал научно-производственный рецензируемый журнал «*Разработка и регистрация лекарственных средств*».

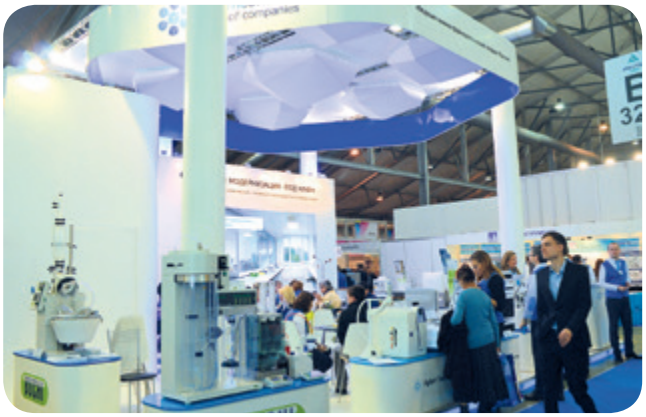
АНАЛИТИКА ЭКСПО – 2016

12–14 апреля 2016 года в КВЦ «Сокольники» прошла 14-я Международная выставка лабораторного оборудования и химических реактивов «Аналитика Экспо». Крупнейшая в России выставка, на которой демонстрируются отечественные и зарубежные разработки в области лабораторного оборудования, технологий химического анализа, лабораторной мебели, химических реактивов и материалов, а также представлен ряд услуг по комплексному оснащению лабораторий различных отраслей промышленности, ежегодно проходит в апреле и собирает ведущих производителей и крупнейших дистрибьюторов современных разработок в области аналитической химии. На протяжении многих лет спонсором и активным участником выставки выступает ведущий химико-фармацевтический холдинг России ГК «Фармконтракт». Научно-производственный рецензируемый журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» второй год подряд является генеральным информационным партнером мероприятия.

Международная выставка лабораторного оборудования и химических реактивов – эффективная бизнес-площадка, на которой крупнейшие производители и дистрибьюторы из 18 стран мира представили в этом году актуальные разработки для химической, фармацевтической, пищевой, медицинской, экологической, нефтегазовой, строительной отраслей промышленности, металлургии, сферы здравоохранения и государственных учреждений на выставочной экспозиции общей площадью около 8000 м^2. Ежегодно выставка привлекает порядка 5000 специалистов отечественных научных и производственных лабораторий – в 2016 году, по данным организаторов, КВЦ «Сокольники» посетило 6014 человек. Популярность мероприятия подтверждается и поддержкой со стороны профильных органов власти и ассоциаций: Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, Комитета Государственной Думы Рос-

сийской Федерации по промышленности, Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору, ТПП РФ, ФБУ «РОСТЕСТ – Москва», Российского союза химиков.

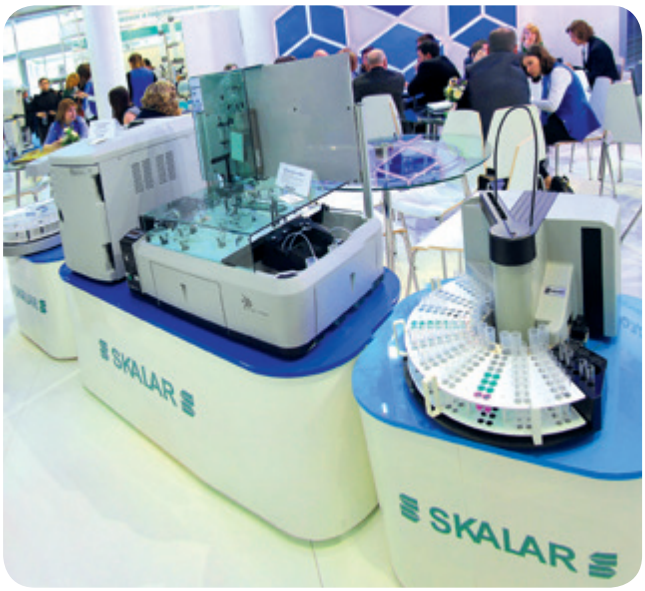
Открытие конгрессно-выставочной экспозиции в этом году совпало со знаменательной датой для России: 12 апреля отмечался юбилей – 55-летие первого полета человека в космос. Об этом много говорили и проводили параллель с подготовленными российскими компаниями специально для выставки и деловой программы «запусками» новых перспективных направлений. В рамках торжественной церемонии открытия к гостям и участникам «Аналитика Экспо – 2016» с приветствием обратились заместитель руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору **Алексей Николаевич Алексеенко,** член экспертного совета Комитета Государственной Думы Российской Федерации по промышленности **Владимир Яковлевич Юртеев,** заместитель директора департамента по работе с объединениями предпринимателей Торгово-промышленной палаты Российской Федерации **Александр Иванович Ломаченко,** эксперт контроля и мониторинга пищевой безопасности управления организации обеспечения эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия Главного управления ветеринарии Московской области **Наталья Викторовна Новосельцева,** заместитель председателя научного совета РАН по аналитической химии, д.х.н., профессор **Владимир Пантелеймонович Колотов,** исполнительный директор Российского Союза химиков **Вячеслав Сергеевич Савинов** и генеральный директор НП «РОСХИМРЕАКТИВ» **Мария Владимировна Коробцова.** После торжественного открытия почетные гости мероприятия ознакомились с самыми яркими представителями–участниками выставочной экспозиции. В частности, их внимание привлек стенд ведущего химико-фармацевтического холдинга России **ГК «Фармконтракт»**, который каждый год старается чем-то удивить изысканный вкус посетителей и гостей. Этот год не стал исключением.



Холдинг представил визуальный отчет не только о своей деятельности, но и результаты внедрения системы «одного окна» при создании и модернизации порядка 20 лабораторий для химической, фармацевтической, пищевой промышленности, АПК и ветеринарии. На стенде **ГК «Фармконтракт»** и на телевизионных экранах выставки посетители КВЦ «Сокольники» могли погрузиться в виртуальный тур по ряду объектов (аналитический испытательный центр одного из гигантов пищевой промышленности страны, химические и фармацевтические производственные участки ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Центр трансфера технологий ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, Институт проблем химической физики РАН), модернизация и оснащение которых производилась «под ключ» силами одной компании-исполнителя. «Система «одного окна», которую мы внедрили еще в прошлом году, позволяет нашим клиентам не беспокоиться о сроках исполнения работ, не вникать в проблемы согласования и прокладки необходимых инженерных коммуникаций для установки определенного типа оборудования, как это требуется в чистых зонах, микробиологических лабораториях и проч., – пояснила вице-президент по международным отношениям **ГК «Фармконтракт» Оксана Якименко**. – Наша задача заключается в том, чтобы процесс по строительству и поставке, например, тех-

нологического оборудования для пилотного синтеза фармацевтических субстанций в лаборатории химического моделирования, а также инсталляции и запуску поставляемого оборудования, проведению необходимых квалификационных работ проходил для клиента практически незаметно и не вносил серьезные коррективы в работу его производственного цикла. Учитывая, что современный производственный процесс не стоит на месте, а уровень исследований с каждым годом становится на порядок выше, что обеспечивается за счет современного оборудования известных мировых производителей, сервисная служба и технические инженеры холдинга проходят регулярное обучение по эксплуатации и работе на новинках более 100 производителей по всему миру. Полученные знания по рациональному использованию оборудования они транслируют сотрудникам российских компаний, проводя мастер-классы и обучение по безопасной эксплуатации установленных приборов и повышению их эффективного применения на объекте клиента. Безусловно, в ходе ежедневной работы и при проведении рутинных анализов возникают специфические вопросы, решение которых совместными усилиями команды **ГК «Фармконтракт»** и технологов заказчика выливается в разработку и постановку порой совершенно новых методик. Такой комплекс услуг возможно получить только от исполнителя, знающего всю специфику технологического процесса заказчика и возможности установленного на его объекте парка приборов».

Традиционно на одном из самых ярких стендов выставочной экспозиции был представлен широкий ассортимент современного лабораторного оборудования для объектов фармацевтической, пищевой, химической и нефтехимической промышленности, АПК, биотехнологических производств и микробиологических лабораторий. В частности, для автоматизации теста «Распадаемость» сотрудникам фармацевтических лабораторий представили тестер **ERWEKA ZT720** с сенсорным экраном, который также позволяет определить, полностью или частично распался исследуемый образец. Как отметил продакт-менеджер **ГК «Фармконтракт»**, при разработке новой модели немецкий производитель постарался учесть важные для пользователя характеристики: легкость создания новых методов, быстрый запуск и создание отчетов о результатах теста. Помимо этого, еще одним преимуществом ZT720 является комплексная, интегрированная функция калибровки, за счет которой обеспечивается точность результатов и происходит документирование результата каждой калибровки. Для быстрого измельчения образцов в небольших объемах растворителя посетителям предложили ознакомиться с принципом работы ручного диспергатора **Polytron PT1200E** от **KINEMATICA**. Сотрудников производственных комплексов, связанных с разработкой биотехнологических продуктов, заинтересовала впервые представленная система формирования клеточных и внутриклеточных изображений **GE Cytell Cell Imaging**. В 2016 году **ГК «Фармконтракт»** стал дистрибьютором американского производителя **GE Healthcare Life Science**. «Это не просто новый производитель для холдинга. Партнерство с **GE Healthcare Life Science** – это серьезный шаг к развитию такого актуального сегодня направления, как биотехнология», – отметил представитель компании. Для биотехнологических производств специально на выставку «Аналитика Экспо» была привезена средоварка **Integra MediaClave**, позволяющая быстро и безопасно приготовить питательные среды из сухих порошков с соблюдением температурного режима и давления. Данный прибор популярен среди предприятий, специализирующихся на выращивании микроорганизмов и бактерий. Не меньший интерес проявили сотрудники микробиологических лабораторий и к распылительной сушилке **BÜCHI B290**, системе вакуумной аспирации жидкостей **Integra VACUSAFE**.



Несмотря на то, что выставка «Аналитика Экспо» преимущественно ориентирована на представителей лабораторного сектора, мероприятие регулярно посещают и специалисты крупных производств. Их интерес обусловлен наличием пилотного и промышленного оборудования. Например, спонсор выставки, **ГК «Фармконтракт»**, ежегодно представляет промышленные ротационные испарители различного объема, которые широко применяются при дистилляции в нефтехимической отрасли.

Международная выставка лабораторного оборудования и химических реактивов – это не только обширная экспозиция оборудования для анализа и контроля качества, лабораторных технологий, биотехнологий и нанотехнологий. Мероприятие привлекает большое количество посетителей и за счет деловой программы, где представители научного сообщества презентуют свои новейшие методики и разработки, а сотрудники компаний-производителей делятся информацией о новинках в линейке приборов, адаптированных под задачи этих методик и производств. Таким образом, в рамках деловой программы происходит кооперация науки и бизнеса, осуществляются квалификационные срезы потребностей исследовательских центров и лабораторий в новых линейках аналитического оборудования, обсуждаются face to face проблемы и возможности адаптации инновационных методик производства принципиально новой продукции.

Консолидация в одном месте ключевых представителей сегмента B2B аналитической химии – отличительная особенность, обуславливающая популярность «Аналитики Экспо» и привлекающая внимание отраслевых СМИ. «На площадке, организованной группой компаний ITE, каждый находит для себя интересные направления, – отметила директор научно-производственного журнала *«Разработка и регистрация лекарственных средств»* **Ольга Залеских**. – Наши читатели, как и гости «Аналитики Экспо», – многопрофильная аудитория: кому-то интересно познакомиться с ноу-хау в области R&D, кто-то хочет получить ответ на конкретный вопрос (решить проблему апгрейда устаревшего оборудования в условиях отсутствия бюджета), третьи ищут каналы и новые рынки сбыта произведенных продуктов… Все эти возможности максимально полно предоставляет выставка».

«МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО»*

25–26 апреля 2016 года в Санкт-Петербурге на базе ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации прошла VI Всероссийская конференция студентов и аспирантов с международным участием. Основной целью конференции является встреча будущих специалистов со своими потенциальными работодателями, что позволяет эффективно организовывать профессиональную ориентацию студентов и выпускников, способствуя повышению конкурентоспособности отечественной фармацевтической отрасли.

Конференция «Молодая фармация – потенциал будущего» является важным событием в научно-технической и инновационной сферах, входит в план наиболее значимых мероприятий образовательной и воспитательной направленности, проходящих при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации. Активно конференцию поддерживают и крупнейшие фармацевтические компании страны, а также отраслевые СМИ. В частности, второй год подряд информационное освещение мероприятия осуществляет научно-производственный рецензируемый журнал *«Разработка и регистрация лекарственных средств»*, входящий в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

Традиционной площадкой проведения конференции и ее инициатором выступает ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПХФА). В свете государственной Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года, в которой развитию кадрового потенциала отводится особое место, значительно возрастает роль СПХФА как ключевой организации, готовящей профильные производственные и научные кадры.

В адрес организаторов, участников и гостей конференции поступило большое количество приветствий: от министра здравоохранения Российской Федерации **В.И. Скворцовой**, от председателя комитета по труду и занятости населения Санкт-Петербурга **Д.С. Чернейко**, от депутата Законодательного собрания Санкт-Петербурга, председателя постоянной комиссии по социальной политике и здравоохранению **Е.Ю. Киселевой**, от генерального директора Ассоциации российских фармацевтических производителей **В.А. Дмитриева** и многих других. В письме-приветствии гостям и участникам конференции **В.А. Дмитриев** отметил: «Вопрос подготовки молодых специалистов всегда был одним из важнейших в фармацевтической отрасли. Отрадно видеть, что студенты и аспиранты СПХФА из года в год являют собой наглядный пример высокого уровня профессиональной подготовки квалифицированных специалистов, и проекты, представленные в рамках конференции «Молодая фармация – потенциал будущего» еще одно тому доказательство». Как отмечено в письме-приветствии генерального директора компании «Такеда Россия», главы региона СНГ **А.Ю. Потапова**, конференция служит импульсом для молодых талантов, будущих специ-

* Материал подготовлен совместно с С.В. Тимофеевой, помощником ректора СПХФА.

алистов фармацевтической отрасли, которая продолжает нуждаться в высококвалифицированных кадрах: «Я рад, что благодаря этой конференции мы вместе с Академией вносим вклад в поддержание инновационного развития российской фармацевтической отрасли». Генеральный директор ООО «НТФФ «ПОЛИСАН» **А.А. Борисов** в приветственном письме отметил, что участие компаний в данном мероприятии обусловлено в первую очередь их интересом к научным работам, которые делают студенты и аспиранты, к глубине их поиска, актуальности тем, возможности претворять разработки в реальном производстве препаратов: «Мы гордимся, что в числе участников конференции есть аспиранты, которые работают в нашей компании, и даже при напряженной работе сотрудники не перестают учиться и покорять новые вершины».

«Сегодня, когда фармацевтический сектор испытывает дефицит квалифицированных кадров, недостаток специалистов с активной позицией и готовностью развиваться в соответствии с требованиями рынка, особая роль в преодолении этих сложностей отведена учебным заведениям. Особое значение приобретает сотрудничество с фармацевтическими компаниями – производителями, дистрибьюторами, аптечными сетями. СПХФА относится к категории идущих в ногу со временем вузов: идет увеличение первичного набора студентов, реализуются программы дополнительного профессионального образования и переквалификации специалистов из смежных областей, развивается профориентационная деятельность», – отмечено в письме-приветствии генерального директора ГК «ЭРКАФАРМ» **А.Г. Карпова**.

25 апреля с результатами научных исследований выступили студенты медицинских и фармацевтических вузов России (представители Волгоградского государственного медицинского университета, Московского физико-технического института (государственного университета), Сибирского государственного медицинского университета, Смоленского государственного медицинского университета, Курского государственного медицинского университета, Белгородского государственного национального исследовательского университета, Пермской государственной фармацевтической академии, Ярославского государственного медицинского университета, Пятигорского медико-фармацевтического института, Самарского государственного медицинского университета и многие другие), Белоруссии (представители Белорусского государственного медицинского университета), Казахстана (представители Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова, Медицинского университета Астаны), Украины (представители Национального фармацевтического университета), Таджикистана (представители Таджикского государственного медицинского университета имени Абуали ибн Сино г. Душанбе), Узбекистана (представители Ташкентского фармацевтического института) и других государств. Молодые ученые представили работы по следующим направлениям:

– математическое моделирование при разработке лекарственных средств;

– современные подходы к синтезу лекарственных субстанций;

– инновационные подходы в биотехнологии;

– современные исследования и разработки магистрантов в области био- и химической технологии;

– технология производства инновационных лекарственных средств;

– методы стандартизации, фармакогностическая и фармакологическая оценка новых лекарственных средств;

– региональные модели лекарственного обеспечения населения и проблемы фармацевтического производства;

– гуманитарные проблемы науки и фармацевтического образования.

В этом году в рамках конференции состоялось большое количество мастер-классов и обучающих семинаров для студентов и аспирантов – участников конференции: мастер-класс «Личная эффективность» (при поддержке Межотраслевого центра кадрового проектирования), ознакомительный семинар «Научная рота Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова», мастер-класс британской рекрутинговой компании Hays «Как быть успешным и профессионально развиваться на фармацевтическом рынке», Pharma Networking Night (при поддержке кадрового агентства Kelly Services CIS), семинар фармацевтической группы «РОСТА» «Эффективная коммуникация – залог успеха в профессии», впервые была проведена секция для школьников «ФАРМ КЛАСС!» (при поддержке «Российской школы фармацевтов»).

Во второй день с докладами в секциях, посвященных современным подходам к синтезу лекарственных субстанций, инновационным подходам в биотехнологии, технологиям производства инновационных лекарственных средств, методам стандартизации, фармакогностической и фармакологической оценке новых лекарственных средств, выступали аспиранты.

Третий день работы конференции проходил в формате презентации от генерального партнера мероприятия для студентов 3–5 курсов факультета промышленной технологии лекарств и фармацевтического факультета, а также аспирантов СПХФА.

Итоги конференции были подведены на пленарном заседании, которое посетили представители отечественных и международных фармацевтических и биотехнологических компаний.

Ректор СПХФА, профессор, д.фарм.н. **И.А. Наркевич** выразил надежду на то, что ежегодная конференция «Молодая фармация – потенциал будущего» – это значительный шаг вперед, который приблизит академию к достижению амбициозных планов работодателей, позволит еще активнее включиться в эту взаимную работу, совершенствовать образовательные программы и научную деятельность: «Доклады и выступления молодых ученых вселяют глубокую уверенность в том, что у нашей фармацевтической науки большие перспективы и большое будущее».

УДК 615.014.2

1 – ГБОУ ВПО
Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова
Минздрава России, 119991,
Россия, г. Москва,
ул. Трубецкая, 8, стр. 2

1 – First Moscow State
Medical University, 8/2,
Trubetskaya str., Moscow,
119991, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: liky145@gmail.com
Тел.: 8 (929) 581 20 08

ПРИМЕНЕНИЕ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ С НЕСТЕРОИДНЫМИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ СРЕДСТВАМИ В ФАРМАЦИИ

И.И. Краснюк (мл.)[1], Л.В. Овсянникова[1]*, О.И. Степанова[1], А.В. Беляцкая[1], И.И. Краснюк[1], Ю.Я. Харитонов[1], В.В. Грих[1], Т.М. Кошелева[1], Л.А. Король[1]

Резюме. В статье представлен краткий обзор применения твердых дисперсий нестероидных противовоспалительных средств с полимерными носителями. Твердые дисперсии вводятся в различные лекарственные формы с различными целями. Приводятся данные о применении дисперсий для оптимизации различных биофармацевтических свойств. Раскрываются различные аспекты получения, исследования и перспективы применения в медицине лекарственных препаратов на основе твердых дисперсий.

Ключевые слова: твердые дисперсии, нестероидные противовоспалительные средства, растворимость, биодоступность.

APPLICATION OF SOLID DISPERSIONS WITH NON STEROIDAL ANTI INFLAMMATORY DRUGS IN PHARMACY

I.I. Krasnuk (junior)[1], L.V. Ovsyannikova[1], O.I. Stepanova[1], A.V. Belyatskaya[1], I.I. Krasnuk[1], Yu.Ya. Kharitonov[1], V.V. Grikh[1], T.M. Kosheleva[1], L.A. Korol[1]

Abstract. The article provides a brief overview of the use of solid dispersions of NSAIDs with polymeric carriers. Solid dispersions are entered in various dosage forms for different purposes. The data are provided on the use of different dispersions to optimize biopharmaceutical properties. Various aspects are disclosed of producing, research and the medical uses of drugs on the basis of solid dispersions.

Keywords: solid dispersions, non-steroidal anti-inflammatory drugs, solubility, bioavailability.

ВВЕДЕНИЕ

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) являются важнейшими симптоматическими лекарственными препаратами (ЛП) современности, которые за счет уникальной комбинации фармакологических свойств – противовоспалительных, анальгетических, жаропонижающих и антитромботических – применяются практически во всех областях медицины. Несмотря на существенные успехи, достигнутые в лечении ревматических заболеваний, их фармакотерапия продолжает оставаться одним из наиболее сложных разделов клинической медицины [1–4].

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ

Ацетилсалициловая кислота (аспирин), более приемлемая форма салициловой кислоты, была выведена на фармацевтический рынок в 1899 г. компанией «Байер». Однако механизм действия противовоспалительных и анальгетических лекарственных средств (ЛС), таких как аспирин и индометацин, оставался неизученным до начала 1960-х годов. Существенные изменения произошли в семидесятые годы XX в., когда Джон Вейн открыл механизм действия аспирина и других НПВС, что положило начало успеху дальнейшего применения противовоспалительной терапии в лечении таких воспалительных заболеваний, как ревматоидный артрит и остеоартрит, связанный с ингибированием фермента простагландин-Н-синтазы или циклооксигеназы (ЦОГ). В начале 1990-х годов Недельман, Симмонс и группа Хиршмана сообщили о существовании индуцибельной изоформы фермента ЦОГ, позже идентифицированой как ЦОГ-2 [5].

Традиционные НПВС, как известно, ингибируют обе изоформы ЦОГ, и их неблагоприятные побочные эффекты связаны в основном с ингибированием ЦОГ-1-пути. Вскоре после этого ученые сосредоточили свои усилия на разработке селективных ингибиторов ЦОГ-2 в целях развития противовоспалительных и обезболивающих агентов с пониженными побочными эффектами по сравнению с традиционными НПВС [6,

7]. В 1999 г. компания G.D. Searle и Pfizer запустила первый селективный ингибитор ЦОГ-2 целекоксиб. За ним последовал выпуск компанией Merck селективного ингибитора ЦОГ-2 рофекоксиба. В течение короткого периода эти препараты достигли высокого уровня продаж в Северной Америке [2–5, 7].

КЛАССИФИКАЦИЯ НПВС

К классу НПВС относятся около 20 оригинальных ЛП, которые по химической структуре подразделяются на несколько групп: производных салициловой индолил- и гетероарилкарбоновых, уксусной, пропионовой, эноликовой кислот, пиразолона, трехядерных сулфонамидов или сульфонатов – коксибы и др. (таблица 1) [1, 2, 4].

Таблица 1.

Классификация НПВС по выраженности противовоспалительной активности и химической структуре

НПВС с выраженной противовоспалительной активностью	
Кислоты	
Салицилаты	ацетилсалициловая кислота (аспирин), дифлунизал, лизиномоацетилсалицилат
Пиразолидины	фенилбутазон
Производные индолуксусной кислоты	индометацин, сулиндак, этодолак
Производные фенилуксусной кислоты	диклофенак
Оксикамы	пироксикам, теноксикам, лорноксикам, мелоксикам
Производные пропионовой кислоты	ибупрофен, напроксен, флурбипрофен, кетопрофен, тиапрофеновая кислота
Некислотные производные	
Алканоны	набуметон
Производные сульфонамида	нимесулид, целекоксиб, рофекоксиб
НПВС со слабой противовоспалительной активностью	
Производные антраниловой кислоты	мефенамовая кислота, этофенамат
Пиразолоны	метамизол, аминофеназон, пропифеназон
Производные парааминофенола	фенацетин, парацетамол
Производные гетероарилуксусной кислоты	кеторолак

При назначении НПВС-терапии особое внимание обращают на выбор эффективного препарата, оптимальной дозы и способа введения; определение длительности курса лечения; прогноз безопасности; оценку эффективности; оценку переносимости. В настоящее время основное внимание уделяется созданию и использованию не столько более эффективных, сколько безопасных НПВС.

Среди наиболее эффективных НПВС диклофенак натрия (Вольтарен, Диклак, Диклоберл, Диклобрю, Дикловит, Диклоген, Диклонак, Диклофенак, Олфен, Ортофен и др.) занимает ведущее место по сочетанию выраженного противовоспалительного и болеутоляющего действия и остается современным мировым стандартом лечения. Диклофенак является наиболее часто используемым ЛП для лечения воспалительных заболеваний суставов, облегчения посттравматического и послеоперационного болевого синдрома, но регулярное его применение связано с некоторыми побочными эффектами со стороны ЖКТ и сердечно-сосудистой системы. Внедрение в практику селективных ингибиторов ЦОГ-2 (мелоксикама, нимесулида, рофекоксиба, целекоксиба, вальдекоксиба, парекоксиба и этодолака) открыло перспективы в плане высокой безопасности лечения НПВС. Однако эти препараты нельзя считать абсолютно безопасными, поскольку на фоне лечения ЦОГ-2-ингибиторами нередко отмечается развитие симптомов диспепсии и гастроэнтерологических побочных эффектов [1, 2, 4, 6–8].

Одной из проблем при создании ЛП на основе НПВС является их малая растворимость, так как НПВС – это соединения липофильной природы [9–11].

На сегодняшний день известен ряд малорастворимых в воде химических соединений, к которым также относятся и лекарственные вещества (ЛВ) группы НПВС. Таким образом, исследования по созданию новых препаратов НПВС направлены не только на синтез ЛВ, но также и на улучшение биофармацевтических характеристик, связанных с плохой растворимостью уже имеющихся. Диклофенак (кислотная форма) является хорошо изученным ЛВ, типичным представителем группы НПВС, и относится к наименее растворимым соединениям даже при использовании его в ЛП в качестве солевой составляющей в соответствующих лекарственных формах (ЛФ): таблетках, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, таблетках, покрытых оболочкой, суппозиториях, гелях и мазях для наружного применения [2, 7]. По биофармацевтической классификационной системе (БКС) при пероральном приеме диклофенак относят ко II классу ЛВ с преобладанием низкой растворимости и высокой проницаемости [12]. В свя-

зи с этим для ЛВ II и IV класса существует необходимость в технологическом повышении их растворимости [10, 13].

МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ РАСТВОРИМОСТИ

Для повышения растворимости используют различные физико-химические подходы: уменьшение размеров частиц, модификацию кристаллической структуры, получение твердых дисперсий (ТД). Один из способов повышения БД из лекарственных препаратов – введение лекарственных веществ в ТД. Получение ТД рассматривается как один из наиболее эффективных способов уменьшения размера частиц до коллоидного и молекулярного уровня. Под воздействием среды растворимый матрикс полимера растворяется, и коллоидные частицы или молекулы ЛВ сразу же высвобождаются в среду растворения, вызывая быструю солюбилизацию ЛВ. ТД приобретают огромное значение при создании пероральных твердых ЛФ с повышенной скоростью растворения для плохо растворимых в воде ЛВ. Таким образом, применение ТД способствует улучшению БД при пероральном приеме [9, 13–16].

Как правило, в ряде случаев различные ЛП, содержащие ЛВ группы НПВС, требуют модификации различных биофармацевтических свойств, например повышения растворимости (ацеклофенак, ацетаминофен, ибупрофен, эторикоксиб) или скорости растворения (парацетамол, эторикоксиб). В работах [16–21] приведены примеры исследований, целью которых являлось улучшение перечисленных ранее важных фармакологических показателей путем получения ТД.

ПРИМЕРЫ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ С НПВС

Ацеклофенак по химической структуре – производное фенилацетоуксусной кислоты, предназначен для систематического лечения боли и воспаления [8, 15]. Ацеклофенак практически нерастворим в воде, по БКС относится к веществам с низкой растворимостью и высокой проницаемостью [12–15]. В работе [15] была проведена попытка повысить растворимость ацеклофенака включением в ТД с использованием водорастворимых носителей: полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 6000 и бета-циклодекстрина (β-ЦД). ТД ацеклофенака с ПЭГ-6000 были получены методом плавления, а с β-ЦД – методом совместного механического измельчения порошка ЛВ с порошком циклодекстрина. ТД, а также механические смеси были получены при соотношении ЛВ : полимер 1:1, 1:2 (по массе).

ТД изучены с помощью следующих методов: сканирующей калориметрии, сканирующей микроскопии (СМ), теста растворения. Результаты СМ показали потерю кристалличности ацеклофенака в ТД. Для ТД ацеклофенак : ПЭГ в соотношении 1:2 продемонстрирована наилучшая растворимость среди всех ТД по сравнению с ТД ацеклофенак : β-ЦД. В дальнейшем полученную ТД запрессовывали в таблетку прямым прессованием и сравнивали свойства полученных таблеток с тремя ближайшими известными торговыми марками ацеклофенака. Полученные результаты теста «Растворение» свидетельствовали, что таблетки ацеклофенака с ТД показали лучшее высвобождение по сравнению с заводскими. Были получены ТД ацеклофенака с поливинилпирролидоном (ПВП) с молекулярной массой 3000 (1:1), с гидроксиметилцеллюлозой (ГМЦ) (1:1), с β-ЦД (1:1 и 1:2), с ПЭГ (1:1 и 1:2) [15]. Полученные ТД исследовали методами ИК-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа, дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), теста «Растворение» на содержание ЛВ. В результате показана повышенная растворимость ацеклофенака из ТД с ПВП и ГМЦ в среднем до 94%, с β-ЦД в соотношениях 1:1 – на 87%, 1:2 – на 80%, с ПЭГ в соотношениях 1:1 – на 67%, 1:2 – на 90%. Данные рентгеноструктурного анализа демонстрируют потерю кристаллической структуры ЛВ в изучаемых ТД. Повышенное высвобождение ЛВ определяется его переходом из кристаллического состояния в аморфное в условиях ТД.

Парацетамол относится к НПВС, используется в качестве анальгетика. Целью исследования в работе [16] являлось получение ТД парацетамола с ПЭГ и ПВП в различных соотношениях и сравнение их свойств. ТД получены в соотношениях ЛВ:полимер 1:1, 1:2, 2:1. Отмечено отсутствие взаимодействия между ЛВ и полимером. Наблюдалось повышение скорости растворения для ТД с ПВП (1:2) и для ТД с ПЭГ (1:2). ТД с ПЭГ (1:2), полученная методом замешивания, характеризовалась максимальным повышением высвобождения ЛВ – до 97%.

Ибупрофен относится ко II классу с низкой растворимостью и высокой проницаемостью, его биодоступность ограничена скоростью растворения [17]. ЛВ используется в терапевтической практике как болеутоляющие. Экспериментальная часть статьи посвящена изучению математических моделей прогнозирования растворения ЛВ в бинарных и тройных смесях с полимерами с последующим получением желатиновых капсул с ибупрофеном, и ПЭГ может быть использован в качестве солюбилизирующего агента при получении жидких ЛВ. Одной из моделей, изученных в статье, является модель Джойбан-Акри, которая дает точное математическое описание того,

как растворимость вещества зависит от температуры и состава растворителя.

В работе [18] представлены результаты изучения растворимости ибупрофена в бинарных смесях ПЭГ : этанол, ПЭГ : вода или тройных (ПЭГ : этанол : вода) при 25 °С. Определены константы растворимости для бинарных и тройных смесей растворителей, которые используются для прогнозирования растворимости ЛВ в различных композициях растворителей и при различных температурах. Модель обеспечивает точные прогнозы изменения растворимости в присутствии сорастворителей в водном растворе или комбинации двух сорастворителей. Полученные экспериментальные данные позволяют расширить базу данных о растворимости лекарственных средств в различных бинарных или тройных смесях, а также могут быть использованы в дальнейшем в исследованиях, посвященных изучению высвобождения ЛВ из мягких и твердых желатиновых капсул.

В другой статье [19], посвященной ТД ибупрофена, целью исследования являлось получение ТД с такими носителями, как гидроксипропилметилцеллюлоза и гидроксипропилцеллюлоза, декстроза, маннит, лактоза. ТД получены методом совместного плавления. Оценку свойств дисперсий проводили на основе исследования растворения. Наилучшее высвобождение ибупрофена было отмечено с ТД с использованием в качестве носителей сахарной пудры в соотношении 1:4, с декстрозой – в таком же соотношении.

Эторикоксиб относится к группе НПВС, ко II классу БКС, является производным сульфонамида, используется для лечения остеоартрита, ревматоидного артрита и острого подагрического артрита. Эторикоксиб практически нерастворим в воде. Работы [20, 21] проведены для повышения способности эторикоксиба растворяться путем получения ТД с использованием ПЭГ-6000 в различных соотношениях ЛВ : полимер (1:1, 1:3, 1:6, 1:9) с применением различных методов: физических смесей, метода выпаривания. Все ТД демонстрировали лучшую растворимость по сравнению с чистой субстанцией эторикоксиба. ТД изучали спектрофотометрическим методом. ТД с ПЭГ в соотношении 1:4, полученная методом выпаривания, показала максимальное повышение скорости растворения эторикоксиба. Это увеличение скорости растворения может быть связано с увеличением смачиваемости ЛП, солюбилизации ЛС путем использования носителей за счет снижения кристалличности ЛВ. На основе приведенных исследований был сделан вывод об успешности данного метода, повышающего скорость растворения эторикоксиба [19, 20].

Индометацин является производным индолилуксусной кислоты, относится ко II классу по БКС. В работе [22] приведены исследования по получению ТД малорастворимого в воде индометацина методом соосаждения с применением распылительной сушки с лактозой, используемой вместо полимера. В процессе соосаждения ЛВ и дисахарид растворяются в общем летучем растворителе, впоследствии растворитель удаляют для получения ТД. Для полученных ТД (ЛВ : дисахарид) в соотношениях 1:1, 1:2 изучали динамику растворения ЛВ. В задачи исследования входило изготовление на основе полученных ТД твердых желатиновых капсул, изучение их технологических характеристик в сравнении с заводскими аналогами капсул, содержащих индометацин. Индометацин часто назначается в виде капсул. Для полученных капсул с ТД индометацина с дисахаридом отмечено повышение высвобождения ЛВ до 80% за первые 20 мин эксперимента.

Для повышения растворимости индометацина с применением метода соосаждения получали ТД со следующими водорастворимыми полимерами: ПЭГ-4000, ПЭГ-6000, ПВП, мономерным лаурилсульфатом натрия, а также с дисахаридами – декстрозой (сахарозой) и лактозой. Полученные ТД индометацина с лактозой в соотношениях 1:1, 1:2 показали более быстрое растворение ЛВ по сравнению с капсулами, содержащими субстанцию индометацина. Количество индометацина, перешедшее в раствор из капсул содержащих ТД индометацина с водорастворимыми полимерами, соответствует 100% к 45 мин по сравнению с заводскими капсулами, которые демонстрируют высвобождение порядка 80% к тому же моменту времени. Подобный результат связан с повышенным растворением индометацина из ТД с лактозой в соотношении 1:2. Таким образом, возможно получение капсул ТД с индометацином и лактозой с повышенной растворимостью ЛВ.

Нимесулид относится ко II классу по БКС противовоспалительного, обезболивающего, антипиретического действия. Одной из причин его успешного использования в ТД является его низкая растворимость в воде и нерегулярная абсорбция из ЖКТ. ТД получали комбинацией методов плавления и растворения с использованием ПЭГ-6000 и талька. В исследовании [23] проведено изучение высвобождения ЛВ из ТД. Результаты показали значительное повышение высвобождения ЛВ из ТД. ТД нимесулида, полученные сочетанием метода растворения и плавления с использованием в качестве полимера ПЭГ-6000 и талька, существенно улучшали растворимость нимесулида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам ряда исследований, посвященных изучению применения ТД с НПВС в фармацевтической практике, можно сделать заключение, что для

оптимизации биофармацевтических характеристик ЛП, содержащих ЛВ группы НПВС, могут с успехом применяться их ТД с различными носителями. В современной фармацевтической науке и практике ведутся исследования в области разработки ЛП на основе ТД. Активно разрабатываются технологические приемы получения ТД с НПВС и введения их в различные ЛФ. Подобный прием позволяет, не разрабатывая новых химических соединений, получить новые ЛП на основе ранее разработанных субстанций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.Л. Насонов. Нестероидные противовоспалительные препараты при ревматических заболевания: стандарты лечения // РМЖ. 2001. Т. 9. № 7. С. 265–270.
2. Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. Нестероидные противовоспалительные средства (методическое руководство). – Смоленск: СГМУ, 2008. 54 с.
3. S. Niklas, F.A. Russell, J.J. McDougall. Topical diclofenac in the treatment of osteoarthritis of the knee // Orthopedic Research and Reviews. 2011. № 3. P. 1–8.
4. Е.Л. Насонов. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов в начале XXI века // РМЖ. 2001. Т. 11. № 7. С. 375–378.
5. P.N. Praveen Rao, E.E. Knaus. Evolution of Nonsteroidal AntiInflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond // J Pharm Pharmaceut Sci. 2008. №11 (2). P. 81–110.
6. S.L. Curry, S.M. Cogar, J.L. Cook. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a review // J Am Anim Hosp Assoc. 2005. V. 41. № 5. P. 298–309.
7. M. Batlouni. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs: Cardiovascular, Cerebrovascular and Renal Effects // Arq Bras Cardiol. 2010. № 94 (4). P. 522–529.
8. М.Д. Машковский. Лекарственные средства: пособие для врачей. 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая Волна, 2012. 1216 с.
9. A. Sharma, C. Jain. Solid dispersion: A promising technique to enhance solubility of poorly water soluble drug // Int. J. Drug Deliv. 2011. V. 1. № 2. P. 149–170.
10. R. Tiwari and etc. Solid dispersions: An overview to modify bioavailability of poorly water soluble drugs // Int. J. PharmTech Res. 2009. V. 1. № 4. P. 1338–1349.
11. K. Dhirendra and etc. Solid dispersions: A review // Pak. J. Pharm. Sci. 2009. V. 22. № 2. P. 234–246.
12. M. Yasir, M. Asif, A. Kumar. Biopharmaceutical Classification System; An Account // Int. J. PharmTech Res. 2010. V. 2. № 3. P. 1681–1690.
13. S. Dahiya. Studies on formulation development of a poorly water-soluble drug through solid dispersion technique // Thai. J. Pharm. Sci. 2010. V. 34. P. 77–87.
14. S. Sinha and etc. Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drug ritonavir // AAPS PharmSciTech. 2010. V. 11. № 2. P. 518–27.
15. S.K. Das and etc. Solid Dispersions : An Approach to Enhance the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs // Int. J. Pharmacol. Pharm. Technol. 1960. № 1. P. 37–46.
16. D. Akiladevi, P. Shanmugapandian, D. Jebasingh, B. Sachinandan. Preparation and evaluation of Paracetamol by solid dispersion technique // Int. J. Pharm. 2011. V. 3. №1. 188–191.
17. I.E. Shohin, J.I. Kulinich, G.F. Vasilenko, G.V. Ramenskaya. Interchangeability Evaluation of Multisource Ibuprofen Drug Products Using Biowaiver Procedure // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011.
18. S. Soltanpour, A. Jouyban. Solubility of Acetaminophen and Ibuprofen in Binary and Ternary Mixtures of Polyethylene Glycol 600, Ethanol and Water // Chem. Pharm. Bull. 2010. № 58 (2). P. 219–224.
19. N. Saffoon,Y. Jhanker, N. Huda. Dissolution profile of ibuprofen solid dispersion prepared with cellulosic polymers and sugar by fusion method // Stamford J. Pharm. Sci. 2011.V. 4. № 1. P. 31–37.
20. S. Muralidhar and etc. Enhancement of dissolution rate of etoricoxib through solid dispersion technique // J. Appl. Pharm. Sci. 2011. V. 1. № 5. P. 129–132.
21. B. Chauhan, S. Shimpi, A. Paradkar. Preparation and characterization of etoricoxib solid dispersions using lipid carriers by spray drying technique // AAPS PharmSciTech. 2005. V. 6. № 3. P. 405–412.
22. P. Dangrasirt, V. Limnong. Preparation of Fast Release Indomethacin solid dispersion by Spray Drying using Lactose as water-soluble Carrier // Thai J. Pharm Sci. 2005. № 29 (3–4). P. 103–111.
23. S. Ismail, M. El-Mahdy, S. Al-Kubati. Enchancement of solubility and dissolution of Nimesulide using solubilization, solid dispersion and complexation techniques // Bull. Pharm. Sci. 2009. V. 32. P. 321–328.

22–25 ноября 2016

Москва, МВЦ «Крокус Экспо»

ufi Approved Event

pharmtech & ingredients

Организатор

ITE

Группа компаний ITE
+7 (499) 750-08-28
pharmtech@ite-expo.ru

При поддержке

Забронируйте стенд

pharmtech-expo.ru

УДК 615.2

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4

2 – ООО «Консорциум-Пик», 125047, Россия, г. Москва, Оружейный пер., 25, стр. 1

1 – I.M. Sechenov Firs Moscow State Medical University, 2/4, Bolshaya Pirogovskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – LLC Consorsium-Pik, 25/1, Oruzheynyy pereulok, Moscow, 125047, Russia

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

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК, ДИСПЕРГИРУЕМЫХ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ, МЕТОДОМ ПРЯМОГО ПРЕССОВАНИЯ

Ж.М. Козлова[1], С.О. Пчелинцев[1]*, Э.Р. Халикова[1], П.Г. Заболотная[1], М.Н. Маслова[1], Г.А. Ким[2]

Резюме. В статье представлены результаты сравнения технологических характеристик масс для таблетирования и готовых твердых лекарственных форм, полученных с использованием современных комбинированных вспомогательных веществ. Изучены такие технологические показатели, как сыпучесть, насыпная плотность. Методом прямого прессования получены таблетки, диспергируемые в ротовой полости. Критериями оценки качества служили такие показатели, как внешний вид, средняя масса, прочность на раздавливание и истирание, распадаемость.

Ключевые слова: ородиспергируемые таблетки, вспомогательные вещества, амлодипина никотинат.

THE USE OF MODERN COMBINED ADDITIVE AGENTS FOR DIRECTLY COMPRESSED ORODISPERSIBLE TABLETS

Z.M. Kozlova[1], S.O. Pchelintcev[1]*, E.R. Khalikova[1], P.G. Zabolotnaya[1], M.N. Maslova[1], G.A. Kim[2]

Abstract. The article describes the comparison results of the compression mass technological characteristics and quality profile of dosage forms produced with the use of modern combined additive agents. Technological parameters such as the flowability and bulk density of the compositions were analyzed. Orodispersible tablets were produced by direct compression. The quality of the tablet compositions was investigated in terms of appearance, average tablet weight, friability, hardness and disintegration.

Keywords: orodispersible tablets, additive agents, amlodipine nicotinate.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время создание таблеток, диспергируемых в ротовой полости, является интенсивно развивающимся направлением на фармацевтическом рынке в связи с возможностью использования у пациентов, испытывающих трудности при проглатывании таблеток, капсул и жидкостей: детей, пожилых, обездвиженных больных, а также пациентов, страдающих онкологическими, психическими, аллергическими и иными заболеваниями [1].

По физической структуре таблетки, диспергируемые в ротовой полости, представляют собой пористое тело, при погружении в жидкость (слюну) которого последняя проникает во все капилляры, пронизывающие таблетку [2]. В этой связи использование в технологии получения таблеток современных, хорошо растворимых вспомогательных веществ способствует их быстрой распадаемости (диспергации) и, соответственно, всасыванию лекарственного вещества в ротовой полости [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили составы для таблетирования, таблетки амлодипина никотината, диспергируемые в ротовой полости. Составы были получены с использованием современных комбинированных вспомогательных веществ, выбранных с учетом требований к готовой лекарственной форме и технологических характеристик субстанции [4].

При разработке оптимального состава в качестве вспомогательных веществ использовали:

- Prosolv® ODT (JRS Pharma, Германия) – инновационный продукт, готовый к использованию, предназначенный для получения орально дезинтегрирующих таблеток по матричной технологии. Является уникальным сочетанием растворимых и нерастворимых компонентов с использованием PROSOLV-технологий. Обладает хорошими текучестью и характеристиками смешивания, а также высокой прессуе-

мостью. Не требует добавления дополнительных наполнителей и дезинтегрантов [5].

- Pearlitol® Flash – Mannitol (Roquette, Франция) – смесь маннитола и крахмала, предназначенная для получения быстродиспергируемых таблеток. Обладает высокой прессуемостью, позволяет получить таблетки с гладкой поверхностью. При растворении во рту имеет приятную кремовую текстуру и слегка сладкий вкус. Не требует дополнительного использования супердезинтегрантов [6].
- Pearlitol® 200 SD – Mannitol (Roquette, Франция) – специальный вид маннитола, разработанный для получения таблеток, диспергируемых в ротовой полости. Обладает хорошей физической и химической стабильностью, что важно при включении в состав нестабильных субстанций. Также обладает хорошей сыпучестью, высокой прессуемостью и приятным сладким вкусом [6].
- Аэросил А-300 (Evonik Degussa AG, Германия) – очень легкий порошок белого цвета с выраженными адсорбционными свойствами. Имеет высокую химическую стойкость к воздействию многих химических реагентов. Применяется как антифрикционное средство, лубрикант, разрыхляющий агент [7].
- Магния стеарат Tablube® (Nitika, Индия) – тонко измельченный белый порошок, слегка мыльный на ощупь. Применяется как лубрикант, антифрикционное средство. Улучшает сыпучесть порошков [8].

В качестве действующего вещества использовали субстанцию амлодипина никотината, полученную в качестве опытной серии компанией ООО «ПИК-Фарма ХИМ». Амлодипина никотинат обладает вазодилатирующим, гипотензивным, антиангинальным, спазмолитическим действием, усиливает кровоснабжение мозга при ишемическом и геморрагическом поражениях, что было подтверждено в исследовании *in vivo* [9].

Амлодипина никотинат представляет собой белый аморфный порошок со слабым специфическим запахом, обладающий горьким вкусом. Малорастворим в воде, растворим в метаноле и этаноле. Имеет неоднородный фракционный состав, пластинчатую форму кристаллов, низкую насыпную плотность и обладает плохой сыпучестью. Влажность субстанции составляет 0,1% (при норме не более 0,5% в соответствии с проектом нормативной документации компании).

Для определения технологических характеристик полученных масс для таблетирования и готовой лекарственной формы использовались следующие методики.

Степень сыпучести порошков оценивали с помощью прибора ERWEKA GTL по методике, описанной в ГФ XIII (ОФС 1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков»). Результаты среднего значения степени сыпучести для каждой серии представлены в таблице 3.

Внешний вид и вкус таблеток определяли органолептически.

Средняя масса таблетки определялась по методике, описанной в ГФ XIII (ОФС 1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм»). Результаты представлены в таблице 3.

Прочность на истирание определялась при помощи прибора ERWEKA TAR по методике, описанной в ГФ XIII (ОФС 1.4.2.0004.15 «Истираемость таблеток»). Результаты представлены в таблице 3.

Тестер определения истираемости TAR, ERWEKA

Тестер сыпучести GTL, ERWEKA

Прочность таблеток на раздавливание изучалась с помощью прибора Erweka TBH 125 по методике, описанной в ГФ XIII (ОФС 1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание»). Таблетку, поставленную на ребро, сжимали до разрушения. Измерения проводили для 10 таблеток. Результаты представлены в таблице 3.

Изучение распадаемости проводилось с помощью прибора Erweka ZT 720 по методике, описанной в ГФ XIII (ОФС 1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул»). Результаты представлены в таблице 3 и на рисунке 1.

Таблетки амлодипина никотината, диспергируемые в ротовой полости, получены на таблеточном прессе Erweka EP-1 при установленном ранее давлении прессования 5,2–5,5 кН (пуансоны D=13 мм). Номинальная масса таблеток 500 мг.

При разработке оптимального состава и технологии получения таблеток, диспергированных в ротовой полости, использовали следующее оборудование:

Таблеточный пресс EP-1, ERWEKA

Тестер растворения ZT 720, ERWEKA

Лабораторный смеситель AR 403 V-Mixer VB-3, ERWEKA

- лабораторный смеситель AR 403 V-Mixer VB-3 (Erweka GmbH, Германия);
- тестер сыпучести GTL (ERWEKA GmbH, Германия);
- тестер растворения ZT 720 (ERWEKA GmbH, Германия);
- тестер прочности TBH 125 (ERWEKA GmbH, Германия);
- тестер определения истираемости TAR (ERWEKA GmbH, Германия);
- таблеточный пресс EP-1 (ERWEKA GmbH, Германия);
- аналитические весы ED 153 (концерн Sartorius, Германия);
- аналитические весы ED 8201 (концерн Sartorius, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день на рынке имеется большое количество различных вспомогательных веществ, позволяющих получить составы, подходящие для ородиспергируемых лекарственных форм. Большинство производителей вспомогательных веществ ведут разработки по созданию комбинированных вспомогательных веществ, позволяющих значительно облегчить процесс получения масс для таблетирования благодаря сокращению количества технологических операций или времени на их осуществление [2, 4]. Подобные решения предоставляют возможность использования готовых комбинаций вспомогательных веществ в технологии прямого прессования, даже при введении субстанции, характеризующейся плохой сыпучестью или прессуемостью.

Тестер прочности TBH 125, ERWEKA

При разработке оптимального состава таблеток амлодипина никотината, диспергируемых в полости рта, учитывали физико-химические и технологические свойства субстанции амлодимина никотината, а также возможность использования различных комбинированных вспомогательных веществ, таких как Prosolv® ODT, Pearlitol® Flash – Mannitol, Pearlitol® 200 SD – Mannitol. Данные композиции позволяют использовать минимальные количества вводимых дополнительно вспомогательных веществ или не использовать их. Разработанные составы представлены в таблице 1.

В состав 1 дополнительно не вводили скользящие вещества и разрыхлители, поскольку Prosolv® ODT является готовой смесью, состоящей из микрокристаллической целлюлозы, коллоидного диоксида кремния, маннитола, фруктозы, кросповидона в пропорции, являющейся собственной разработкой компании-производителя.

В состав 2 и 3 дополнительно вводили аэросил А-300 и магния стеарат Tablube® в количестве по 0,5%.

Составы были получены путем смешивания компонентов в лабораторном смесителе в течение 5 мин. Оценку качества полученных масс для таблетирования проводили по следующим показателям: сыпучесть, насыпная плотность и объемная масса, а также рассчитывали индексы Hausner и Carr's. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Высокое значение индекса Carr's указывает на хорошую способность порошка к сжатию, в то время как индекс Hausner определяет сыпучесть порошка. Значения индекса Carr's должны быть более 20%, а коэффициента Hasner – не более 1,26. Как видно из

полученных результатов, массы всех составов имеют удовлетворительные по значению технологические характеристики, позволяющие использовать метод прямого прессования.

Таблица 1.

Разработанные составы смесей для таблетирования

Вещество	Состав, количество, мг			Производитель
	№ 1	№ 2	№ 3	
Амлодипина никотинат	10,0	10,0	10,0	ООО «ПИК-Фарма ХИМ»
Prosolv® ODT	490,0	–	–	JRS Pharma
Pearlitol® Flash – Mannitol	–	485	–	Roquette
Pearlitol® 200 SD – Mannitol	–	–	485	Roquette
Аэросил А-300	–	2,5	2,5	Evonic Degussa
Магния стеарат Tablube®	–	2,5	2,5	Nitika
Общая масса, мг	500,0	500,0	500,0	

Таблица 2.

Основные технологические показатели полученных смесей для таблетирования

Показатель	Состав 1	Состав 2	Состав 3
Сыпучесть, г/с; диаметр отверстия воронки 10 мм	4,5±0,3	4,0±0,3	6,2±0,4
Насыпная плотность, г/мл	0,62±0,05	0,52±0,05	0,47±0,04
Объемная масса, г/мл	0,77±0,05	0,64±0,05	0,57±0,04
Индекс Hausner	1,25	1,23	1,21
Индекс Carr's, %	25	23	21

Оценку качества готовой лекарственной формы проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII (ОФС 1.4.1.0015.15 «Таблетки») и PhEur 8th Edition по следующим показателям: внешний вид, средняя масса таблетки, прочность на истирание и на раздавливание, распадаемость. Все таблетки с диаметром 13 мм были белого цвета с фаской и риской, без сколов и трещин. Полученные результаты испытаний приведены в таблице 3.

Как видно из таблицы, полученные таблетки соответствуют требованиям ГФ XIII к лекарственной форме. Несмотря на то, что показатель «Прочность на раздавливание» имеет результаты ниже рекомендуемых в ГФ XIII, соответствие по показателю «Прочность на истирание» подтверждает достаточную прочность полученных таблеток для всех составов [10].

Таблица 3.

Показатели качества полученных таблеток амлодипина никотината, диспергируемых в ротовой полости

Показатель	Норма	Состав 1	Состав 2	Состав 3
Средняя масса таблетки, мг	500±5%	501±0,5%	502±0,5%	499±0,4%
Прочность на истирание, %	Не менее 97%	99,8±0,1	98,9±0,5	99,2±0,3
Прочность на раздавливание, Н	Не менее 50	43±2	37±3	33±2
Распадаемость, с	Не более 180	33±3	23,5±1,5	16,5±1,5

Одним из наиболее важных показателей качества таблеток, диспергируемых в ротовой полости, является «Время распадаемости». В ГФ XIII не описаны требования к показателю для ородиспергируемых таблеток. Однако в соответствии с требованиями EPh 8th Edition время распадаемости для лекарственной формы не должно превышать 3 мин (180 с) [11]. Результаты исследования полученных таблеток представлены на рисунке 1.

Результаты исследования показывают, что все полученные таблетки соответствуют требованиям по данному показателю. Однако время распадаемости для состава 3 составляет 16 с, что значительно меньше, чем у составов 2 и 1.

Для таблеток, диспергируемых в ротовой полости, также важным показателем является вкус [12]. В изучаемые составы не вводили дополнительно корригенты вкуса, поскольку вспомогательные вещества, используемые при разработке составов (Prosolv® ODT, Pearlitol® Flash, Pearlitol® 200 SD) в количестве 97-98% от массы таблетки, обладают сладковатым вкусом и создают приятное скользящее ощущение при смачивании в ротовой полости.

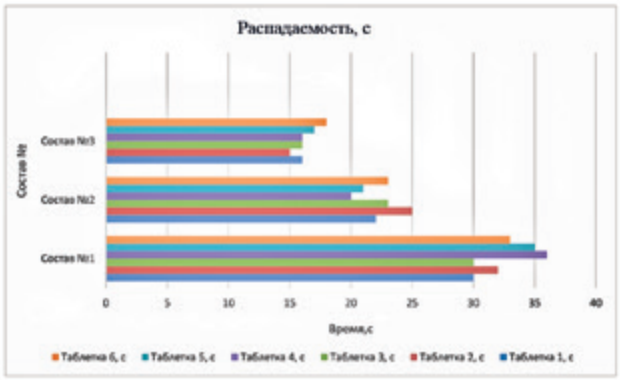


Рисунок 1. Время распадаемости полученных таблеток амлодипина никотината, диспергируемых в ротовой полости

Вкус таблеток оценивался органолептически.

В результате эксперимента установлено: наиболее сладким вкусом обладают таблетки состава 3 (вкус сладкий, с едва заметным горьковатым привкусом). В таблетках состава 1 и 2 горечь ощущалась в большей степени.

Таким образом, наиболее удобным для получения таблеток с технологической точки зрения является состав 1, поскольку не требует введения дополнительных вспомогательных веществ. Тем не менее при использовании Prosolv® ODT не достигаются необходимые органолептические свойства и готовые таблетки имеют выраженный горьковатый вкус, что требует введения в состав корригентов. Известно, что корригенты вкуса имеют ряд противопоказаний у некоторых групп пациентов. Отсюда следует, что введение корригентов не только увеличит количество технологических операций, но и ограничит возможность применения лекарственного средства для некоторых групп пациентов [1, 12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработаны составы для таблеток амлодипина никотината, диспергируемых в ротовой полости, с использованием современных комбинированных вспомогательных веществ; рассмотрено влияние вспомогательных веществ на технологические характеристики смеси для таблетирования; изучено влияние вспомогательных веществ на показатели качества готовой лекарственной формы.

Установлено, что все исследуемые вспомогательные вещества позволяют методом прямого прессования получить таблетки, которые соответствуют требованиям ГФ XIII издания и PhEur 8th Edition к данной лекарственной форме. Однако наиболее предпочтительным является состав 3, поскольку не требует доработки для коррекции вкуса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р.И. Мустафин, В.Р. Гарипова, Ф. Селмин, Ф. Цилузро. Диспергируемые в ротовой полости лекарственные формы (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 4(13). С. 34–38.
2. К.В. Алексеев, С.А. Кедик, Е.В. Блынская, В.К. Алексеев, Н.В. Масленникова. Фармацевтическая технология. Таблетки: учебное пособие / Под ред. С.А. Кедика. – М.: ИФТ, 2015. 672 с.
3. Ж.М. Козлова, П.Г. Заболотная, М.Н. Маслова. Быстродиспергируемые оральные системы доставки // Новая наука: от идеи к результату. Сборник статей Международной научно-практической конференции. 2015. С. 75–77.
4. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / Под ред. С.Н. Быковского, И.А. Василенко, Н.Б. Деминой, И.Е. Шохина, О.В. Новожилова, А.П. Мешковского, О.Р. Спицкого. – М.: Перо, 2015.
5. JRS PHARMA Website. URL: http://www.jrspharma.com/pharma_en/ (дата обращения 27.01.2016).
6. ROQUETTE CORPORATE Website. URL: http://www.roquette.com/ (дата обращения 27.01.2016).
7. EVONIK INDUSTRIES Website. URL: http://corporate.evonik.com/en/Pages/default.aspx (дата обращения 27.01.2016).
8. NITIKA Pharmaceutical Specialities Pvt. Ltd. Website. URL: http://www.nitikapharma.com/ (дата обращения 27.01.2016).
9. Т.С. Ганьшина, Г.А. Ким, А.В. Гнездилова, И.Н. Курдюмов, Р.С. Мирзоян. Влияние S-амлодипина никотината на мозговое кровообращение крыс в условиях ишемического и геморрагического поражений мозга // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. № 77(9). С. 3–7.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. II. – М.: ФЭМБ, 2015. 215 с.
11. European Pharmacopoeia. 8th ed. 2016 (8.8). С. 811.
12. Н.Б. Демина, М.Н. Анурова, Т. Асфура. Разработка рецептуры и технологии таблеток с экстрактом босвеллии // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 3(4). С. 12–20.

NATOLI

Ведущий мировой производитель пресс–инструмента теперь в России

Celebrating
40 YEARS
OF TABLETING EXCELLENCE IN...

ШИРОКИЙ АССОРТИМЕНТ ПРЕСС–ИНСТРУМЕНТА

стандартной формы, фигурный, многопозиционный, сборный со сменным штоком, для микротаблеток, в т.ч. для прессов IMA Comprima, Kilian, Fette, Korch, Bosch–Manesty, GEA и других

- Срок поставки по России от 6 недель
- Профессиональная консультация от ведущих специалистов
- Индивидуальный инжиниринг пресс–инструмента
- Точность изготовления и износостойкость
- Низкие эксплуатационные затраты
- Комплектующие и узлы для обслуживания инструмента

За дополнительной информацией обращайтесь к специалистам ГК «Фармконтракт»

+7 (495) 252–00–98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)

8 (800) 333–69–11
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК ПО РОССИИ 24 ЧАСА)

Pharmcontract® group of companies

www.phct–group.com **www.phct.ru**

Эксклюзивный представитель Natoli Engineering в России

УДК 615.012/014;
001.891.574;
615.451.13

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ РАСТВОРИМОСТИ ГИДРОФОБНЫХ И ТРУДНОРАСТВОРИМЫХ ВЕЩЕСТВ

И.Д. Гулякин[1]*, Л.Л. Николаева[1], Н.А. Оборотова[1,2], М.В. Дмитриева[1], А.В. Ланцова[1], Е.В. Санарова[1], О.Л. Орлова[1], А.П. Полозкова[1], Н.И. Лаврухин[1], Н.Д. Бунятян[2]

1 – ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Россия, г. Москва, Каширское ш., 24

2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

1 – Federal State Budgetary Scientific Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center», 24, Kashirskoye highway, Moscow, 115478, Russia

2 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: ilya.gulyakin@yandex.ru
Тел.: 8 (499) 324 14 54

Резюме. Существует несколько методов решения проблемы создания лекарственной формы (ЛФ) для труднорастворимых и гидрофобных фармацевтических субстанций, которые включают в себя модификацию структуры, получение твердых дисперсных систем (ТДС), изменение pH раствора субстанции, использование сорастворителей и солюбилизаторов, введение в рецептуру веществ липидной природы, комплексообразование и др. В настоящем обзоре особое внимание уделено вопросам получения наноструктурированных ЛФ для труднорастворимых лекарственных веществ. Приведены примеры препаратов, успешно используемых в клинической практике, при разработке которых применялись вышеперечисленные методы.

Ключевые слова: сорастворители, солюбилизаторы, твердые дисперсные системы, комплексообразование, наносистемы.

COMMON METHODS INCREASING THE SOLUBILITY OF POORLY SOLUBLE HYDROPHOBIC SUBSTANCES

I.D. Gulyakin[1]*, L.L. Nikolaeva[1], N.A. Oborotova[1,2], M.V. Dmitrieva[1], A.V. Lantsova[1], E.V. Sanarova[1], O.L. Orlova[1], A.P. Polozkova[1], H.I. Lavrukhin[1], N.D. Bunyatyan[2]

Abstract. There are several methods for solving the problem of an adequate dosage form for the hydrophobic and poorly soluble pharmaceutical substances which comprise a structure modification, preparation of solid dispersion systems, a change in pH, the use of cosolvents and solubilizers introduction of substances in the formulation of lipid nature and complexation. In this review, special attention is paid to the preparation of nanostructured dosage form for these classes of drugs. Are examples of drugs used successfully in clinical practice the development of which applied these methods.

Keywords: cosolvents, solubilizers, solid dispersions, complexation, nanosystems.

ВВЕДЕНИЕ

Растворимость играет существенную роль в действии лекарственных веществ (ЛВ), прежде всего предназначенных для перорального приема, так как пассивный транспорт растворившегося лекарственного вещества через биологические мембраны – это основной путь поступления ЛВ в организм.

К растворителям, используемым для фармацевтических целей, относят индивидуальные химические соединения или их смеси, способные растворять различные ЛВ, т.е. образовывать с ними однородные системы – растворы. Требования, которые предъявляют к фармацевтическим растворителям, включают высокую растворяющую способность, химическую индифферентность и биологическую безвредность, отсутствие неприятного вкуса и запаха, микробиологическую чистоту и доступность [1].

Вода представляет собой самый приемлемый растворитель с физиологической точки зрения, поскольку в количественном отношении является главной составной частью всех биологических жидкостей организма и одновременно с этим основным агентом, транспортирующим питательные вещества и продукты обмена веществ в организме.

Ряд препаратов из-за плохой растворимости в воде обладает низкой биодоступностью. К ним можно отнести стероидные соединения, антисептики, фуранохромоны, алкалоиды, гликозиды, ряд активных противоопухолевых субстанций – производных индолокарбазолов. При разработке ЛФ для данных препаратов применяют неводные растворители (спирты, эфиры, масла и др.), которые наряду с другими требованиями должны быть малотоксичными, прозрачными, иметь небольшую вязкость [2].

Для улучшения биодоступности плохо растворимых соединений используют различные методы и подходы, среди которых выделяют: физические, химические и физико-химические методы, а также некоторые технологические приемы (рисунок 1).

Рисунок 1. Основные методы повышения растворимости труднорастворимых фармацевтических субстанций

СОРАСТВОРИТЕЛИ

Сорастворители – это соединения, способствующие повышению растворимости ЛВ и совместимые с тканями и физиологическими жидкостями организма. Наиболее широко применяемыми сорастворителями являются высокомолекулярные соединения (ВМС), среди которых декстран (полиглюкин), поливинилпирролидон, полиэтиленгликоли, полиэтоксилированное касторовое масло, ряд других растворителей [3].

Поливинилпирролидон (Kollidon, повидон) – полимер N-винилпирролидона, представитель класса высокомолекулярных линейных полимеров с молекулами линейной структуры длиной порядка 100 мкм. Способность повидонов образовывать комплексы с активными веществами позволяет им быть эффективным инструментом улучшения растворения многих ЛВ.

В зависимости от способа введения ЛВ при создании ЛФ используют различные марки ПВП. Например, при создании инъекционных ЛФ используют низкомолекулярные марки ПВП – Kollidon® 12 PF и Kollidon® 17 PF, которые применяются как солюбилизаторы, диспергаторы и ингибиторы кристаллизации, а также стабилизаторы парентеральных суспензий. Данные сорастворители повышают растворимость гидрофобных веществ за счет формирования комплексов, устойчивых в кислой среде. Они наиболее часто применяются для получения водных растворов, суспензий или лиофилизатов плохо растворимых антибиотиков для внутривенного введения, но могут быть включены и в состав растворов для перорального применения.

В онкологической практике Kollidon применяется в качестве солюбилизирующего, формообразующего и стабилизирующего компонента для лиофилизированных ЛФ таких препаратов, как «Араноза», лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, 0,5 г, производства ООО «Компания «ДЕКО», Россия; «BiCNU», лиофилизированный порошок для приготовления инфузионного раствора, содержит кармустина 100 мг, производства Bristol-Myers Squibb, США; «Митоксантрон», концентрат для приготовления раствора для внутривенного и внутриплеврального введения, 2 мг/мл, производства ОАО «Фармстандарт», Россия; препарат для фотодинамической терапии опухолей «Фотолон», лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, 100 мг, производства РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь. Растворимые марки ПВП также применяются в ряде офтальмологических препаратов: в состав глазных капель входят Kollidon® 17 PF, Kollidon® 25 и Kollidon® 30, в растворах для контактных линз присутствует Kollidon® 90 F (Kollidon® 25, например, входит в состав 3% офтальмологического раствора хлорамфеникола [4]).

Полиэтиленгликоль (ПЭГ, макрогол, полиэтиленоксид) – солюбилизатор, широко используемый в качестве важной составной части большого количества ЛВ, что обусловлено рядом таких ценных свойств этого полимера, как высокая растворимость в воде, низкая токсичность, хорошая переносимость [5]. Lutrol® E входит в состав «Декспантенола» (мазь для наружного применения 5% производства ЗАО «ВЕРТЕКС», Россия).

Soluplus® (сополимер капролактама, поливинил ацетата и ПЭГ-6000 в соотношении 57%, 30% и 13% соответственно) – это полимерный солюбилизатор амфифильной химической природы, является матричным полимером и рекомендуется для применения в составе растворов и в качестве солюбилизатора для плохо растворимых в воде веществ. Благодаря амфифильной структуре Soluplus® имеет более низкую критическую концентрацию мицеллобразования (ККМ=7,6 мг/л) по сравнению с классическими низкомолекулярными ПАВ [6].

Cremophor® EL (макрогола глицерилрицинолеат, ПЭГ-35, касторовое масло, Kolliphor® EL) – это неионогенный солюбилизатор и эмульгатор, получаемый путем реакции касторового масла с окисью этилена в мольном соотношении 1:35. Cremophor® EL солюбилизирует или эмульгирует растворимые в жирах витамины A, D, E и K для перорального и наружного применения, в водно-спиртовых растворах очень легко переводит в растворимую форму эфирные масла [7]. Он применялся при создании мицеллярной формы β,β,β′,β′-тетраметилтрибензотетрааз охлорина (субстанция производства ГНЦ «НИОПИК»,

Россия) – нового фотосенсибилизатора из группы порфиринов [8].

При создании парентеральных ЛФ нерастворимых в воде соединений применяют Cremophor® ELP, получаемый путем очистки Cremophor® EL. Cremophor ELP (Kolliphor® ELP, polyoxyl-35-castor oil) относится к классу неионногенных солюбилизаторов и эмульгаторов, он образуется смешением касторового масла с окисью этилена [9]. Принцип его солюбилизирующего действия заключается в формировании мицелл вокруг частиц гидрофобного вещества [10]. Примером ЛФ с Cremophor® ELP служит широко применяемый в клинической практике противоопухолевый препарат Таксол®. Этот солюбилизатор часто используют при создании моделей ЛФ нерастворимых в воде соединений. Так, в экспериментальных исследованиях *in vivo* на мышах с солидной опухолью Эрлиха установлена выраженная фотодинамическая активность нового гидрофобного фотосенсибилизатора N-метилпирролидино[3,4-b] тетрафенилтетраазахлорина в водном растворе 4% Cremophor® EL [11].

Cremophor® A (макрогола цитостеарил) – неионогенный эмульгатор, получаемый путем реакции высших насыщенных жирных спиртов с окисью этилена. Различные марки Cremophor® A применяют при получении коллоидных или истинных растворов в воде или спирте [12].

Kolliphor® HS 15 – неионный солюбилизатор и эмульгатор, получаемый путем реакции 12-гидроксистеариновой кислоты с окисью этилена в мольном соотношении 1:15. С его помощью солюбилизируют около 15 водных растворов для парентерального применения, среди них витамины A, D, E, K и некоторые другие активные фармацевтические субстанции [13].

Диметилсульфоксид (димексид, ДМСО) – известный биполярный апротонный растворитель, часто используется в химических реакциях благодаря своей высокой растворяющей способности. ДМСО обладает высокой проницаемостью через кожный барьер и другие биологические мембраны, не повреждая их, что связывают с его влиянием на липидный обмен мембран, в частности, происходит изменение конфигурации олеиновой и линолевой кислот [4].

На фармацевтическом рынке присутствуют препараты, в которых ДМСО выступает в качестве действующего или вспомогательного вещества (Dolicur, раствор для внутрипузырного введения производства Schering AG, Германия; Viadur®, раствор для подкожного введения производства Bayer Healthcare Pharmaceuticals AG, Германия; «Силокаст», раствор для наружного применения производства ОАО «ЗАВОД ХИМРЕАКТИВКОМПЛЕКТ», Россия).

В хирургической практике используется комплексная эмболическая система Onyx®, представляющая собой сополимер этилена винилового спирта (ethylene vinyl-alcohol copolymer, EVON) и применяемая для эмболизации артериовенозных мальформаций головного мозга (arteriovenous malformations, AVMs) в комбинации с радиохирургическим лечением. В этой системе ДМСО принимает участие в растворении эмболического агента EVON с последующей доставкой в AVMs [14].

В зарубежной литературе, посвященной клиническим исследованиям, описано применение ДМСО в качестве растворителя в иммунотерапевтических вакцинах для трансдермального [15] и подкожного введения в концентрациях 5%, 10% и 20% [16–18].

Также ДМСО используется в производстве таблеток с пленочным покрытием. Примером может служить «Траметиниб»/«Мекинист» (производство GlaxoSmithKline PLC, Великобритания) – новейший препарат, разработанный для лечения поздних стадий меланомы. Каждая таблетка содержит 2 мг траметиниба, в таблетках с пленочной оболочкой содержание ДМСО составляет 9–11% [19, 20].

В лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России разработана лиофилизированная ЛФ производного индолокарбазола ЛХС-1208, в состав которой вошли ДМСО и Kollidon® 17 PF в качестве растворителя и структурообразующего компонента соответственно [21].

Следует признать, что вышеуказанные ВМС показали свою эффективность в качестве солюбилизаторов, используемых в разработке инъекционных форм гидрофобных противоопухолевых препаратов.

ТВЕРДЫЕ ДИСПЕРСНЫЕ СИСТЕМЫ

Твердые дисперсные системы (ТДС) – это би- или многокомпонентные системы, состоящие из ЛВ и носителя, представляющие собой высокодиспергированную твердую фазу ЛВ или молекулярно-дисперсные твердые растворы с частичным образованием комплексов переменного состава с материалом-носителем. Высвобождение в раствор фармакологически активного вещества из твердых ЛФ (порошков, таблеток и т.д.) во многом определяется скоростью растворения его кристаллической фазы. Однако многие вещества крайне медленно растворяются в воде, во многом за счет плохой смачиваемости и «прочности» кристаллической решетки. Очевидно, что

получение твердых растворов таких веществ (молекулярных дисперсий) в хорошо растворимом наполнителе либо разупорядочение их кристаллических фаз будет способствовать ускорению процесса растворения. В качестве носителя используют как олигомеры – циклодекстрины (ЦД), так и полимеры – производные метилцеллюлозы, ПЭГ и др. Выделяют несколько методов получения твердых дисперсий: выпаривание растворителя, совместное диспергирование, совместное плавление [22].

В процессе производства твердых дисперсий методом выпаривания растворителя ЛС и носитель растворяют в обычном растворителе, а потом, используя распылительную сушку, растворитель выпаривают при повышенных температурах или пониженном давлении. В качестве растворителей применяют хлороформ, дихлорметан, метанол, этанол, ацетон и метиленхлорид. Можно использовать смеси растворителей, в том числе с добавлением воды для растворения полимеров. Поскольку растворители проявляют токсическое действие и являются взрывоопасными соединениями, то после образования твердой дисперсии их полностью удаляют.

Диспергирование ЛВ с носителем проводят на мельницах в среде жидкого азота, под действием которого полимеры приобретают хрупкость и способность к истиранию.

Совместное плавление проводят в экструдерах различного типа. Метод основан на нагревании смеси ЛС с носителем выше температуры плавления с последующим отвердеванием при быстром охлаждении. Перемешивание с образованием однородного раствора имеет решающее значение для физической стабильности твердых дисперсий, так как неоднородность способствует уменьшению скорости растворения. Кроме того, большое значение имеет скорость охлаждения: если она превышает скорость кристаллизации, то это облегчает выделение ЛС в растворимой аморфной форме [23].

Характер взаимодействия ЛВ и носителя в ТДС, полученных методом совместного плавления, можно разделить на три типа: системы с высокодисперсной кристаллической фазой ЛВ в матрице носителя; твердые растворы; системы, в которых в результате взаимодействия систем «ЛВ – носитель» образуются связанные или комплексные молекулярные растворы [24].

Среди препаратов, применяемых в виде ТДС, широкое распространение получили 2 большие фармакотерапевтические группы: антибиотики и нестероидные противовоспалительные средства (НПВС).

СОЕДИНЕНИЯ-ВКЛЮЧЕНИЯ В ЦД (КОМПЛЕКСООБОРАЗОВАНИЕ)

ЦД за счёт внутренней полости обладают способностью образовывать многочисленные соединения включения с разнообразными гидрофобными веществами. Особый интерес ЦД представляют для «инкапсулирования» различных ЛВ в биохимических и биофармацевтических исследованиях. Этот процесс возможен за счет особенностей строения молекулы ЦД, форма которой в грубом приближении представляет собой полый усечённый конус. Данная форма стабилизирована водородными связями между ОН-группами, а также α-D-1,4-гликозидными связями. Все ОН-группы находятся на внешней поверхности молекулы. Поэтому внутренняя полость ЦД является гидрофобной и способна образовывать в водных растворах комплексы включения с другими молекулами органической и неорганической природы [25]. Кроме повышения растворимости гидрофобных ЛВ, процесс образования комплексов несет за собой множество других преимуществ [26]. Так, структура комплекса защищает субстанцию от разложения и способствует её направленной доставке, а также в ряде случаев возможно пролонгирование терапевтического эффекта. Несмотря на то, что эффективность применения ЦД для повышения растворимости была не раз доказана, для принятия решения о необходимости их введении в состав ЛФ необходимо сначала установить, как влияет микронизация субстанции на растворимость, а затем попытаться их использовать [28].

ЦД нашли применение при разработке препаратов Вифенд®, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, 200 мг, производства Pfizer PGM, Франция; Вазапростан®, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, 20 мкг, производства UCB Pharma GmbH, Германия.

ИЗМЕНЕНИЕ pH

Многие малорастворимые ЛВ, обладая кислотными или основными свойствами, способны к ионизации в водных растворах и образованию соответствующих солей. Как правило, ионизированная форма является более гидрофильной и имеет более высокую водорастворимость. Многие ЛВ с целью повышения их растворимости выпускаются в виде солей. Так, ЛВ, имеющие основной характер, производят в виде гидрохлоридов, а органические кислоты – в виде солей металлов или органических оснований. Данный метод применялся при разработке ЛФ для такого препарата, как флударабина фосфат, концентрат для приготовления раствора для внутривенного введе-

ния, 1 мл, производства Teva Pharmaceutical Industries Ltd., Израиль.

Соли получают реакцией жидкофазной нейтрализации с последующим выделением (сушкой), при этом требуются большие объемы растворителей, громоздкое оборудование, значительные производственные площади. Кроме того, в процессе сушки возможно разложение целевого продукта. Хотя этот подход применим только к ионизируемым соединениям, приблизительно 2/3 среди всех существующих препаратов являются либо слабой кислотой, либо слабым основанием, поэтому применение данной стратегии является актуальным [29].

Так, новый противоопухолевый препарат из класса нитрозомочевин «Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 125 мг» (разработан в ФГБУ «РОНЦ им Н.Н. Блохина» Минздрава России) получали путем растворения активной субстанции в 0,1 М хлористоводородной кислоте с образованием гидрохлорида и дальнейшей лиофилизации полученного раствора [29]. Данный препарат обладает высокой противоопухолевой активностью.

ПОВЫШЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ ЗА СЧЕТ СОЗДАНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ЛФ

К методам улучшения растворимости относят применение наноструктурированных систем доставки ЛВ к опухолям и органам-мишеням. Список структур нанометрового диапазона или наночастиц, которые уже применяются или будут применяться в ближайшее время для системного транспорта ЛВ, достаточно велик. К ним относятся: липосомы, мицеллы, фуллерены, дендримеры, липочастицы, наночастицы золота, серебра, квантовые точки, магнитные наночастицы, нанопарамагнетики, нанопорошки и нанокристаллы, наночастицы на основе кремния и т.д. [30–32].

В последние годы особое внимание уделяется таким наночастицам, как липосомы и мицеллы [33]. Поверхность данных наночастиц в сравнении с другими частицами легко модифицируется для обеспечения направленности доставки. С их помощью можно транспортировать очень широкий спектр биологически активных веществ – от лекарственных субстанций до генных конструкций [34].

Мицелла – это сферическая частица высокодисперсной коллоидной системы с жидкой дисперсионной средой, состоящая из ядра и поверхностной стабилизирующей оболочки. Средний размер мицелл составляет от 5 до 100 нм. Они имеют супрамолекулярную конструкцию, которая образуется в водных средах из биосовместимых амфифильных блок-сополимеров. В воде гидрофобная часть блок-сополимера самоассоциируется в ядро с гидрофильным сегментом сополимера, образующего внешний слой (рисунок 2).

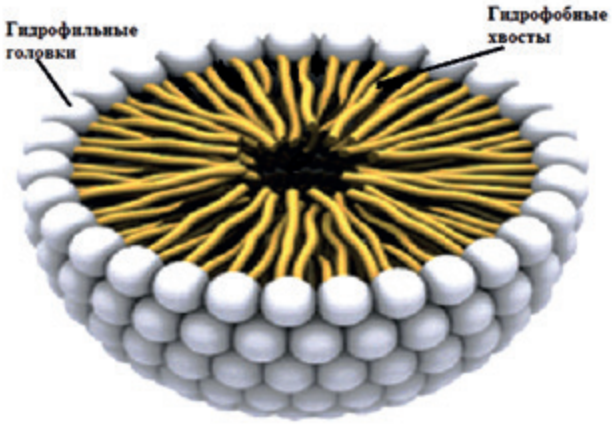


Рисунок 2. Структура мицелл

Именно благодаря наличию гидрофобного ядра мицеллы могут солюбилизировать и служить резервуаром для ЛВ, нерастворимых в воде, обеспечивая им стабильность и предотвращая их ферментативную деградацию и инактивацию, в то время как внешний гидрофильный сегмент защищает мицеллу от быстрого клиренса, предотвращая опсонизацию. Кроме того, ЛВ может ковалентно связываться с поверхностью мицеллы.

Наиболее важным критерием для использования полимера в качестве структурного компонента мицелл является его биосовместимость и/или биодеградируемость. Выбор полимера для мицелл основан на характеристиках как гидрофильного, так и гидрофобного блок-сополимера. В настоящее время для образования внешнего гидрофильного сегмента мицеллы используют в основном ПЭГ с молекулярным весом от 2 до 15 кД. Для образования гидрофобного ядра применяются полиэфиры и полиаминокислоты, такие как полипропиленоксид, поли-D,L-молочная кислота, поли-ε-капролактон и поли-L-аспарагиновая кислота [35–38].

На сегодняшний день на различных стадиях клинических испытаний находятся препараты полимерных мицелл, содержащие такие противоопухолевые ЛВ, как доксорубицин (DOX-OXD, NK911), паклитаксел (Xyotax, Genexol-PM), цисплатин (Nanoplatin), Tookad, а также другие активные терапевтические агенты [30–32].

Липосомы представляют собой небольшие самообразующиеся фосфолипидные везикулы сферичес-

кой формы, размером от 50 до 1000 нм (рисунок 3). Их внутреннее гидрофильное ядро подходит для инкапсулирования водорастворимых агентов, в то время как гидрофобные, жирорастворимые и амфифильные ЛВ могут быть включены в липидный бислой [39].

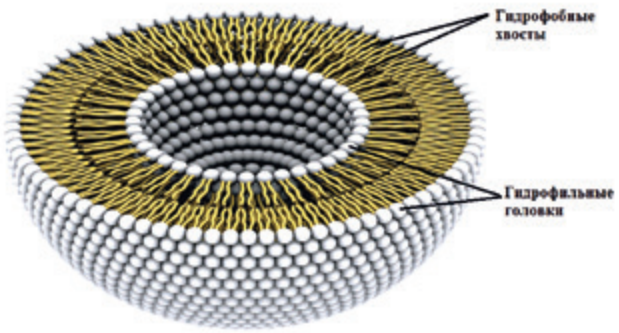


Рисунок 3. Структура липосом

Использование положительно или отрицательно заряженных липидов при получении липосом обеспечивает им соответствующий поверхностный заряд. Благодаря включению в заряженные липосомы ЛВ приобретают новые фармакокинетические свойства по сравнению со свободными препаратами. В случае инкапсулирования в катионные липосомы таких препаратов, как Этопозид® (субстанция-порошок производства Jiangsu Hengrui Medicine Co., Китай) и Фотосенс® (субстанция производства ГНЦ «НИОПИК», Россия), значительно увеличивалась их противоопухолевая активность и снижалась общая токсичность [2].

В настоящее время разработан целый ряд противоопухолевых липосомальных препаратов, которые уже одобрены для применения в онкологической практике либо находятся на различных фазах клинических исследований. Например, антибиотик доксорубицин (Келикс®, концентрат для приготовления раствора для внутривенного введения, 2 мг/мл, производства Ben Venue Laboratories Inc., США) и алкалоид винкристин (Margibo, производство Hospira Australia Pty Ltd., Австралия) [30–32].

На стадии доклинических исследований в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России находятся липосомальные препараты для фотодинамической терапии: тиосенс (субстанция производства ГНЦ «НИОПИК», Россия) [40], фотодитазин (субстанция производства ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия) [41, 42], борхлорин (субстанция производства ФГБУН ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН, Россия) [43], а также цитостатики лизомустин (ФГБУН ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН) [44], араноза (субстанция производства ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Россия) [45, 46].

Липосомальная ЛФ тиосенса – отечественного инфракрасного фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии опухолей – прошла расширенное доклиническое изучение. На данном этапе исследований показано, что липосомальный тиосенс обладает достаточно высокой селективностью накопления в опухоли по отношению к нормальной ткани (индекс селективности достигает значений 3 в интервале 1–3 суток после введения), а проведение фотодинамической терапии с его использованием вызывает значительное торможение роста опухолей на следующих линиях: опухоль Эрлиха, лимфолейкоз Р-388 и саркома – 37–76%, 76% и 94% соответственно. В последнем случае высокий противоопухолевый эффект сочетается с излечением 33,3% животных [40].

Фотодитазин в лиофилизированной липосомальной ЛФ обладает повышенной фармакологической активностью и селективностью накопления в опухоли, что в целом увеличивает эффективность фотодинамической терапии. Введение липосомального фотодитазина повышает селективность накопления в опухоли ЛВ на 15–20% по сравнению с нормальной тканью в отличие от водного раствора [41, 42].

Лизомустин в традиционной ЛФ проявлял максимальную противоопухолевую активность в узком диапазоне терапевтических доз и достаточно быстро выводился из кровотока. Разработанная липосомальная ЛФ лизомустина позволила увеличить избирательность его противоопухолевого действия и снизить характерные для препарата токсические эффекты, это, в свою очередь, дало возможность расширить диапазон терапевтических доз для его применения [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важным вопросом фармацевтической технологии является повышение растворимости гидрофобных и трудно растворимых в воде и органических растворителях ЛВ, поскольку их биодоступность и эффективность в значительной степени зависит от этой характеристики. Для решения данной задачи применяются химические, физические и физико-химические методы, а также различные технологические приемы. Применение данных методик позволяет получить препарат, легко растворимый в воде или соответствующем растворителе, у которого практически полностью сохранены все характеристики исходного вещества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. II – М.: ФЭМБ, 2015.
2. Н.А. Оборотова, Е.В. Санарова. Роль новых фармацевтических технологий в повышении избирательности действия противоопухолевых препаратов // Российский химический журнал. 2012. № 3–4. С. 33–40.
3. K. Kawakami, N. Oda, K. Miyoshi et al. Solubilization behavior of a poorly soluble drug under combined use of surfactants and cosolvents // European journal of pharmaceutical sciences. 2006. № 28. P. 7–14.
4. И.Д. Гулякин, Н.А. Оборотова, В.М. Печенников. Солюбилизация гидрофобных противоопухолевых препаратов // Химико-фармацевтический журнал. 2014. № 3. С. 43–48.
5. Г.А. Чернышева, В.И. Смольякова, М.Б. Плотников и др. Фармакокинетика высокомолекулярного полиэтиленоксида // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40. № 9. С. 7–8.
6. J. Vancoillie. Continuous melt granulation: Effect of different binders upon granule and tablet properties // Faculty Of Pharmaceutical Sciences – Ghent University. 2014. 56 p.
7. S. Talegaonkar, A. Azeem, F.J. Ahmad et al. Microemulsions: a novel approach to enhanced drug delivery // Recent Patents on Drug Delivery & Formulation. 2008. Т. 2. № 3. С. 238–257.
8. А.П. Ластовой, А.А. Игнатова, А.В. Феофанов и др. Исследование свойств нового фотосенсибилизатора β,β,β′,β′-тетраметилтрибензотетраазохлорина // Химико-фармацевтический журнал. 2014. № 2. С. 7–12.
9. European Pharmacopoeia. 7rd ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2010. 3310 p.
10. G. Morral-Ruíz, P. Melgar-Lesmes, M.L. García et al. Polyurethane and polyurea nanoparticles based on polyoxyethylene castor oil derivative surfactant suitable for endovascular applications // International journal of pharmaceutics. 2014. V. 461(1). P. 1–13.
11. В.И. Иванова-Радкевич, Л.В. Умнова, С.В. Барканова и др. Фотодинамическая активность производного тетраазахлорина // Российский биотерапевтический журнал. 2008. Т. 7. № 3. С. 39–41.
12. Патент US 9302003 B2. Compositions comprising a radiosensitizer and an anti-cancer agent and methods of uses thereof / L. Sanche, G. Charest; № 13/259,213; заявл. 26.04.10; опубл. 5.04.16.
13. P. Benito-Gallo, P. Gershkovich, M. Marlow et al. Smart Lipid-Based Drug Delivery Systems // Smart Pharmaceutical Nanocarriers. 2016. P. 309–371.
14. Е.В. Санарова, А.В. Ланцова, Н.А. Оборотова. Применение диметилсульфоксида в фармации и медицине (обзор) // Биофармацевтический журнал. 2015. № 3. С. 3–9.
15. Vaccine Therapy With or Without Imiquimod in Treating Patients Who Have Undergone Surgery for Stage II, Stage III, or Stage IV Melanoma. URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00118313?term=DMSO&rank=15 (дата обращения 25.10.13).
16. Chemo-immunotherapy (Gemcitabine, Interferon-alpha 2b and p53 SLP) in Patients With Platinum-resistant Ovarian Cancer (CHIP). URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01639885?term=DMSO&rank=25 (дата обращения 25.10.13).
17. Safety and Effectiveness of a Vaccine for Prostate Cancer That Uses Each Patients' Own Immune Cells. URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00289341?term=DMSO&rank=27 (дата обращения 25.10.13).
18. Safety of Active Immunotherapy in Subjects With Ovarian Cancer. URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01456065?term=DMSO&rank=21 (дата обращения 25.10.13).
19. A Study of the BRAF Inhibitor Dabrafenib in Combination With the MEK Inhibitor Trametinib in the Adjuvant Treatment of High-risk BRAF V600 Mutation-positive Melanoma After Surgical Resection. (COMBI-AD). URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01682083?term=DMSO&rank=26 (дата обращения 25.10.13).
20. A Study to Determine the Relative Bioavailability of the MEK Inhibitor, Trametinib, in Subjects With Solid Tumor Malignancies. URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01725100?term=DMSO&rank=5 (дата обращения 25.10.13).
21. А.В. Ланцова, Е.В. Санарова, Н.А. Оборотова и др. Разработка технологии получения инъекционной лекарственной формы на основе отечественной субстанции производной индолокарбазола ЛХС-1208 // Российский биотерапевтический журнал. 2014. № 3. С. 25–32.
22. И.И. Краснюк (мл.), Л.В. Овсянникова, О.И. Никулина и др. Изучение растворимости кислотной формы диклофенака из твердых дисперсий // Химико-фармацевтический журнал. 2014. № 11. С. 23–27.
23. И.И. Краснюк (мл.), О.И. Степанова, А.В. Беляцкая, И.И. Краснюк. Перспективы получения лекарст-

венных форм на основе твёрдых дисперсий фурацилина // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 2(11). С. 72–78.

24. А.А. Теслев. К вопросу применения твердых дисперсных систем для улучшения биофармацевтических характеристик лекарственных средств // Фармацевтические технологии и упаковка. 2014. № 2. С. 18–21.
25. M.E. Brewster. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers // Advanced Drug Delivery Reviews. 2007. V. 59. P. 645–666.
26. Wen Chen, Li-Juan Yang, Shui-Xian Ma et al. Crassicauline α/β-cyclodextrin host-guest system: Preparation, characterization, inclusion mode, solubilization and stability // Carbohydrate Polymers. 2011. V. 84. P. 1321–1328.
27. A. Vyas, S. Saraf, S. Saraf. Cyclodextrin based novel drug delivery systems // J Incl Phenom Macrocycl Chem. 2008. V. 62. P. 23–42.
28. J. Alsenz, M. Kansy. High throughput solubility measurement in drug discovery and development // Advanced Drug Delivery Reviews. 2007. V. 59. P. 546–567.
29. Л.Л. Николаева, А.В. Ланцова, Е.В. Санарова и др. Парентеральная лекарственная форма нового соединения из класса алкилнитрозомочевины // Российский биотерапевтический журнал. 2015. № 1. С. 113.
30. М.В. Дмитриева, Н.А. Оборотова, Е.В. Санарова и др. Наноструктурированные системы доставки противоопухолевых препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2012. № 4. С. 21–27.
31. Н.Б. Демина, С.А. Скатков, А.И. Тенцова. Нанотехнологические аспекты современной лекарственной формы // Фармация. 2012. № 4. С. 37–41.
32. Н.Б. Демина, С.А. Скатков, А.И. Тенцова. Перспективные стратегии развития технологии наноносителей // Фармация. 2012. № 7. С. 53–55.
33. A.D. Carvalho Junior, F.P. Vieira, V.J. De Melo et al. Preparation and cytotoxicity of cisplatin-containing liposomes // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2007. V. 40. P. 1149–1157.
34. J. Huober, W. Fett, A. Nusch et al. A multicentric observational trial of pegylated liposomal doxorubicin for metastatic breast cancer // BMC Cancer. 2010. V. 7(10). C. 2.
35. E. Blanco, C.W. Kessinger, B.D. Sumer, J. Gao. Multifunctional micellar nanomedicine for cancer therapy // Experimental Biology and Medicine (Maywood). 2009. V. 234(2). P. 123–131.
36. Kang Moo Huh, Hyun Su Min, Sang Cheon Lee et al. A new hydrotropic block copolymer micelle system for aqueous solubilization of paclitaxel // Journal of Controlled Release. 2008. V. 126. P. 122–129.
37. Ling Bing Li, Guangxi Zhai, Yan Gao. Preparation and characterization of Pluronic/TPGS mixed micelles for solubilization of camptothecin // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2008. V. 64. P. 194–199.
38. L. Ostacolo, M. Marra, F. Ungaro et al. In vitro anticancer activity of docetaxel-loaded micelles based on poly(ethylene oxide)-poly(epsilon-caprolactone) block copolymers: Do nanocarrier properties have a role? // Journal of Controlled Release. 2010. V. 148. P. 255–263.
39. D.J. Bharali, M. Khalil, M. Gurbuz et al. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers // International Journal of Nanomedicine. 2009. V. 4. P. 1–7.
40. Е.В. Санарова, З.С. Смирнова, А.П. Полозкова и др. Биофармацевтические исследования новой липосомальной лекарственной формы тиосенса // Биофармацевтический журнал. 2011. № 6. С. 33–36.
41. T.T.H. Yen, I.G. Meerovich, G.A. Meerovich et al. Comparative studies in vivo of free and liposomal forms of photosensitizer on a base of hydrophilic derivative of chlorine e_6 // Journal Drug Del. Sci. Tech. 2012. V. 4. P. 291–294.
42. О.Ю. Аршинова, А.П. Полозкова, О.Л. Орлова и др. Получение и биофармацевтическое исследование лиофилизированной лекарственной формы Фотодитазина // Биофармацевтический журнал. 2013. № 1. С. 27–29.
43. М.В. Дмитриева, Н.А. Оборотова, О.Л. Орлова и др. Липосомальная лекарственная форма борхлорина // Российский биотерапевтический журнал. 2014. № 1. С. 31–36.
44. A. Lantsova, E. Kotova, K. Sanarova et al. Biopharmaceutical study of nanostructured formulation of the anticancer drug derivative of nitrosoalkylurea lysomustine // Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2012. V. 6. P. 469–472.
45. Н.В. Грищенко, М.А. Барышникова, А.П. Полозкова и др. Липосомальные противоопухолевые препараты не используют СБ95-зависимый сигнальный путь апоптоза // Российский биотерапевтический журнал. 2014. № 1. С. 37–41.
46. С.Г. Козеев, М.А. Барышникова, Д.А. Афанасьева и др. Сравнение цитотоксического действия двух лекарственных форм аранозы // Российский биотерапевтический журнал. 2012. № 2. С. 24.

УДК 615.014.2

1 – ГБОУ ВПО
Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова
Минздрава России, 119991,
Россия, г. Москва,
ул. Трубецкая, 8

1 – I.M. Sechenov
First Moskow State Medical
University, 8,
Trubetskaya str., Moskow,
119991, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: diomina.nb@gmail.com

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ СУППОЗИТОРИИ

Н.Б. Демина[1]*

Резюме. В статье приведен обзор современных аспектов производства лекарственной формы суппозитории. Представлены номенклатура и краткая характеристика вспомогательных веществ, используемых в составе суппозиториев в настоящее время. Рассмотрено типичное оборудование для производства лекарственной формы, фармакопейные принципы регламентации качества и аппаратура для оценки показателей качества.

Ключевые слова: суппозитории, суппозиторные основы, вспомогательные вещества, производство суппозиториев, показатели качества суппозиториев, оборудование для производства и оценки качества суппозиториев.

MODERN ASPECTS OF SUPPOSITORIES MANUFACTURING

N.B. Diomina[1]*

Abstract. The article gives an overview of the modern aspects in the production of suppositories. The nomenclature and brief description of excipients that used in the composition of suppositories were described. There were also reviewed the typical equipment for production of mentioned dosage form (DF), pharmacopoeial principles for regulation of quality and various instruments for its evaluation.

Keywords: suppositories, suppository bases, excipients, suppository manufacturing, quality indicators of suppositories, equipment for suppositories production and quality evaluation.

ВВЕДЕНИЕ

Суппозитории (Suppositoria) известны человечеству более 4500 лет, позднее они описаны и в сочинениях Гиппократа (около 400 г. до н.э.). Термин происходит от латинского *suppositus*, что означает «подставлять, подкладывать» [1]. В XXI веке суппозитории остаются востребованной лекарственной формой (ЛФ), несмотря на не совсем популярный способ введения. Суппозитории применяют с целью лечения аноректальных заболеваний, обеспечения системного действия лекарственного вещества (ЛВ), для облегчения дефекации. После введения в естественную полость тела суппозитории плавятся, размягчаются или растворяются в ректальной жидкости и оказывают локализованные или системные эффекты.

Результаты активного развития индустрии вспомогательных веществ и динамики рынка фармацевтических ингредиентов, успехи фармацевтической технологии, новые принципы регламентации качества диктуют необходимость анализа и обобщения современных тенденций производства лекарственной формы.

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Основной группой вспомогательных веществ (ВВ) суппозиториев являются основы. Если в недавнем прошлом главной функцией основ было создание стабильной ЛФ, твердой при комнатной температуре и жидкой при температуре тела, и они, по сути, служили носителями фармацевтических субстанций (ФС), то в настоящее время подходы к функциональному назначению основ расширяются. Так, второй и очень важной задачей основ на сегодня является контроль процесса высвобождения, поскольку накоплено достаточно знаний для того, чтобы понять их важную роль в обеспечении эффективности ЛФ.

Анализ современных научных публикаций и сопоставление их данных с анализом рынка ВВ свидетельствуют о динамике ассортимента суппозиторных основ; в таблице 1 в соответствии с принятыми классификациями представлен краткий обзор основной номенклатуры и характеристики этого класса ВВ, используемых в настоящее время фармацевтическими предприятиями.

Таблица 1.

Классификация, номенклатура и краткая характеристика суппозиторных основ [2–11]

Название основы/производитель*	Состав, температура плавления
ГИДРОФИЛЬНЫЕ	
Желатин-глицериновая *(Massa gelatinosa);* Россия, страны Европы, США	Желатина 1 часть Воды 2 части Глицерина 5 частей
Мыльно-глицериновая (*Massa sapo-glycerinata);* Россия, страны Европы, США	Натрия карбоната кристаллического 0,13 г Глицерина 3 части, кислоты стеариновой 0,25 г
Полиэтиленгликоли (ПЭГ) различных молекулярных масс; Россия, страны Европы, США	Продукты полимеризации окиси этилена с этиленгликолем. В зависимости от молекулярной массы – вязкие жидкости, гелеобразные или парафинообразные массы. Температура кристаллизации возрастает с повышением молекулярной массы. Для ПЭГ-600 она составляет 15-25 °С, ПЭГ-1000 – 35-40 °С, ПЭГ-4000 – 53-58 °С
ЛИПОФИЛЬНЫЕ	
Триглицериды высших жирных кислот природного происхождения	
Масло какао (*Oleum Cacao / Butyrum Cacao)*	Триглицериды высших жирных кислот: пальмитиновой, олеиновой, стеариновой, лауриновой, арахиновой; температура плавления 32–34 °С
Смеси липофильных компонентов	
Жировая основа; *ОАО «Нижфарм»*	30% масла какао, 49–60% гидрированного подсолнечного масла (жир «фритюрный») и 10–21% парафина; температура плавления 36–39 °С
Модифицированные жиры (полусинтетические)	
COUVA 300 H; *Loders Croclaan,* Нидерланды	Фракционированный гидрогенизированный парафинированный растительный нелауриновый жир на основе пальмового, соевого, хлопкового масла и масла земляного ореха; температура плавления 36–40 °С
COUVA 500 H	Частично фракционированный нелауриновый жир на основе пальмового масла; температура плавления 33–37 °С
Suppocire® A, B, C, D; *GATTEFOSSE,* Франция	Продукты переэтерификации гидрированного пальмового и гидрированного пальмоядрового масла. Представляют собой смеси моно-, ди- и триглицеридов; температура плавления типа А – 34–37 °С, типа В – 36–38 °С, типа С – 37–41 °С, типа D – 42–45 °С
Massa Estarinym, типы 299, B, C; *Sasol Germany GmbH, Cremer Oleo Division,* Германия	Гидрогенизированное кокосовое масло; типы 299, B: температура плавления 33,5–35,5 °С; тип С: 34–36 °С
Estaram™, типы H, W, S, E; *Croda,* Великобритания	Продукты этерификации, представляют собой полусинтетические глицериды, состоят из смеси три-, ди- и моноглицеридов природных жирных масел. Тип H15 имеет низкое содержание моно- и диглицеридов, тип W35 – высокое, характеризуется высокой эластичностью и полярностью. Температура плавления 33,5–35,5 °С, Estaram 299 используется с ФС, чувствительными к гидролизу; температура плавления 34–36 °С
Supoweiss™ H, W, S, E; *Croda,* Великобритания	Продукты переэтерификации, полусинтетические глицериды. Температура плавления типа S2 – 34–36 °С , типа В – 34–36 °С. Обладают высокой пластичностью
Синтетические жиры и жироподобные ВВ	
Witepsol; *Sasol Germany GmbH*	Продукты прямой этерификации глицерина со смесью жирных кислот кокосового масла. Тип H, состав: более 84% – триглицериды высших жирных кислот, диглицеридов – до 15%, моноглицеридов – 1%; температура плавления разных марок типа H варьирует от 31 до 38 °С. Тип W, состав: 65–80% – триглицериды высших жирных кислот, диглицеридов – 10-35%, моноглицеридов – 1–5%; температура плавления разных марок типа W варьирует от 33,5 до 37 °С
Suppocire® N	Продукты этерификации выделенных жирных кислот с глицерином; температура плавления 34–37 °С

Название основы/производитель*	Состав, температура плавления
ДИФИЛЬНЫЕ	
Амфифильные соединения	
Suppocire® (тип BP)	Продукт этерификации жирных кислот с ПЭГ и глицерином BP. Температура плавления 35–37 °C
Адсорбционные	
Witepsol S	Гидрогенизированные глицериды кокосового масла с ПАВ. S 51 содержат добавки: глицерилрицинолеат и цетеарет-25, температура плавления 30–32 °C; S 55 содержат цетеарет-25 и белый воск, температура плавления около 35 °C
Твердый жир типа B, C, E; Украина	Гидрогенизированные жиры с ПАВ, температура плавления 33–36 °C
Fattibase; *Paddock Lab,* США	Триглицериды тропических масел с добавками парциальных глицеридов олеата натрия; температура плавления 32–35 °C
Wecobee W, R, S, M, FS; *Stepan Com USA*	Триглицериды кокосового или пальмоядерного масла и лецитин, глицерилмоностеарат, пропиленгликоль моностеарат; температура плавления 40 °C
Massa Estarinym; *Sasol Germany GmbH*	Гидрогенизированное кокосовое масло. Тип BC: глицерилрицинолеат, температура плавления 36–38 °C
Suppocire®, имеющие в названии символ X**	Содержат неионогенный эмульгатор, позволяющий вводить экстракты и жидкие формы ФС. Предотвращают эксудацию жидкой фазы в составе ЛФ
Suppocire, имеющие в в названии символ N**	Получают путем прямой этерификации выделенных жирных кислот с глицерином. Основы для более твердых суппозиториев с быстрыми свойствами застывания и высокой механической прочностью и невысокими гидроксильными числами.
Suppocire® P	Состоят из полигликолизированных глицеридов, полученных этерификацией отобранных жирных кислот с ПЭГ и глицерином. Амфифильные свойства улучшают солюбилизацию и абсорбцию ФС
Suppocire® S, S2**	Продукты с высоким содержанием модифицированных моноглицеридов с добавками, обеспечивают повышенную гидрофильность, улучшение смачиваемости активных ингредиентов. Подходят, когда требуется быстрое высвобождение лекарственного вещества
Suppocire® L**	Содержит фосфолипиды и предназначен для суспензионных суппозиториев, обеспечивает хорошую диспергируемость. Рекомендуется для ЛФ с высокой дозировкой ФС

Примечание: * – производитель указывается при первом упоминании торговой марки;
** – в соответствии с информацией производителя приведены не конкретные марки основ, а значения и характеристики продуктов в зависимости от содержащихся в названии символов, поэтому температуры плавления не указаны. Их можно найти на сайте производителя [5].

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВ [2–11]

Традиционно наибольшее применение находят гидрофобные основы. Производители выпускают линейки родственных основ с различающимися физико-химическими характеристиками, например температурой плавления и затвердевания. Это позволяет выбрать оптимальную марку для каждого конкретного случая. Так, витепсол типа W, имеющий гидроксильное число порядка 20-50, по сравнению с витепосолом типа *H* (гидроксильное число около 15) характеризуется более широким разрывом между температурами плавления и затвердевания (33,5–35,5 / 27,0–30,0) и, следовательно, более эластичен в условиях резкого охлаждения, медленнее затвердевает, что может рассматриваться в качестве преимущества при создании суппозиториев суспензионного типа.

Витепсол сорта E имеет температуру плавления 37,0–39,0 °C, что выше температуры тела, и может быть использован для повышения температуры плавления в случае активных ингредиентов, ее снижающих.

Среди гидрофильных основ лидерами являются полиэтиленгликоли, широко использующиеся в различных ЛФ: таблетках, растворах и сиропах, местных,

ректальных и вагинальных, глазных, зубных и парентеральных. Они работают как солюбилизаторы, диспергаторы, пластификаторы, смазки, стабилизаторы эмульсии и загустители. Жидкие ПЭГ гигроскопичны, однако гигроскопичность уменьшается с увеличением температуры плавления. В настоящее время жидкие ПЭГ входят во все ведущие фармакопеи и производятся во многих странах, в том числе странах Европы и в России.

Мыльно-глицериновая основа, так же как и основы ПЭГ и желатин-глицериновая основа, введены в фармакопеи Европы, США, Японии и др. Мыльно-глицериновая основа в настоящее время широко представлена в виде суппозиториев слабительного действия.

Обращает на себя внимание значительное количество основ, предназначенных для получения суппозиториев эмульсионного типа. Создание дифильных основ, представляющих собой собственно эмульсии и содержащих одновременно гидрофильный и липофильный компоненты, не увенчалось большим успехом из-за низкой стабильности композиций и проблем, связанных с наличием в ЛФ водной фазы. Оптимальной стратегией производства таких основ к настоящему времени стало получение адсорбционных основ, представляющих собой стабильные композиции липофильного компонента и эмульгатора, которые при производстве ЛФ легко превращаются в дифильную структуру. Добавки, такие как фосфолипиды, эфиры сорбитана и др., улучшают биофармацевтические свойства ЛФ и значительно расширяют применение, делая пригодными для введения как гидрофильных, так и липофильных активных ингредиентов. Адсорбционные основы применимы для изготовления вагинальных и ректальных препаратов, требующих более интенсивного увлажнения слизистой, лучшей диспергирующей способности или повышенной абсорбции.

Стоит отметить, что некоторые давно известные основы применяются в настоящее время все реже. К числу таких относятся суппорин-М и твердый жир кондитерский разных типов, производимые в Украине. Знакомые со студенческой скамьи и широко представленные в учебной литературе основы лазупол, бутирол, себувинол, ГХМ-5Т, ГХМ-3Т в настоящее время вышли из применения и приобрели свое место в истории эволюции лекарственной формы.

В состав суппозиториев вводят вспомогательные вещества иных групп: эмульгаторы, пластификаторы, вещества, регулирующие температуру плавления, консерванты; классификация по назначению и номенклатура представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Вспомогательные вещества в составе суппозиториев [2–3, 8–16]

Класс вспомогательных веществ	Назначение	Примеры
Основы	Создание лекарственной формы, носитель ФС, управление скоростью высвобождения	См. таблицу 1
Добавки, улучшающие структурно-механические свойства	Регулируют температуру плавления, твердость, обеспечивают агрегативную устойчивость	Масла, парафин, пчелиный воск, спермацет, ланолин, жирные спирты, эфиры глицерина и лимонной кислоты, аэросил, тальк
Стабилизаторы	– гетерогенных систем – антиоксиданты – консерванты	– ПАВ – бутилоксианизол, бутилокситолуол и др. – нипагин, нипазол, сорбиновая кислота и др.
Растворители, солюбилизаторы, пенетранты	Для увеличения биодоступности	ПАВ, глицериды жирных кислот марок MIGLYOL, DYNACERIN (разная вязкость), парциальные триглицериды на основе каприловой кислоты и ее глицериды марок IMWITOR, глицерилрицинолеат типа SOFTIGEN, цетеариловый спирт
Модификаторы высвобождения	Пролонгируют высвобождение	ГПМЦ*, карнаубский воск, Carbopol® 934P, холестерин, ПВП*, полоксамеры, ксантановая камедь
Мукоадгезивные компоненты	Повышают адгезию жидкой суппозиторной массы к слизистой	ПВП, ГПМЦ, МЦ*, ПАА*, ГЭЦ*

Примечание: * – ГПМЦ – гидроксипропилметилцеллюлоза, ПВП – поливинилпирролидон, МЦ – метилцеллюлоза, ПАА – полиакриламид, ГЭЦ – гидроксиэтилцеллюлоза.

Как видно из данных таблицы 2, в соответствии с существующими тенденциями вопросы модификации высвобождения ЛВ из суппозиториев и повышения биодоступности становятся актуальными.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ СУППОЗИТОРИЕВ

Технология получения суппозиториев в промышленности основана на плавлении или прессовании.

При получении методом прессования суппозитории формируются без нагрева, путем сжатия охлажденной суппозиторной массы, содержащей смесь основы и ЛВ.

Метод плавления нашел более широкое применение. Он включает стадии: плавление основы, введение в нее лекарственного вещества, выливание суппозиториев в формы (упаковку), охлаждение, запайку упаковки. В лаборатории на этапе разработки ЛФ все эти операции, за исключением упаковки, можно осуществить с помощью насадки *SG 4/W* к приводу ERWEKA (Германия).

Машина для отлива суппозиториев и помад SG 4/W обеспечивает быстрое и тщательное перемешивание, смешивание и плавление компонентов (в диапазоне температур от 20 °С до 100 °С) в рамках единого непрерывного цикла процесса получения лекарственной формы. Может использоваться не только для отлива суппозиториев, но также для получения помад, карандашей и других вязко-пластичных форм с аналогичной консистенцией и физическими свойствами.

Для корректной работы и получения вязких продуктов с нужной консистенцией и качеством рекомендуется заполнять 5-литровую емкость для смешивания исходными компонентами не более чем на 65%.

Рисунок 1. Машина для отлива суппозиториев и помад ERWEKA SG 4/W [17]

В комплект входит разъемная форма для отлива суппозиториев из дюралюминия с размерным рядом 1; 1,1; 1,2 г.

ПРОИЗВОДСТВО СУППОЗИТОРИЕВ

Современные автоматические суппозиторные линии выполняют до 95% всех технологических операций, оставляя оператору лишь процесс установки бобины с упаковочной лентой, заправку ленты в подающий диск и включение кнопок «старт/стоп». Они представляют собой комплекс машин, последовательно выполняющих операции наполнения суппозиторной массой ячеек упаковочной ленты, охлаждение, запайку и нарезку стрипов.

Отформованная бобина в виде ленты с ячейками для суппозиториев устанавливается на фиксирующие штыри, её свободный конец заправляется в приёмное устройство подающего диска. Лента при помощи дозатора наполняется жидкой суппозиторной массой, приготовленной заранее в бункере для плавления. Лента с заполненными ячейками охлаждается в холодильной машине и подается на установку для запайки упаковки. Установка для обрезки подравнивает форму первичной упаковки и нарезает ее на стрипы определённой длины.

Форма суппозиториев для вагинального или ректального введения может различаться и определяется формой ячеек, сформированных на ленте.

Автоматическая суппозиторная линия Pakmatik 6000 *является* примером *современной* системы для производства суппозиториев. Она состоит из машины для наполнения ячеек упаковки, холодильника и установки для запайки, обрезки ленты и нарезки стрипов. За сутки с помощью оборудования Pakmatik можно производить до 144 тысяч суппозиториев (от 1000 до 6000 в час).

Наполнительная машина автоматической линии представляет собой автоматизированную установку, предназначенную для подачи суппозиторной массы в формы. Суппозиторная масса перед поступлением в машину приготавливается в специальной ёмкости объемом 10 дм^3 (тип GP 4) или 30 дм^3 (тип GDM 30), выполненной из нержавеющей стали (AISI 316) и снабженной паровой рубашкой для обогрева горячей водой. Вторая емкость также из нержавеющей стали (AISI 304), с теплоизоляцией и электрическим нагревателем и насосом циркуляции горячей воды. Нагрев воды осуществляется в диапазоне от 30 °С до 85 °С с допуском по температуре ±0,5 °С. Электропривод с мешалкой в

Рисунок 2. Автоматическая суппозиторная линия Pakmatik 6000

системе суппозиторной линии не даст суппозиторной массе предварительно загустеть или расслоиться.

Дозирующее устройство машины выполнено из нержавеющей стали (AISI 316) и снабжено подвижным соплом с поршневым насосом. Объем дозировки регулируется в диапазоне до 3,5 м^3/ч при точности наполнения ±1%.

Разматывание рулона пустых суппозиториев и автоматическая намотка наполненных суппозиториев происходит от электродвигателя с редуктором.

Технологические параметры контролируются и легко поддаются регулировке: скорость вращения мешалки, термостатирование, процесс наполнения и температура контролируются цифровым электронным регулятором. Имеется автоматический счетчик цикла. Важным нюансом в работе линии Pakmatik 6000 является то, что машина прекращает свою работу при сигнале датчика об отсутствии на диске упаковки.

Холодильник. После заполнения наполненные ячейки с помощью двигателя перемещаются в холодильник. На каждом этапе температурной обработки в суппозиторной линии Pakmatik установлены терморегуляторы цифрового типа.

Установка для запайки, нарезки, обрезки суппозиториев осуществляет процесс запаивания краев ячеек с подготовкой к укладке в товарную упаковку. Запайка выполняется при помощи импульсного нагрева краев упаковки каждого индивидуального суппозитория. Два вентилятора быстро охлаждают стрипы после пайки. Обрезка суппозиториев в Pakmatik 6000 происходит с помощью дискового ножа, отсекающего лишние части упаковки. Установка для нарезки стрипов, используемая в комплексе с установкой Pakmatik 6000, с помощью специального механизма быстро, аккуратно и точно нарезает заполненную ленту на пластины заданной длины. При необходимости маркировка наносится прямо на упаковку.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СУППОЗИТОРИЕВ

В соответствии с ОФС 1.4.1.0013.15 «Суппозитории», включенной в ГФ XIII издания, помимо внешнего вида, аналитических (подлинность, содержание) и микробиологических показателей, для оценки качества ЛФ необходимо определять:

- размер частиц у суппозиториев суспензионного типа (методом микроскопии, размеры не должны превышать 100 мкм);
- распадаемость (ОФС 1.4.2.0012.15 «Распадаемость суппозиториев и вагинальных таблеток»): суппозитории на липофильной основе должны распадаться через 30 мин; образцы суппозиториев на гидрофильной основе – через 60 мин. Тест не проводится для суппозиториев модифицированного высвобождения, в том числе пролонгированного местного действия;
- температура плавления суппозиториев, полученных на липофильной основе (по методу 2 ОФС 1.2.1.0011.15 «Температура плавления»), не должна превышать 37 °С;
- время полной деформации для суппозиториев на липофильной основе не должно превышать 15 мин (ОФС 1.4.2.0010.15);
- однородность массы (ОФС 1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм»): гравиметрически;
- растворение: для суппозиториев на гидрофильной основе проводят испытание в соответствии с ОФС 1.4.2.0014.15 «Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм», для суппозиториев на липофильной основе – по ОФС 1.4.2.0015.15 «Растворение для суппозиториев на липофильной основе».

Некоторые показатели рассматриваются как альтернативные. Это касается показателей, характеризующих физико-химические свойства основ, таких как время полной деформации, распадаемость и температура плавления. Так, для суппозиториев на липофильной основе предусмотрено определение времени полной деформации или температуры плавления, в этом случае испытание на распадаемость не требуется. Если определение температуры плавления затруднительно, то следует определять время полной деформации. При проведении более информативных тестов,

например тестов «Растворение», «Однородность дозирования», не обязательны определение распадаемости и однородности массы соответственно.

Для проведения испытаний ГФ XIII рекомендует использование стандартных сертифицированных приборов. Поскольку приведенные показатели качества и аппаратурное оформление к ним представлено впервые в отечественной Фармакопее, кратко рассмотрим необходимое оборудование.

ТЕСТЕРЫ СУППОЗИТОРИЕВ [3, 4, 11, 17]

Для контроля качества суппозиториев выпускается стандартное лабораторное оборудование для тестирования прочности, точки плавления, распадаемости в среде, имеющей температуру тела человека, растворения. Все устройства соответствуют требованиям Европейской Фармакопеи и ГФ XIII.

Тестер точки плавления суппозиториев SSP (рисунок 3) состоит из градуированной стеклянной пробирки, которая является тестирующей ячейкой. Пробирка размещается внутри стеклянного змеевика, в который подается нагретая вода. Точка плавления определяется визуально, при постепенном возрастании температуры воды, циркулирующей через змеевик.

Рисунок 3. Тестер точки плавления суппозиториев SSP

Размягченную суппозиторную массу помещают в каждую из пяти капиллярных трубок (погружают в вещество так, чтобы оно заполнило нижнюю часть трубки) в количестве, достаточном для формирования в каждой трубке столбика высотой около 10 мм. Прикрепляют одну из капиллярных трубок к термометру с ценой деления 0,2 °С таким образом, чтобы вещество находилось в непосредственной близости к шарику термометра. Термометр с прикрепленной капиллярной трубкой помещают в термостатируемый стакан так, чтобы расстояние между дном стакана и нижней частью шарика термометра составляло 1 см. Повышают температуру воды со скоростью 1 °С в минуту. За температуру плавления принимают температуру, при которой вещество начинает подниматься по капиллярной трубке или столбик вещества в капилляре становится прозрачным.

Тест проводят для суппозиториев, полученных на липофильной основе.

ТЕСТЕРЫ РАСПАДАЕМОСТИ СУППОЗИТОРИЕВ

Тест «Распадаемость» позволяет определить способность ректальных или вагинальных суппозиториев размягчаться или распадаться. Показатель зависит от прочности внутренней структуры, свойств суппозиторной основы и лекарственных веществ, массы суппозитория.

ST 32 – базовый тестер распадаемости суппозиториев, соответствующий последним стандартам Европейской Фармакопеи и ГФ XIII. Прибор состоит из 3 тестовых станций, находящихся внутри термостатируемой 12-литровой водяной бани из прозрачного акрилового материала.

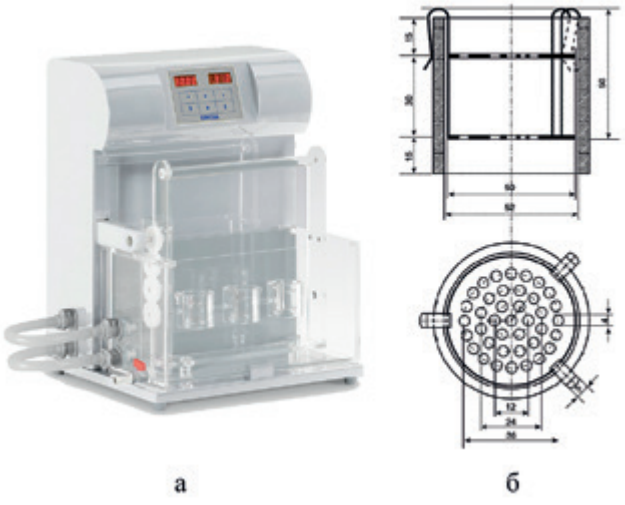


Рисунок 4. Тестер распадаемости суппозиториев ERWEKA ST 32: внешний вид (а), устройство корзинки (б)

При проведении испытания в каждом из трех стеклянных цилиндров, находящихся в общем термостатируемом сосуде, заполненном водой с температурой от 36 до 37 °С, закрепляют корзинку (рисунок 4б), состоящую из двух перфорированных металлических дисков. Суппозиторий помещают между дисками, расстояние между которыми сос-

тавляет 30 мм. После включения прибора тестовые станции автоматически поворачиваются на 180° каждые 10 мин.

Образцы считают распавшимися, если:

- наблюдается полное растворение;
- компоненты суппозитория или пессария разделились: расплавленные жировые вещества собрались на поверхности жидкости, нерастворимые вещества сели на дно, растворимые компоненты растворились;
- размягчение образца сопровождается заметным изменением формы, без полного разделения компонентов; размягчением считается также отсутствие у суппозитория твердого ядра, оказывающего сопротивление давлению стеклянной палочки.

Особенность тестера ST 32 заключается в наличии встроенной поточной системы нагрева высокой мощности (точность ±0,2 °С) и внутреннего температурного датчика для отображения температуры. USB-интерфейс для принтера делает возможной распечатку документации. Продолжительность тестирования и температура водяной бани устанавливаются с помощью мембранных клавиш. Текущее время тестирования и фактическая температура воды в бане выводятся на яркие красные дисплеи.

В отличие от тестера ST 32 в модели ST 35 каждая тестовая станция находится внутри 4-литрового стеклянного сосуда (с опциональным перемешивающим элементом на магните). Сосуды зафиксированы внутри термостатируемой водяной бани (с двойной системой защиты от протечек). В тестере ST 35 тестовые станции могут отделяться друг от друга для облегчения процесса очистки прибора.

Тестер ERWEKA PM 30 (A/B) для определения времени полной деформации суппозиториев

Определение времени полной деформации суппозиториев является одним из важнейших параметров, позволяющих прогнозировать поведение лекарственной формы в организме человека. Для определения времени полной деформации суппозиториев согласно фармакопейным требованиям используются прибор 1 и прибор 2.

Прибор 1 имеет три тестирующие станции, ртутный термометр, иммерсионный термостат, водяную баню. Все геометрические параметры деталей прибора соответствуют указаниям Фармакопеи.

Определение проводится в плоскодонной стеклянной трубке (1), снабженной расширяющимся к низу стержнем (2), со свободно скользящим поддерживающим устройством (3). К нижней, плоской стороне стержня крепится металлическая игла (4), на верхней части стержня имеется скользящее маркировочное кольцо (5). Когда стержень, введенный в стеклянную трубку, достигает дна, маркировочное кольцо поднимается на уровень верхнего края пластмассовой крышки.

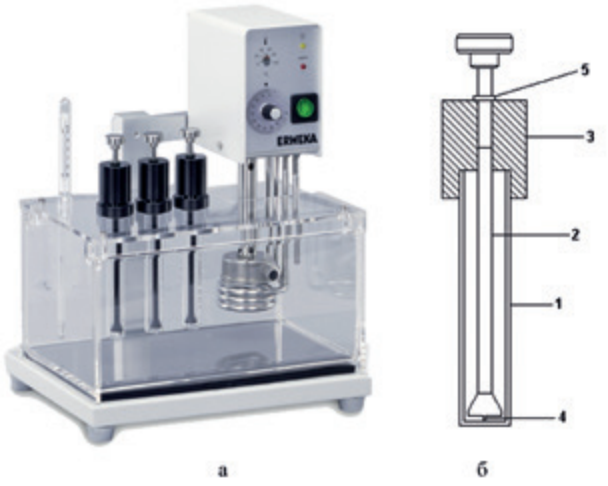


Рисунок 5. Прибор 1 для определения времени полной деформации суппозиториев на липофильной основе ERWEKA PM 30. Внешний вид (а); устройство рабочей ячейки (б): 1 – стеклянная трубка; 2 – стержень; 3 – поддерживающее устройство стержня; 4 – металлическая игла; 5 – маркировочное кольцо в нулевом положении

Стеклянную трубку, которая содержит 10 мл воды, устанавливают вертикально и погружают в водяную баню с температурой 37,0±0,5 °С на глубину не менее 7 см ниже поверхности, так чтобы она не касалась дна водяной бани. В трубку заостренным концом вниз помещают суппозиторий, затем вводят стержень со свободно скользящей крышкой до тех пор, пока металлическая игла не коснется плоского конца суппозитория. Трубку закрывают крышкой. Отсчет времени начинают с этого момента. Регистрируют время, необходимое для достижения стержнем дна стеклянной трубки, и время подъема маркировочного кольца до верхнего края пластмассовой крышки.

Прибор 2 состоит из водяной бани (А) с крышкой, в которую помещена внутренняя трубка (В) и неподвижный ограничитель, закрывающий дно трубки. Прибор снабжен термометром (Б), а также вставками: 1 – стеклянный стержень (Г1) в форме трубки, запаянной с обоих концов, имеющей ободок на нижней части из свинцовой дроби; 2 – проникающая вставка (Г2), состоящая из стержня в трубке, которая имеет углубление для суппозитория; обе части изготовлены из нержавеющей стали.

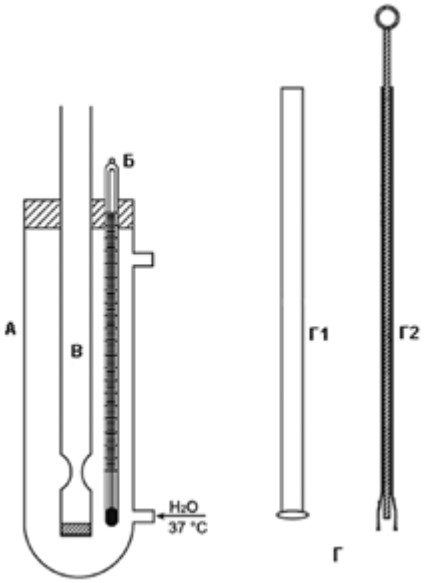


Рисунок 6. Прибор 2 для измерения времени деформации липофильных суппозиториев: А – водяная баня, Б – термометр, В – стеклянная трубка, Г1 – стеклянный стержень, Г2 – проникающая вставка

Рисунок 7. Прибор для определения устойчивости к разрушению суппозиториев на липофильной основе ERWEKA SBT 2 (справа) и набор дисков (грузов) массой 200,0 г (слева)

Во внутреннюю трубку (В) отмеривают 5 мл воды с температурой 36,5±0,5 °С, помещают суппозиторий заостренным концом вниз и вводят вставку (Г1 или Г2). Секундомером фиксируют время полного размягчения, когда нижний конец вставки достигнет суженной части внутренней стеклянной трубки. Температура водяной бани 36,5±0,5 °С.

Растворение. Испытание суппозиториев на гидрофильной основе проводят на аппаратах различного типа, используемых для определения скорости и полноты растворения лекарственных веществ из твердых лекарственных форм: «Вращающаяся корзинка», «Проточная ячейка», «Лопастная мешалка», а для суппозиториев на гидрофобной основе ОФС 1.4.2.0015.15 «Растворение суппозиториев на липофильной основе» рекомендует применение аппарата «Проточная ячейка».

Тестер прочности суппозиториев SBT 2 (рисунок 7). Зарубежные фармакопеи (Европейская, Британская, Украины и Белоруссии) для суппозиториев предусматривают определение устойчивости суппозиториев к разрушению путём измерения массы, необходимой для их разрушения раздавливанием. Испытание проводят для суппозиториев, изготовленных на липофильных основах.

Принцип определения прочности заключается в следующем: суппозиторий фиксируется зажимом в предварительно нагретой до определенной температуры камере. После этого на кронштейн навешиваются различные комбинации грузов. Момент разрушения суппозитория определяется визуально, значение прочности выражается в массе грузов, необходимой для разрушения суппозитория.

Прибор (рисунок 7) состоит из:

- термостатируемой камеры, закрывающейся стеклянным окном с лицевой стороны (1), с фиксатором суппозитория
- двух тисков для фиксации суппозитория, расположенных горизонтально друг напротив друга, верхние тиски вертикально опускаются на нижние (2). Сдавливающие поверхности тисков плоские, они устанавливаются перпендикулярно движению, их поверхность по размеру должна быть больше зоны соприкосновения с поверхностью суппозитория. Пластмассовый держатель закрепляется по центру тисков (3). Верхние тиски соединяют с подвесным устройством, на стержень (4) которого нанизываются диски массой 200 г каждый. Начальная масса прижимного блока составляет 600 г. Разрушение образца проводят путем последовательного нанизывания на стержень гирь массой 200 г до общей массы 600 г на подвесном устройстве.

Термостатируемую камеру нагревают до температуры 25 °С, испытуемую ЛФ выдерживают при нужной для проведения испытания температуре в течение не менее 24 ч. Суппозиторий помещают между тисками держателей вертикально, заостренным концом вверх. Надёжно закрепляют верхний прижимной блок, соединенный с подвесным устройством, и закрывают ка-

меру стеклянным окном. Спустя одну минуту нанизывают первый диск массой 200 г. Спустя еще минуту добавляют следующий диск. Процедуру повторяют до полного разрушения суппозитория. Необходимую для разрушения суппозитория массу рассчитывают путём суммирования массы, воздействующей на суппозиторий в момент его разрушения. Испытание проводят на 10 суппозиториях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суппозитории – это старейшая ЛФ, обладающая несомненными преимуществами: терапевтической эффективностью, технологичностью, способностью оказывать как местный, так и системный эффект, к тому же не требует специальных условий и специального персонала для применения. Многочисленные исследования ученых XX века привели к тому, что сегодня на рынке имеется большой арсенал технологичных суппозиторных основ, предназначенных для решения различных технологических задач. Инструментальная база приборов для оценки качества ЛФ позволяет провести всесторонний объективный анализ их физико-химических и технологических свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. 3rd ed. V. 6 // Ed. By J. Swarbrick, J.C. Boylan. – N.Y.; L.: M. Dekker, Inc. 957 p.
2. Т.В. Орлова, Т.А. Панкрушева. Вспомогательные вещества в технологии суппозиториев и научно-методические подходы к их выбору. – Курск: КГМУ, 2013. 160 с.
3. European Pharmacopoeia. 8th ed. suppl. 8.0. – Strasburg: Europian Department for the Quality of Medicines, 2015. V. 1.
4. The United States Pharmacopeia – National Formulary. USP 38. – Rockville, MD: The United States Pharmacopoeial Convention, 2015
5. Witepsol Fatty bases for suppositories. Cremer Health Compliant with nature. 25 p.
6. GATTEFOSSE. URL: http://www.gattefosse.com/en/applications/ (дата обращения 27.01.2016).
7. CrodaEurope Ltd. URL: www.croda.com/healthcare (дата обращения 15.03.2016).
8. Excipients for pharmaceuticals. Sasol Germany GmbH. 32 p.
9. Excipients for Rectal and Vaginal Drug Delivery. GATTEFOSSE. 15 p.
10. IOI Loders Croclaan. URL: http://europe.ioiloders.com/ (дата обращения 15.03.2016).
11. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2. – М. 2015.
12. T. Phaechamud, W. Muennoom. Effect of Xanthan Gum and HPMC on Drug Liberation from Hollow-type Fast and Sustained Release Suppositories // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015. V. 4. P. 1034–1044.
13. R. Yahagi, Y. Machida, H. Onishi. Mucoadhesive suppositories of ramosetron hydrochloride utilizing Carbopol® // International Journal of Pharmaceutics. 2000. V. 193. P. 205-212.
14. W. Reanmongkol, N. Kaewnopparat, C. Ratanajamit. Physicochemical properties, in vitro release and in vivo evaluation of tramadol hydrochloride rectal suppository and rectal gel // Asian Biomedicine. 2011. V. 5. № 2. P. 269–275.
15. S.Y. Karavana, S. Renfber, Z. Ay, E. Baloglu. A New In-Situ Gel Formulation of Itraconazole for Vaginal Administration // Pharmacology & Pharmacy. 2012. № 3. P. 417–426.
16. G. Eman, M. Mokhtar, H. El Ghamry, F. Ghazy. Sustained Release Rectal Suppositories as Drug Delivery Systems for Atenolol // Journal of American Science. 2012. V. 8(12). P. 323–332.
17. Erweka GmbH. URL: http://erweka-rus.ru/ (дата обращения 15.03.2016).
18. Erweka GmbH. URL: http://erweka-rus.ru/pakmatik.html (дата обращения 15.03.2016).

УДК 615.454.2, 615.276

1 – ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, 305000, Россия, г. Курск, ул. К. Маркса, 3

1 – Kursk State Medical University, 3, K. Marks str., Kursk, 305000, Russia

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

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СУППОЗИТОРИЕВ ПАРАЦЕТАМОЛА ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Т.В. Орлова[1]*, Т.А. Панкрушева[1], Н.Д. Огнещикова[1], А.В. Нестерова[1]

Резюме. Исследовано качество суппозиториев парацетамола отечественных производителей и установлено их соответствие фармакопейным требованиям. Изучена сравнительная кинетика растворения парацетамола из суппозиториев разных производителей и выявлена неэквивалентность профилей, обусловленная свойствами основы. Подчеркнута важность гидроксильного числа и температуры плавления используемых жировых суппозиторных основ как фармацевтических факторов.

Ключевые слова: суппозитории парацетамола, биофармация, профили растворения.

THE BIOPHARMACEUTICAL INVESTIGATION OF PARACETAMOL SUPPOSITORIES FROM DOMESTIC MANUFACTURERS

T.V. Orlova[1]*, T.A. Pankrusheva[1], N.D. Ogneschikova[1], A.V. Nesterova[1]

Abstract. The quality of Paracetamol suppositories produced by domestic manufacturers has been investigated and their compliance with pharmacopoeial requirements has been established. Dissolution profile test of paracetamol suppositories of different producers has been carried out and nonequivalence of profiles due to the properties of the suppository basis has been shown. The importance of hydroxyl value and melting point of fat suppository bases used as pharmaceutical factors has been highlighted.

Keywords: Paracetamol suppositories, biopharmacy, dissolution profiles.

ВВЕДЕНИЕ

Вспомогательные вещества (ВВ) играют важную роль в обеспечении биодоступности, эффективности, стабильности и безопасности любого лекарственного препарата, в том числе в форме суппозиториев [1].

По функциональному признаку ВВ, используемые в технологии суппозиториев, можно классифицировать следующим образом.

1. Формообразующие вещества (определяют массу, размер, консистентные свойства суппозиториев):

- суппозиторные основы;
- структурообразователи (добавки, улучшающие структурно-механические свойства и обеспечивающие агрегативную устойчивость основ). К ним относятся вещества, регулирующие температуру плавления основ, их пластичность, твердость, вязкость (масла, парафин, пчелиный воск, спермацет, полиэтиленгликоли, ланолин, жирные спирты, эфиры глицерина и лимонной кислоты, аэросил, тальк, твины, эмульгаторы Т-1, Т-2, № 1 и др.).

2. Стабилизаторы:

- стабилизаторы гетерогенных систем (поверхностно-активные вещества, ПАВ);
- антиоксиданты (бутилоксианизол, бутилокситолуол);
- консерванты (нипагин, нипазол, сорбиновая кислота).

3. Вещества, увеличивающие биодоступность лекарственных средств из суппозиториев:

- растворители, диспергаторы и солюбилизаторы лекарственных веществ (ПАВ, диметилсульфоксид);
- дезинтегранты и пенетранты (вещества, улучшающие распадаемость суппозиториев и ускоряющие высвобождение, всасывание лекарственных веществ, газы, ПАВ, водорастворимые соли, углеводы, жирные кислоты, глицериды жирных кислот с короткой цепью).

4. Красители [2].

С биофармацевтической точки зрения каждое из ВВ может усиливать, снижать действие лекарственных веществ (ЛВ)

или изменять его характер под влиянием различных причин.

Среди ВВ особое место отводится суппозиторной основе. Она влияет на скорость, полноту высвобождения и всасывания активных ингредиентов и, следовательно, регулирует время наступления и силу фармакологического эффекта.

Современный ассортимент суппозиторных основ отличается большим разнообразием, требующим знания их состава, свойств, особенностей применения [3].

В настоящее время суппозиторные основы представлены преимущественно липидными продуктами, как наиболее физиологичными, безопасными и доступными.

Множество импортных и отечественных суппозиториев изготовлено на основе твердого жира. Твердыми жирами в суппозиторном производстве именуются многочисленные полусинтетические или синтетические жировые продукты, содержащие и не содержащие ПАВ.

Торговые марки и отдельные виды твердого жира различаются по составу и таким показателям, как температура плавления, число омыления, гидроксильное и йодное число, которые определяют технологические характеристики полученных суппозиториев и существенно влияют на их стабильность и биофармацевтические свойства. Особое внимание следует уделять такому показателю жировой основы, как гидроксильное число.

Гидроксильное число показывает неэтерифицированные позиции в глицеридных молекулах, т.е. определяет содержание моно- и диглицеридов в жировой основе. Регулирование вида и количества парциальных глицеридов в составе жировой суппозиторной основы позволяет придавать ей следующие свойства:

– облегченное высвобождение и всасывание ЛВ из суппозиториев;

– лучшая смачиваемость слизистой оболочки и растекаемость расплавленной суппозиторной массы с увеличением площади абсорбции;

– возможное уменьшение гидрофобных взаимодействий активной субстанции и жирнокислотных остатков основы;

– повышение пластичности основ (снижение хрупкости суппозиториев);

– увеличение интервала температуры плавления, температуры плавления и затвердевания основ с повышением их устойчивости к шоковому охлаждению;

– способность эмульгировать водные и спиртовые растворы;

– стабилизация суспензионных систем и повышение однородности дозирования ЛВ (в т.ч. за счет повышения вязкости);

– варьирование температуры плавления основ, т.к. температура плавления глицеридов существенно зависит от полноты замещения гидроксилами и положения ацилов.

Отрицательное влияние парциальных глицеридов может проявиться в следующем:

– несовместимости с субстанциями кислого характера;

– выраженных водородных связи и снижения полноты высвобождения отдельных субстанций;

– увеличении времени затвердевания суппозиториев;

– упрочении кристаллической структуры суппозиториев в процессе хранения (доотверждение).

Таким образом, гидроксильное число жировой основы, отражающее содержание парциальных глицеридов, является наиболее важной технологической и биофармацевтической характеристикой жировых основ. Если величина гидроксильного числа менее 3–5 мг КОН/г, основа является гидрофобной, а при более высоком показателе жировая основа приобретает дифильные свойства и может оказать заметное влияние на профиль высвобождения и всасывания ЛВ [2, 3].

Тест «Растворение» обладает широкими возможностями для биофармацевтического исследования лекарственных препаратов, в т.ч. суппозиториев [4–8]. Направлениями его использования являются: разработка оптимального состава и технологии суппозиториев, их стандартизация и контроль процесса производства. В ГФ XIII издания впервые введена ОФС.1.4.2.0015.15 «Растворение для суппозиториев на липофильной основе» (прибор «Прототочная ячейка»).

В настоящее время активно проводятся исследования по применению теста «Растворение» для оценки фармацевтической доступности и прогноза биоэквивалентности суппозиториев резорбтивного действия [8, 9].

В связи с этим **целью данной работы** явилось развитие биофармацевтического подхода к совершенствованию суппозиториев на основе их анализа как по традиционным фармакопейным показателям, так и по результатам изучения сравнительной кинетики растворения на примере суппозиториев парацетамола отечественного производства.

Для этой цели использована разработанная нами методика испытания «Растворение» для суппозиториев парацетамола, дискриминирующие условия которой позволяют выявлять различия в составе и свойствах вспомогательных веществ [9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили суппозитории парацетамола, приобретенные в розничной аптечной сети г. Курска, и суппозитории собственного производства:

- «Цефекон Д», суппозитории ректальные для детей, 250 мг, производства ОАО «Нижфарм» (Stada, Россия):

  – серия 70313, срок годности до 03.2016;

  – серия 370913, срок годности до 09.2016.

- «Парацетамол-Альтфарм», суппозитории ректальные для детей, 250 мг, производства ООО «Альтфарм», Россия:

  – серия 06082013, срок годности до 08.2015;

  – серия 08112013, срок годности до 11.2015.

- Суппозитории ректальные с парацетамолом, 250 мг, лабораторного производства (кафедра фармацевтической технологии Курского госмедуниверситета, Россия), серия 01102013, срок годности до 10.2015.

Для исследования суппозиториев с парацетамолом использовали следующие методы:

- Визуальный осмотр (подтверждение соответствия внешнего вида суппозиториев фармакопейным требованиям).
- Определение однородности массы дозированных лекарственных форм (ГФ XIII, ОФС.1.4.2.0009.15).
- Оптическая микроскопия (изучение фракционного состава частиц парацетамола согласно ГФ XIII, ОФС.1.2.1.0009.15; микроскоп «ЛОМО» Микмед-1 с окулярным микрометром).
- Спектрофотометрия (подтверждение подлинности и определение количественного содержания парацетамола в суппозиториях и среде растворения; ГФ XIII, ОФС.1.2.1.1.0003.15; СФ-2000, ЗАО «ОКБ «Спектр», Санкт-Петербург).
- Определение времени полной деформации (ГФ XIII, ОФС.1.4.2.0010.15, прибор 2).
- Установление температур плавления суппозиториев с парацетамолом (ГФ XIII, ОФС.1.2.1.0011.15, прибор 3 – ПТП с электрическим обогревом).
- Тест «Растворение» (ГФ XIII, ОФС.1.4.2.0014.15; Erweka DT 6, аппарат I «Вращающаяся корзинка», Германия).
- Статистическая обработка экспериментальных данных (ГФ XIII, ОФС.1.1.0013.15, пакет Microsoft Office Excel 2010).

Получение профилей растворения парацетамола из суппозиториев осуществляли на 12 образцах, каждый из которых предварительно взвешивали и размещали по одному. С целью приближения условий определения к условиям всасывания действующего вещества в прямой кишке в качестве среды растворения применяли деаэрированный фосфатный буферный раствор со значением pH 7,4±0,05 и температурой 37±0,5 °С. Объем среды растворения – 500 мл. Скорость вращения корзинки составляла 100 об/мин.

ERWEKA DT 6

Отбор проб для анализа производили из зоны сосуда, находящейся на середине расстояния между поверхностью среды растворения и дном корзинки, с восполнением объема равноценным количеством растворителя той же температуры. Пробу фильтровали через фильтр «синяя лента» (ТУ 6-09-1678-95), при необходимости разводили фосфатным буфером, определяли оптическую плотность полученного раствора и рассчитывали процентное содержание парацетамола, высвободившегося в среду растворения за определенный промежуток времени.

Аналитическим методом определения парацетамола являлась УФ-спектрофотометрия. Для этого была разработана и валидирована методика количественного анализа парацетамола в суппозиториях и среде растворения при длине волны 245±1 нм (относительное стандартное отклонение RSD составило 0,86%, систематическая погрешность – 0,32%).

Анализ эквивалентности кинетики растворения парацетамола из суппозиториев разных производителей проводили, применяя попарные процедуры сравнения с использованием расчетных величин: фактора различия (f_1) и фактора подобия (f_2). Считали, что различие между кривыми высвобождения отсутствует, если фактор различия (формула 1) принимает значения от 0 до 15, а фактор подобия (формула 2) – от 50 до 100 [4, 5].

$$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^{n} |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^{n} R_t} \times 100, \quad (1)$$

$$f_2 = 50 \cdot \lg\left[100 \cdot \sqrt{\frac{1}{1+\frac{1}{n}\sum_{t=1}^{n}(R_t - T_t)^2}}\right], \quad (2)$$

где n – число временных точек; R_t – количество лекарственного средства, перешедшее в раствор из препарата сравнения в точке t (в среднем, в процентах); T_t – количество лекарственного средства, перешедшее в раствор из исследуемого препарата в точке t (в среднем, в процентах).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе исследования был проведен сравнительный анализ состава и внешнего вида суппозиториев с парацетамолом согласно описанию каждого производителя.

Описание суппозиториев «Цефекон Д»

Суппозитории белого или белого с желтоватым или кремоватым оттенком цвета, торпедообразной формы.

Состав:

- Парацетамола 0,25 г.
- Твердого жира (витепсола) достаточное количество до получения суппозитория массой 1,25 г [10].

Описание суппозиториев «Парацетамол-Альтфарм»

Суппозитории белого или белого с желтоватым или кремоватым оттенком цвета, торпедообразной формы.

Состав:

- Парацетамола 0,25 г.
- Твердого жира (витепсола) 0,75 г.

Масса суппозитория 1,0 г [11].

Суппозитории с парацетамолом лабораторного производства

Суппозитории торпедообразной формы белого цвета.

Состав:

- Парацетамола 0,25 г.
- Суппоцира (Suppocire) NA15 до 1,3 г.

При оценке внешнего вида было установлено, что все исследованные суппозитории отвечали требованиям ОФС «Суппозитории» и описанию. В качестве основы в суппозиториях «Цефекон Д» и «Парацетамол-Альтфарм» указан твердый жир (витепсол). Суппозитории лабораторного производства были изготовлены на основе суппоцир NA15, родственной витепсол H15 и обладающей сходными свойствами.

Далее были проведены физико-химические и фармако-технологические испытания суппозиториев, результаты которых приведены в таблице 1.

В таблице 1 указан установленный интервал плавления суппозиториев, содержащий температуру начала и конца плавления. Для большинства суппозиториев данный показатель не превышал фармакопейного предела – 37 °С. Высокая температура конца плавления выявлена у суппозиториев «Парацетамол-Альтфарм», что указывает на присутствие в основе части тугоплавких глицеридов и может

Таблица 1.

Результаты стандартизации суппозиториев парацетамола

Производитель	«Цефекон Д», серия		«Парацетамол-Альтфарм», серия		Лабораторный образец
Показатель качества	70313	370913	06082013	08112013	
Интервал плавления, °С	32,3–36,2	32,2–36,1	31,3–38,6	31,4–38,3	30,8–36,1
Время полной деформации, с	365±60	403±36	509±50	520±35	385±36
Средняя масса суппозиториев, г	1,238	1,236	1,019	1,010	1,320
Максимальное отклонение от средней массы, %	–2,26	–2,10	+1,10	–1,86	–3,58
Средний размер частиц парацетамола, мкм	20,23	19,65	21,33	20,10	22,18
Количественное содержание парацетамола	98,93±1,49	98,6±2,03	99,07±0,78	99,67±0,90	99,6±1,09

сказаться на процессе высвобождения активной субстанции.

Время полной деформации исследованных суппозиториев соответствовало требованиям ОФС «Суппозитории» – не более 15 мин. Суппозитории «Парацетамол-Альтфарм» имели более высокое значение данного показателя по сравнению с другими.

Средняя масса суппозиториев всех производителей находилась в заявленных пределах, отклонения от средней массы не превышали ± 5%, имели близкие значения между сериями, что говорит об отлаженной работе производственного оборудования.

Анализ дисперсности твердой фазы всех суппозиториев, проведенный методом оптической микроскопии, показал ее соответствие фармакопейным требованиям, а также однотипность фракционного состава и наличие двух основных фракций частиц парацетамола: размером до 15 мкм и до 50 мкм (таблица 2).

Таблица 2.

Результаты исследования дисперсности парацетамола в суппозиториях

Диаметр Ферре, мкм	Фракционный состав, %				
	«Цефекон Д»		«Парацетамол-Альтфарм»		Лабораторный образец
	серия 70313	серия 370913	серия 06082013	серия 08112013	
0–15	51,2	53,8	48,2	52,4	44,8
>15–50	45,8	42,8	46,8	43,6	50,2
>50–100	3,0	3,4	5,0	4,0	5,0

Анализ подлинности и количественного содержания парацетамола в суппозиториях выполнен УФ-спектрофотометрическим методом по разработанной нами методике. Установлено, что содержание парацетамола в исследованных суппозиториях укладывалось в нормы допустимых отклонений (±10%).

Таким образом, проведенная стандартизация суппозиториев парацетамола производства ОАО «Нижфарм» (Stada), ООО «Альтфарм» и лабораторных образцов показала их соответствие фармакопейным требованиям по всем показателям, за исключением завышенного показателя температуры конца плавления суппозиториев ООО «Альтфарм».

Следующим этапом исследования стало получение профилей растворения парацетамола из суппозиториев разных производителей (рисунок 1) и оценка их эквивалентности.

Анализ профилей растворения показал, что суппозитории «Цефекон Д» практически полностью высвобождали действующее вещество (99,36±1,55% и

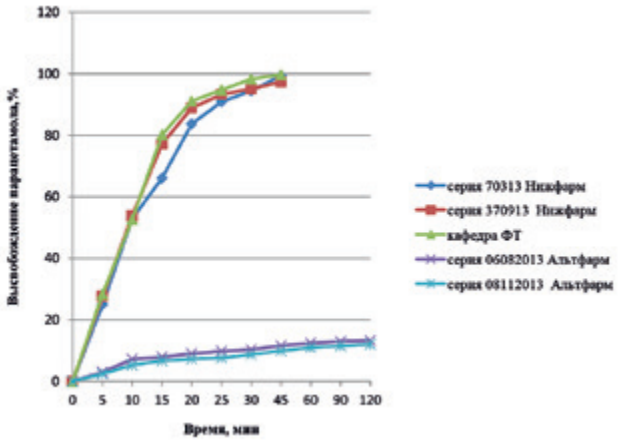


Рисунок 1. Профили растворения парацетамола из суппозиториев разных производителей

97,30±2,89% для разных серий) к 45 мин. В соответствии с критериями ВОЗ имело место быстрое и полное растворение, т.к. более 85% ЛВ перешло в среду растворения к 30 мин.

Суппозитории «Парацетамол-Альтфарм» высвобождали активную субстанцию в незначительном количестве без существенного отличия в сериях (13,29±0,65% и 12,01±0,54% к 120 мин), что, на наш взгляд, связано со свойствами основы (наличие тугоплавких глицеридов и низкое гидроксильное число). Не исключается также возможность влияния на данный процесс полиморфизма используемой субстанции парацетамола [12].

Суппозитории парацетамола лабораторного производства (кафедра фармацевтической технологии Курского госмедуниверситета) показали высокие результаты по высвобождению действующего вещества – 99,72±1,35% к 45 мин.

Таблица 3.

Анализ сопоставимости профилей растворения парацетамола из суппозиториев

Объекты сравнения – суппозитории парацетамола	Эквивалентность профилей растворения		
	Фактор различия	Фактор подобия	Да/Нет
Разные серии «Цефекон Д»	7,04	59,30	Да
Разные серии «Парацетамол-Альтфарм»	15,08	83,56	Да
«Цефекон Д» и «Парацетамол-Альтфарм»	88,44	8,60	Нет
«Цефекон Д» серия 70313 и лабораторный образец	9,11	53,67	Да
«Цефекон Д» серия 370913 и лабораторный образец	2,46	81,62	Да

Согласно данным таблицы 3 и рисунка 1 эквивалентными являются профили растворения парацетамола из суппозиториев разных серий каждого производителя, что указывает на однотипный состав и отработанную, хорошо воспроизводимую промышленную технологию.

Эквивалентность профилей растворения парацетамола из суппозиториев производства ОАО «Нижфарм» (Stada) и суппозиториев лабораторного производства объясняется использованием родственных суппозиторных основ, чего нельзя сказать о суппозиториях, произведенных ООО «Альтфарм».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование качества суппозиториев парацетамола (производства ОАО «Нижфарм» (Stada); ООО «Альтфарм»), приобретенных в аптечной розничной сети, и суппозиториев лабораторного производства. Установлено их соответствие требованиям нормативной документации по фармакопейным показателям: описание, средняя масса и отклонения от нее, время полной деформации, подлинность и количественное содержание. Дисперсность твердой фазы всех исследованных суппозиториев была сопоставимой. Средняя температура плавления суппозиториев разных производителей имела близкие значения, однако у суппозиториев «Парацетамол-Альтфарм» температура конца плавления была завышена, что обусловлено присутствием в составе основы тугоплавких компонентов и сказывается на полноте и скорости высвобождения активной субстанции.

Тест «Растворение» показал, что суппозитории лабораторного производства и «Цефекон Д» обеспечивали быстрое растворение действующего вещества; парацетамол практически полностью высвобождался к 45 мин испытания; профили растворения (между сериями и производителями) были эквивалентны. Суппозитории «Парацетамол-Альтфарм» высвобождали активную субстанцию в незначительном количестве (около 12–13% к 120 мин) без существенного отличия в сериях.

В результате выполненных биофармацевтических исследований установлена существенная роль основы (вида и свойств твердого жира) в высвобождении парацетамола из суппозиториев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н.Б. Демина. Биофармация – путь к созданию инновационных лекарственных средств // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 1 (2). С. 8–13.
2. Т.В. Орлова, Т.А. Панкрушева. Выбор суппозиторной основы в технологии суппозиториев // Фармация. 2014. № 1. С. 34–38.
3. Т.В. Орлова. Особенности состава и перспективы использования жировых суппозиторных основ в фармацевтической практике // Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие. 2013. Т. VIII. № 3. С. 74–78.
4. И.Е. Шохин, Г.В. Раменская, Г.Ф. Василенко, Е.А. Малашенко. Оценка возможности замены исследований биоэквивалентности *in vivo* на изучение сравнительной кинетики растворения *in vitro* (процедура «биовейвер») при определении взаимозаменяемости лекарственных средств («дженериков») // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45. № 2. С. 64–66.
5. И.Е. Смехова, Ю.М. Перова, И.А. Кондратьева А.Н. Родыгина, Н.Н. Турецкова. Тест «Растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 1. С. 50–61.
6. К.С. Давыдова, Ю.И. Кулинич, И.Е. Шохин. Тест «Растворение» в контроле качества лекарственных средств // Ремедиум. 2010. № 5. С. 42–43.
7. Г.В. Раменская, И.Е. Шохин. Современные подходы к оценке генерических лекарственных средств при их регистрации (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2009. Т. 43. № 6. С. 30–34.
8. Т.В. Орлова. Испытание «Растворение» и биофармацевтический анализ суппозиториев нестероидных противовоспалительных средств // Кластерные подходы фармацевтического союза: образование, наука, бизнес: сб. материалов II Междунар. науч.-практ. конф. Белгород, 2012. С. 215–217.
9. Т.В. Орлова, Т.А. Панкрушева, А.В. Нестерова. Исследование кинетики растворения парацетамола из суппозиториев и оценка взаимозаменяемости суппозиторных основ // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. № 7. С. 68–72.
10. Официальный сайт Stada. URL: http://www.stada.ru/products/cefekon-d.html (дата обращения 18.02.2016).
11. Официальный сайт ООО «Альтфарм». URL: http://www.altpharm.ru/drugs/generics/paracetamol.html (дата обращения 18.02.2016).
12. Д.А. Дружбин, Т.Н. Дребущак, Е.В. Болдырева. Электронная плотность метастабильной полиморфной модификации парацетамола, топологический анализ водородных связей // Вестник НГУ. Серия: Физика. 2013. Т. 8. Вып. 2. С. 109–116.

УДК 614.486.4

1 – ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет» (СВФУ) 677000, Россия, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Белинского, 58

1 – Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «North-Eastern Federal University» (NEFU), 58, Belinsky str., Yakutsk, Sakha Republic, 677000, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: J027025AA@yandex.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗАЦИИ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ

Я.И. Абрамова[1]*, В.С. Чучалин[1], А.А. Кузьмина[1], С.М. Тарабукина[1]

Резюме. Статья посвящена вопросам контроля температурного режима стерилизации при производстве инфузионных растворов. Приводится описание эксперимента по анализу равномерности распределения температурного поля на трех уровнях камеры парового стерилизатора GEC 91425AR-2, рассчитаны и построены статистические карты Шухарта, позволяющие определить стабильность и управляемость технологического процесса стерилизации по температуре, рассчитан индекс возможности процесса.

Ключевые слова: контроль температуры стерилизации, статистические карты Шухарта.

EVALUATION OF THE STERILIZATION PROCESS STABILITY FOR INFUSIONS

Ya.I. Abramova[1]*, V.S. Chuchalin[1], A.A. Kuzmina[1], S.M. Tarabukina[1]

Abstract. The article is concerned to control temperature setting sterilization in the manufacture of infusion solution. The description of the experiment in the analysis of uniformity of temperature distribution at three levels of camera steam sterilizer GEC 91425AR-2, designed and constructed statistical Shewhart charts, for determining the stability and controllability of the process sterilization temperature, calculated capability index of process.

Keywords: sterilization temperature monitoring, statistical Shewhart charts.

ВВЕДЕНИЕ

К инфузионным лекарственным средствам предъявляют повышенные требования вследствие высокого риска негативного влияния на пациента при их применении. Гарантией безопасности таких препаратов является строгое соблюдение норм, регламентирующих условия их производства, включая контроль всех параметров технологического процесса. Важнейшим параметром, обеспечивающим стерильность готового продукта, является температурный режим стерилизации. Его физический контроль осуществляется с помощью средств измерения температуры (термометров, термопар), давления (манометров, мановакуумметров) и времени (таймеров) [1]. При этом время связано со скоростью передачи тепла и достижением заданных значений температуры во всех точках объема стерилизуемого объекта. Современные стерилизаторы, как правило, оснащены автоматическими записывающими устройствами, фиксирующими отдельные параметры каждого цикла стерилизации (длительность временных интервалов, значения температуры и давления) [2].

Температурное поле в стерилизационных камерах современных стерилизаторов должно быть однородно (различие температур менее одного градуса), однако реальные условия и экспериментальные данные не позволяют с уверенностью утверждать, что все точки объема стерилизационной камеры прогреваются одинаково [3].

Цель работы заключалась в определении характера распределения требуемой температуры на трех уровнях рабочего пространства стерилизатора (верхнем, среднем, нижнем) и определении степени управляемости производственного процесса стерилизации инфузионных растворов с помощью статистических карт Шухарта. Заполнение контрольных карт процесса является наиболее простым методом систематизации данных, структурирования работы и облегчения принятия решений. Вспомогательные статистические методы, применяемые при этом, позволяют более эффективно оценивать значимость показателей и принимать решения, необходимые для правильной корректировки используемого режима [4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Стерилизатор типа GEC 91425AR-2 (Getinge, Швеция), используемый в ГУП «Сахамедпром» (г. Якутск), представляет собой аппарат проходного типа с объемом камеры 3600 л и предназначен для стерилизации жидкостей в герметичных стеклянных или пластиковых контейнерах, выдерживающих обливание водой.

Контроль температурного параметра режима работы парового стерилизатора проводился с использованием термометров ртутных стеклянных максимальных типа СП-83 с диапазоном измерения от +20 до

+220 ºС (ТУ 25-1102.016-82). Кроме того, в работе были использованы температурные значения, регистрируемые термодатчиками самого стерилизатора, расположенными внутри камеры, на основании которых были построены статистические карты Шухарта: карты среднего ($\bar{X}$) и размахов (R).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы *STATISTICA* (Ver.8.0), StatSoft Inc. (США), результаты измерений подвергали дисперсионному анализу, который является общепризнанным инструментом для оценки и выявления различий, имеющихся среди нескольких групп экспериментальных данных, сравнение дисперсий проводили с помощью критерия Фишера (F-критерий) [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было экспериментально подтверждено достижение требуемой температуры в стерилизаторе и определен ее допустимый разброс в различных точках рабочего пространства стерилизатора с помощью химического (термотестами) и физического (термодатчиками самого стерилизатора) методов (рисунок 1) [6].

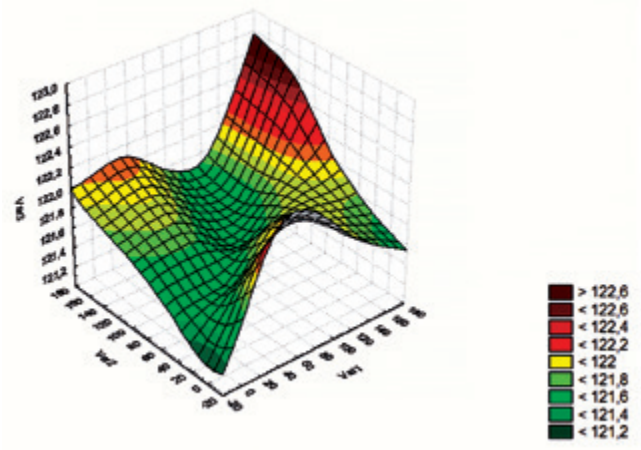


Рисунок 1. Распределение температуры в стерилизационной камере

Для сравнения однородности температур на трех уровнях стерилизационной камеры были использованы данные, полученные при измерении температуры термометрами ртутными максимальными. Термометры были пронумерованы и размещены в контрольных точках на трех различных уровнях камеры парового стерилизатора в соответствии со схемой (рисунок 2).

По окончании цикла стерилизации показания максимальных термометров были зарегистрированы и сопоставлены между собой и с номинальной температурой стерилизации (рисунок 3).

Вариации по трем уровням составили 0,51; 0,93; 0,51 при среднем значении по всем группам 121,79 °С.

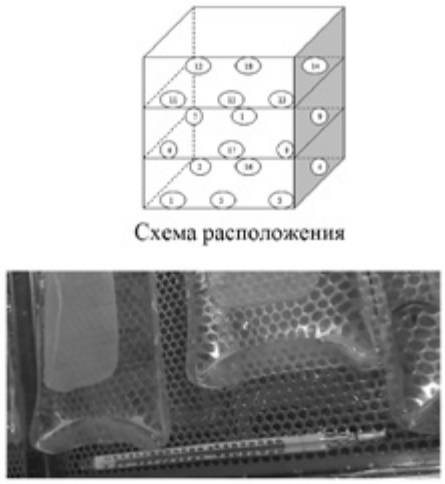


Рисунок 2. Схема локализации термометров в стерилизационной камере

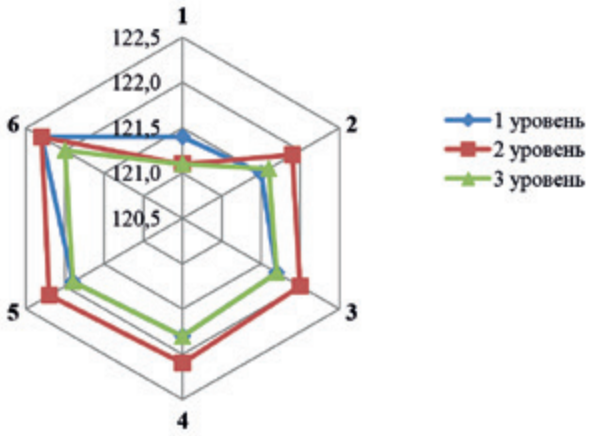


Рисунок 3. Значения средних температур на каждом из трех уровней стерилизационной камеры

Полученные данные указывают на отсутствие статистически значимых различий между значениями, что позволяет сделать вывод о равномерном распределении температуры на трех уровнях внутри самой стерилизационной камеры (таблица 1).

Таблица 1.

Дисперсионный анализ результатов испытания (сравнение температур на трех уровнях стерилизатора)

SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	Df Error	MS Error	$F_{эксп}$	p
0,1944	2	0,0972	1,9550	15	0,1303	0,7459	0,491

Примечание: SS Effect – мера факториальной изменчивости; df Effect – число степеней свободы факториальной изменчивости; MS Effect – дисперсия факториальной изменчивости; SS Error – мера остаточной изменчивости; df Error – число степеней свободы остаточной изменчивости; MS Error – дисперсия остаточной изменчивости; F – критерий Фишера, $F_{табл}$ – 3,68; p – уровень значимости (α=0,05).

Системой **PACS** (Programmable Autoclave Control System – программируемая система управления автоклавом) в процессе стерилизации инфузионных растворов регистрируется четыре значения температуры: внутренней поверхности камеры, внутренней среды камеры и двух датчиков загрузок (на среднем уровне входа и выхода продукции из камеры) (рисунок 4).

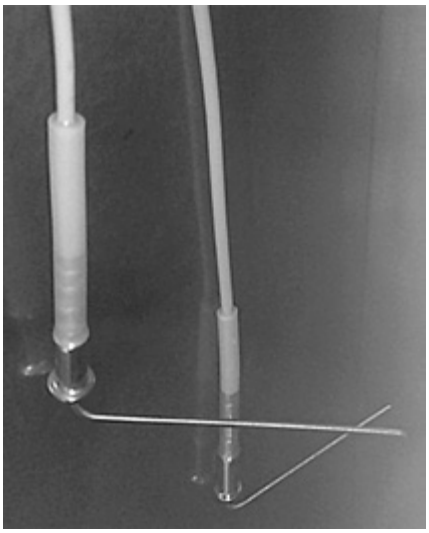


Рисунок 4. **Термодатчики загрузок стерилизатора GEC 91425AR-2**

Для объективной оценки сняли показатели температуры, регистрируемые термодатчиком внутри камеры, с графиков стерилизации растворов натрия хлорида 0,9% – 200,0 мл, на 1, 5, 10, 15, 20-й мин стерилизации в 25 однородных сериях (объем серии 2300 контейнеров), изготовленных в течение первого полугодия 2014 года в ГУП «Сахамедпром», г. Якутск (рисунок 5).

Далее на основании полученных данных построены контрольные X- и R-карты Шухарта (рисунки

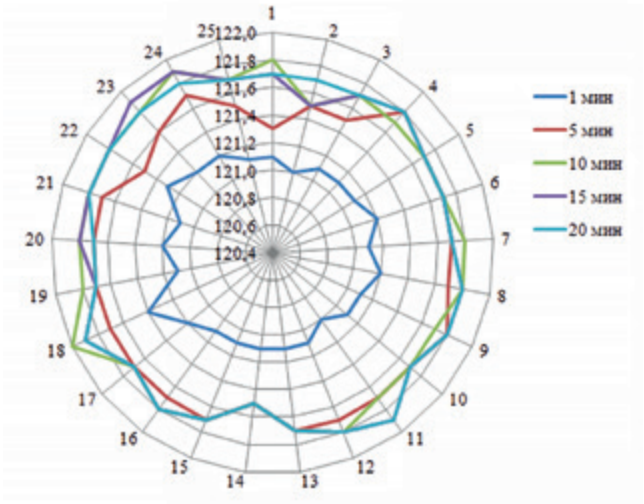


Рисунок 5. **Варьирование значения температуры стерилизации в течение 25 циклов**

6, 7). Для каждой из 25 подгрупп определили следующие характеристики: среднее арифметическое подгруппы X и размах подгруппы R, а также выборочное стандартное отклонение S. Поскольку карта Шухарта представляет график значений определенных характеристик подгрупп в зависимости от их номеров, она имеет центральную линию (CL), соответствующую эталонному значению характеристики (в нашем случае это 121,1 °C), и две статистически определяемые контрольные границы относительно центральной линии, которые называются верхней контрольной границей (UCL) – 121,94 °C и нижней контрольной границей (LCL) – 120,26 °C (при σ=0,28) [4].

На графике видно, что уровень регистрируемой температуры не выходит за пределы допустимых границ, однако находится выше средней линии.

Для R-карты центральная линия CL – 0,651, UCL – 1,377, LCL отсутствует, так как n<7, n – число выборочных наблюдений подгруппы (в нашем случае – 5).

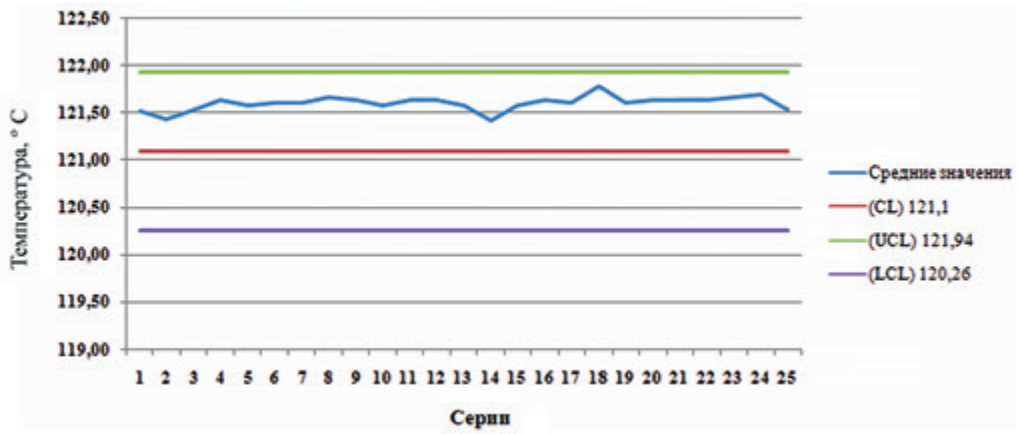


Рисунок 6. **Статистическая X-карта Шухарта**

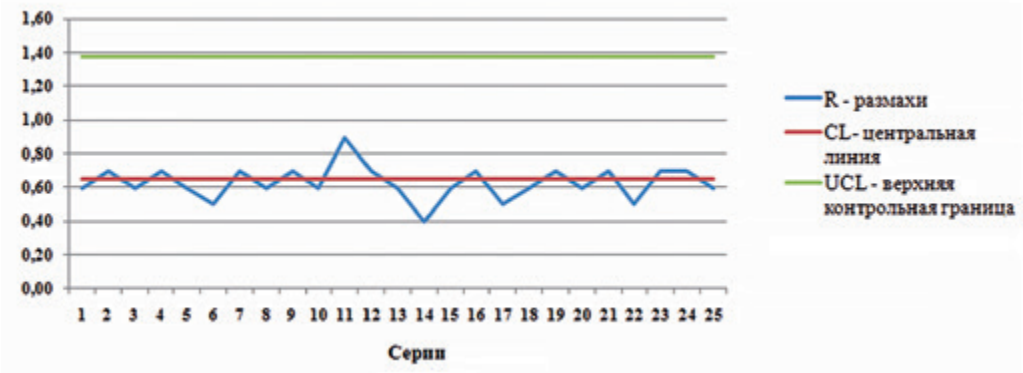


Рисунок 7. **Статистическая R-карта Шухарта**

Анализ R-карты также показал, что процесс находится в состоянии статистической управляемости.

Определение индекса возможности процесса PCI (Process Capability Index) проводили по формуле:

$$PCI = \frac{UCL - LTL}{6\sigma},$$

где *UCL* – верхняя контрольная граница, °С; *LTL* – нижняя контрольная граница, °С; σ – оцененное внутригрупповое стандартное отклонение процесса.

$$\sigma = \frac{0,632}{2,326} = 0,2715943,$$

$$PCI = \frac{121,94 - 120,26}{6 \cdot 0,2715943} = 1,031.$$

Поскольку PCI больше 1, то возможности процесса можно считать приемлемыми, т.е. процесс находится в статистически управляемом состоянии. Однако, учитывая, что все точки на X-карте расположены выше средней линии, необходима незначительная корректировка температурного режима.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Управление качеством выпускаемой продукции, обеспечение и гарантии ее соответствия регламентируемым параметрам обеспечиваются стабильностью технологического процесса. Проведенные исследования позволили получить объективные доказательства соответствия параметров процесса стерилизации – постоянства температуры в процессе стерилизации на уровне 121,1 °С и равномерного распределения температуры в различных точках рабочего пространства стерилизатора GEC 91425AR-2 – в ГУП «Сахамедпром» (г. Якутск) при производстве инфузионных лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Е. Федотов. Производство стерильных лекарственных средств. – М.: АСИНКОМ, 2012. 400 с.
2. Стерилизатор GetingeGEC 91425 AR-2. Руководство по эксплуатации.
3. А.М. Ершов, В.А. Гроховский, А.А. Маслов, А.В. Власов, А.В. Кайченов. Исследование влияния неоднородности температурного поля при продувке стерилизационной камеры автоклава на различие стерилизующих эффектов в банках // Вестник МГТУ. 2009. Т. 12. № 1. С. 52–57.
4. ГОСТ Р 50779.42-99 (ИСО 8258-91). Статистические методы. Контрольные карты Шухарта. Утв. постановлением Госстандарта России от 15 апреля 1999 г. № 127.
5. О.Ю. Реброва. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. – М.: МедиаСфера, 2010. 312 с.
6. Я.И. Абрамова, В.С. Чучалин, В.А. Братчикова. Контроль параметров температурного режима стерилизации // Новая наука: опыт, традиции, инновации. Международное научное периодическое издание по итогам Международной научно-практической конференции (24 ноября 2015 г. г. Стерлитамак). – Стерлитамак: РИЦ АМИ, 2015. С. 124–126.

УДК 57.085.2

1 – Научно-образовательный интернет-ресурс «ЭкспертБИОТЕХ», http://expert-biotech.com

2 – Экспериментальное биотехнологическое производство, Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, 123098, Россия, г. Москва, ул. Гамалеи, 18

1 – Research-Educational Internet Portal «ExpertBIOTECH», http://expert-biotech.com

2 – Experimental Biotech Facilities, N.F. Gamaleya Research Center of Epydemiology and Microbiology, Ministry of Health, 18, Gamaleya str., Moscow, 123098, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail:
dmitriy.gusarov@expert-biotech.com

СОЗДАНИЕ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК CHO

Д.А. Гусаров[1]*, А.И. Государев[2], В.Д. Гусарова[2], Д.В. Бырихина[2], Ф.М. Ижаева[2]

Резюме. В статье обсуждается разработка технологии получения фолликулостимулирующего гормона, использующегося при лечении бесплодия, в культуре яйцеклеток китайского хомячка. В рамках создания технологической платформы получения гормона был оптимизирован биопроцесс в биореакторе волнового типа. Изучен ряд параметров, влияющих на биопроцесс: оптимальная клеточная плотность, концентрация метаболитов, сдвиг температуры и его продолжительность.

Ключевые слова: биопроцесс, клеточные линии, апстрим-процесс, фолликулостимулирующий гормон.

THE DEVELOPMENT OF A PRODUCTION SCALE TECHNOLOGY OF RECOMBINANT FOLLICLE STIMULATING HORMONE BIOPROCESS IN CHO CELL LINE

D.A. Gusarov[1]*, A.I. Gosudarev[2], V.D. Gusarova[2], D.V. Byrikhina[2], F.M. Izhaeva[2]

Abstract. The article discusses the development of a production technique for recombinant follicle-stimulating hormone used in the treatment of infertility, in the culture of Chinese hamster ovary cells. As part of the creation of the technological platform receiving hormone the bioprocess in wave-induced motion bioreactor has been optimized. A number of parameters that influence on the bioprocess was studied, as follows: optimal cell density, concentration of metabolites, temperature shift and its duration.

Keywords: bioprocess, cell line, upstream process, follicle stimulating hormone.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема бесплодия в России является одной из актуальных проблем здравоохранения. По оценкам специалистов, каждая шестая пара в нашей стране является бесплодной [1]. Поиск решения данной проблемы идет как в направлении клинических вопросов (создание новых лекарственных препаратов, новых схем лечения), так и в области эмбриологии (новые среды и методы культивирования эмбрионов, новые приборы и оборудование).

Одними из перспективных препаратов для терапии бесплодия являются препараты на основе фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), которые используются для лечения бесплодия у женщин начиная с середины XX века.

ФСГ – гликопротеиновый гормон, относящийся к группе питуитарных гормонов (гонадотропинов), продуцируемых передней долей гипофиза [2, 3]. Все гонадотропины являются димерными белками, состоящими из двух неодинаковых гликопротеиновых субъединиц, связанных нековалентно. α-субъединица состоит из 92 а.о., в том числе 12 остатков цистеина, образующих 5 дисульфидных связей в положении 7-31, 10-60, 28-82, 32-84 и 59-87 (рисунок 1) [4]. Два N-связанных олигосахарида α-субъединицы располагаются при остатках аспарагина в положении 52 и 78. Гормонспецифичная β-субъединица ФСГ состоит из 111 аминокислот, имеет шесть дисульфидных связей в положении 3-51, 17-66, 20-104, 28-82, 32-84, 87-94 соответственно [5]. Изоэлектрическая точка колеблется (в силу вариабельности гликозидного фрагмента) в диапазоне от 5,5 до 3,8 [6].

Применение методов рентгеноструктурного анализа позволило определить пространственную структуру субъединиц ФСГ. Пространственные конформации как α-, так и β-субъединиц имеют схожую топологию, для которой характерным фрагментом является «цистиновый узел». Он образован тремя дисульфидыми связями:

Рисунок 1. Аминокислотная последовательность рекомбинантного ФСГ человека. Красным цветом отмечены остатки цистеинов: одиннадцать дисульфидных связей

связь между остатками Cysα10 (β3) и α60 (β51) проходит через кольцо, образованное двумя дисульфидными мостиками между остатками Cys 28-82 и Cys 32-84 (остатки цистина как α-, так и β-субъединицы одинаковы). Рядом с «цистиновым узлом» располагаются три β-шпильки, две из которых заканчиваются β-витками на одном конце молекулы (петли αL1 и αL3), в то время как третья шпилька образует более открытую петлю (βL2) на противоположном конце (рисунок 2) [7, 8].

Рисунок 2. Пространственное строение субъединиц ФСГ

Гликозидный фрагмент ФСГ составлен остатками шести сахаров: фруктозы, галактозы, галактозамина, глюкозамина, маннозы и сиаловой кислоты. Два сайта связывания гликозидных остатков расположены в β-субъединице при 7 и 24 остатках аспарагина, в α-субъединице при 52 и 78 остатках аспаргина. Строение углеводных участков гетеродимера является вариабельным, может существовать в форме разветвленных цепей, которые завершаются остатками сиаловой кислоты (рисунок 3).

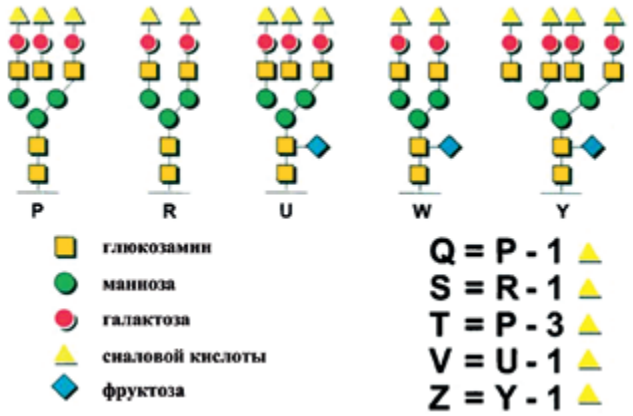


Рисунок 3. Структура боковых гликозидных цепей, связанных с α- и β-субъединицами в ФСГ человека

Причем различие в содержании остатков сиаловой кислоты в молекуле ФСГ играет основную роль в определении времени жизни гетеродимера: более кислые изоформы ФСГ (с большим содержанием остатков сиаловой кислоты в углеводном фрагменте) отличаются большим временем жизни и более высокой биологической активностью по сравнению с менее кислыми изоформами. Это связано с тем, что менее кислые изоформы гетеродимера обладают большей тропностью к асиалогликопротеиновым рецепторам плазматической мембраны печени и почек и, связываясь с ними, исключаются из циркуляции в организме человека. Различие в углеводной структуре ФСГ, и прежде всего в гормонспецифичной β-субъединице, определяет биологическую активность ФСГ и специфическое связывание с рецептором.

Цель исследования – разработать и оптимизировать биопроцесс получения ФСГ в клетках CHO.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалась модифицированная культура клеток CHO-K1 (Invitrogen, для исследовательских целей), генетически запрограммированная на биосинтез фолликулостимулирующего гормона в ходе двухфазного биопроцесса (фаза биосинтеза индуцировалась термическим шоком на фазе роста в оптимальной клеточной плотности [9]).

Посевную культуру выращивали на колбах Эрленмайера в инкубаторе BINDER CB 53 (Binder, Германия) в течение нескольких дней до получения посевного материала в количестве четырех колб по 120 мл в каждой со средней плотностью 2 млн кл./мл.

BINDER CB 53

Затем посевной материал переводили в биореактор волнового типа WAVE Bioreactor System 20/50 (GE Lifescience, Швеция) и выращивали при стандартных условиях на питательной среде Lonza ProCHO (Lonza, Швейцария) до клеточной плотности 4 млн кл./мл.

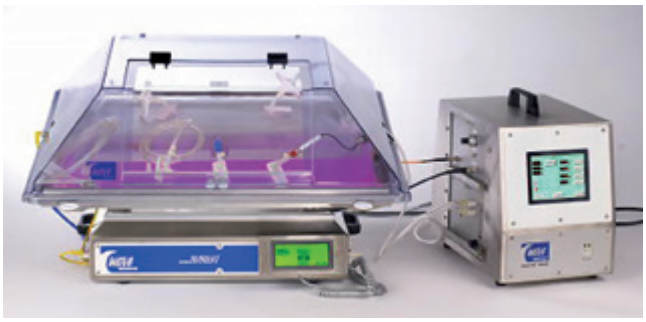


Рисунок 4. Биореактор волнового типа производства GE Lifescience

Вторую фазу процесса (биосинтез) индуцировали снижением температуры в биореакторе до 31 °C. Организовывали стерильную внешнюю перфузию.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биопроцесс вели в три этапа: выращивали посевной материал в колбах; засевали одноразовый биореактор материалом из колб и продолжали выращивание культуры в биореакторе; снижали температуру в биореакторе для инициирования производственной фазы. На первом этапе по результатам FMEA высокоприоритетным параметром является конечная плотность живых клеток (VCD), используемая для посева биореактора. Этот параметр влияет сразу на два показателя – время достижения оптимальной плотности в ростовой фазе и содержание ФСГ в среде на старте и в конце производственной фазы. Как видно из представленных данных, при низкой VCD рост имеет значительную log-фазу, что отражается на времени достижения оптимальной плотности (рисунок 5). Оптимальная конечная VCD в колбах лежит в диапазоне 2±0,5 млн кл./мл – при такой плотности удавалось получить максимальный титр белка на производственной фазе в биореакторе. Это, по-видимому, связано с тем, что секреторный ФСГ производится в некотором количестве и в ростовой фазе, накапливаясь в среде, и поэтому производственная фаза в оптимальной плотности запускается уже с некоторым количеством белка, пропорциональным количеству живых клеток. Также эта версия подтверждается тем, что как на старте, так и в конце производственной фазы зависимость титра ФСГ от конечной VCD в колбах (а следовательно, стартовой VCD в биореакторе) изменяется практически одинаково. В дополнение благодаря этому опыту удалось определить и оптимальную VCD в конце производственной фазы, которая с учетом времени удвоения культуры 22–24 ч была равна 3,5±0,5 млн кл./мл.

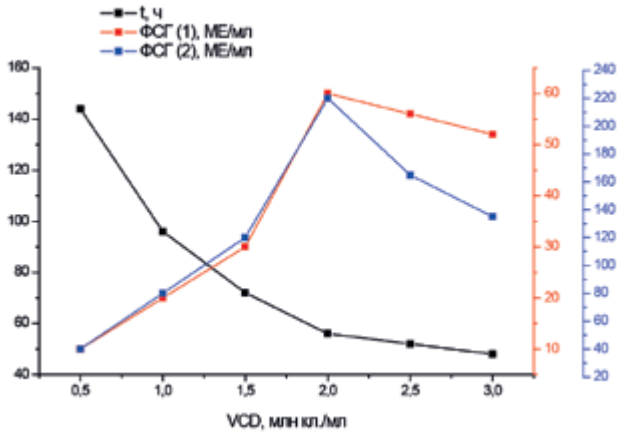


Рисунок 5. Зависимость времени достижения оптимальной клеточной плотности в биореакторе и титра ФСГ на старте (1) и в конце (2) производственной фазы от плотности живых клеток в колбах (посевной материал)

Высокоприоритетные параметры, такие как DO и скорость перемешивания, были запрограммированы в каскаде, так как являются взаимозависимыми; каскад программировался на достижение оптимальной плотности культуры при минимальном (30%) содержании воздуха в биореакторе. Кроме того, мы оптимизировали и другие высокоприоритетные па-

раметры, такие как pH среды, накопление метаболитов (лактатов) и продолжительность температурного сдвига. Для этого был разработан экспрессный офлайн-метод контроля содержания лактатов в среде с помощью СВЭЖХ (UPLC). Определение занимает всего 8 мин. Валидация метода была проведена в соответствии с требованиями ICH Q2(R1).

Как видно из представленного графика, pH в диапазоне от 6,5 до 7,5 (изменялся с помощью углекислого газа и гидроокисида натрия) не имеет достоверного влияния на клеточную плотность, однако значительно влияет на накопление белка в среде (рисунок 6).

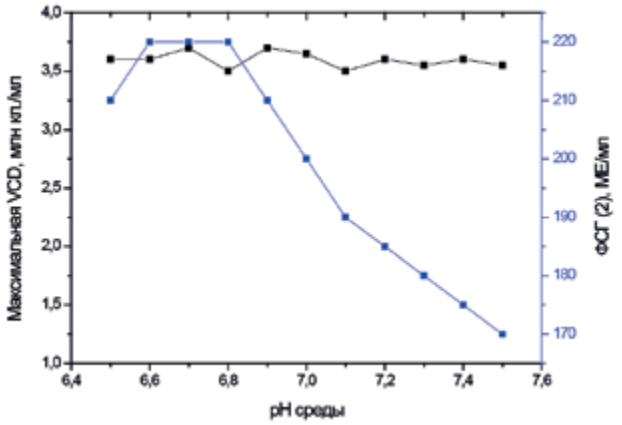


Рисунок 6. Влияние pH среды на максимальную VCD и конечный титр ФСГ в производственной фазе

Возможно, это объясняется тем, что оптимальный гликозилированный профиль ФСГ, состоящий из кислых остатков (в основном из сиаловой кислоты), синтезируется в кислых условиях среды, когда накапливаемые лактаты могут потребляться клетками. В то же время накапливаемые в слабоосновных условиях лактаты клетками не потребляются, что видно из данных, представленных на рисунке 7.

Сдвиг температуры (снижение температуры на несколько градусов относительно «ростовой» температуры, 37 °C) стрессирует клетки, заставляя их производить больше белка. Сдвиг температуры и его продолжительность очень сильно влияли на титр ФСГ, что видно из представленного графика (рисунок 8). Оптимальным режимом производственный фазы оказался сдвиг на 6 градусов в течение 24–32 ч. Более длительный сдвиг апоптировал клетки, что приводило к снижению титра.

Для подтверждения эквивалентности ФСГ, полученного в нашей лаборатории, были выбраны следующие методы:

1. SDS-PAGE;

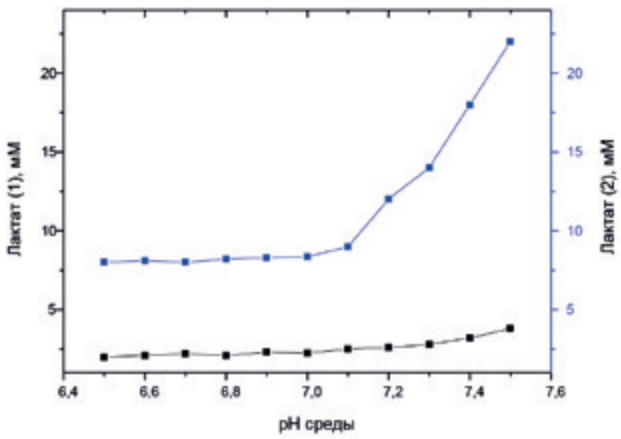


Рисунок 7. Накопление лактатов на 48-й час биопроцесса в ростовой (1) и производственной (2) фазах в зависимости от значения pH среды

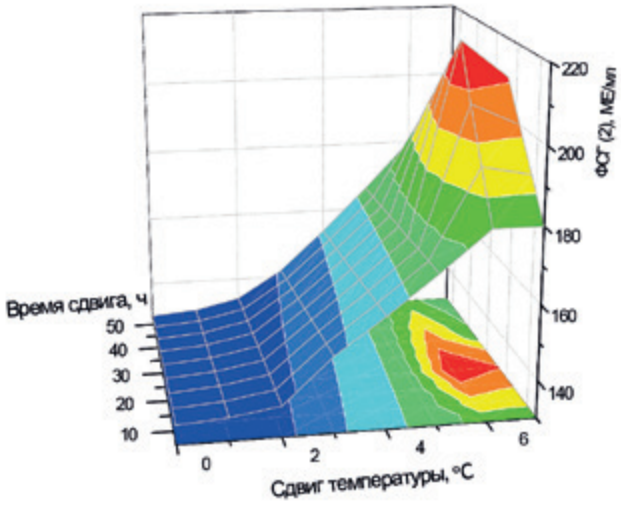


Рисунок 8. Влияние сдвига температуры и его продолжительности на титр ФСГ в конце производственной фазы

2. изоэлектрофокусирование.

В обоих случаях сравнение проводили с коммерческим препаратом «Гонал-Ф» («Сероно С.А.», Франция).

1. SDS-PAGE.

Сравнивали ФСГ нашего производства и «Гонал-Ф» с помощью SDS-PAGE на пятикратной увеличенной нагрузке на дорожку (окрашивание серебром).

Как видно из электрофореграммы (рисунок 9), молекулярная масса (точнее, электрофоретическая подвижность в условиях SDS-PAGE) обоих препаратов идентична.

2. Изоэлектрофокусирование.

Определение изоэлектрической точки крайне важно для гликозилированных белков. Мы сравни-

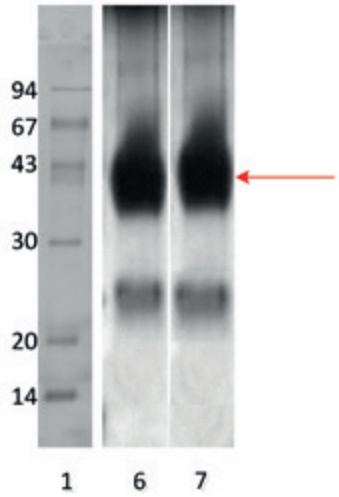


Рисунок 9. SDS-PAGE ФСГ нашего производства (линия 6) и в составе коммерческого препарата «Гонал-Ф» (линия 7). Линия 1 – стандарты молекулярных масс (LMW), слева указаны значения масс в кДа

вали pI нашего образца с pI коммерческого препарата «Гонал-Ф». Как и ожидалось, оба препарата давали мультиплетные полосы в диапазоне pH от 3,5 до 5,5, что говорит об одинаковом профиле гликозилированности обоих белков (рисунок 10).

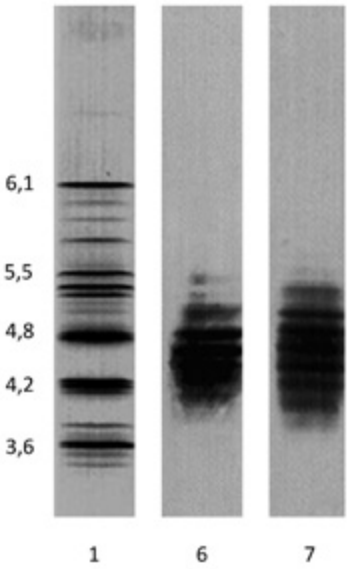


Рисунок 10. Изоэлектрофокусирование ФСГ нашего производства (линия 6) и в составе коммерческого препарата «Гонал-Ф» (линия 7). Линия 1 – стандарты изоэлектрических точек, слева указаны значения pI

Таким образом, можно говорить о практически полной эквивалентности ФСГ, полученного по разработанной нами технологии, и ФСГ в составе коммерческого препарата «Гонал-Ф».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Был разработан биопроцесс получения ФСГ в биореакторе волнового типа. Синтезированный гормон после выделения из культуральной жидкости подвергали многостадийной очистке с целью получения активной фармацевтической субстанции (АФС). Так как ФСГ, технология получения которого нами разработана, является биоаналогом, то его эквивалентность может быть подтверждена путем сравнения с коммерческим препаратом «Гонал-Ф».

ЛИТЕРАТУРА

1. Планирование семьи в России. URL: http://demoscope.ru/weekly/2010/0409/tema05.php#_FNR_17 (дата обращения 20.04.2016).
2. Е.К. Курбанова, Т.Ю. Чулкова, Д.В. Бырихина, А.О. Дано, В.А. Николаева, Д.А. Гусаров. Фарма-2020. Технологические аспекты производства некоторых ЖНВЛП и стратегических лекарственных средств // Биофармацевтический журнал. 2012. Т. 4(3). С. 21-45.
3. И.А. Скрылева, А.В. Исеркапов, Е.В. Воронина, Д.А. Гусаров, В.И. Швец. Разработка концепции стадии up-stream процесса получения фолликулостимулирующего гормона // Биофармацевтический журнал. 2013. Т. 5(2). С. 22–26.
4. Glycoprotein hormones alpha chain. URL: http://www.uniprot.org/uniprot/C0KRQ8. (дата обращения 20.04.2016).
5. Follitropin subunit beta. URL: http://www.uniprot.org/uniprot/P01225. (дата обращения 20.04.2016).
6. A. Ulloa-Aguirre, P. Damián-Matsumura, M. Jiménez, E. Zambrano, V. Díaz-Sánchez. Biological characterization of the isoforms of urinary human follicle-stimulating hormone contained in a purified commercial preparation // Hum Reprod. 1992. V. 7(10). P. 1371–1378.
7. K. M. Fox, J. A. Dias, P. Van Roey. Three-dimensional structure of human follicle-stimulating hormone // Molecular Endocrinology. 2001. V. 15(3). P. 378–389.
8. Human Follicle Stimulating Hormone. URL: http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1FL7. (дата обращения 20.04.2016).
9. Д.В. Бырихина, Д.А. Гусаров, Ю.Н. Новиков. QbD в оценке биопроцесса. Применение методов анализа рисков (FMEA) в работе с одноразовыми биореакторами // Биофармацевтический журнал. 2013. Т. 5(6). С. 10–19.

В новом издании обсуждаются ключевые направления развития биофармацевтической отрасли как в нашей стране, так и зарубежом

В книге находят отражение вопросы разработки и внедрения технологии получения лекарственных соединений из биопродуцентов, проектирования и обеспечения качества биофармацевтической продукции посредством внедрения принципа Quality by Design, выбора технологического и аналитического оборудования для биофармы, а также описаны стандартные решения, ускоряющие разработку и делающие технологические процессы эффективнее и производительнее

www.phct–group.com
info@phct–group.com

+7 (495) 252–00–98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)

8 800 333–42–24
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК
ПО РОССИИ 24 ЧАСА)

При поддержке

Pharmcontract® group of companies

В сотрудничестве

GE Healthcare

УДК 57:577.218

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧИСТОТЫ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИИ

Е.В. Семина[1]*, П.С. Климович[1], А.О. Долинкин[1], Е.В. Парфенова[1], К.А. Рубина[1]

1 – ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», факультет фундаментальной медицины, кафедра биохимии и молекулярной медицины, 119192, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, 31, к. 5

1 – Department of Biochemistry and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, M.V. Lomonosov Moscow State University, 31/5, Lomonosovsky av., Moscow, 119192, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: e-semina@yandex.ru
Тел.: 8 (495) 932 99 24

Резюме. На сегодняшний день для лечения ишемий перспективными являются технологии, стимулирующие рост новых кровеносных сосудов и их стабилизацию, а также регулирующие траекторию роста сосудов. Данные технологии представляют собой терапевтический ангиогенез и являются основополагающими в бурно развивающейся регенеративной медицине. В данной работе описана разработка и валидация методики определения специфических примесей (чистоты) генотерапевтического препарата методом электрофореза в агарозном геле с последующей денситометрией электрофореграммы. Данный препарат разработан для лечения ишемии нижних конечностей и является комбинированным препаратом, содержащим смесь плазмидных ДНК, кодирующих ген фактора роста гепатоцитов и ген ангиопоэтина-1.

Ключевые слова: регенеративная медицина, регенерация, генотерапевтический препарат, генная терапия, валидация методики, рестрикция, электрофорез.

FEATURES OF QUALITY ASSESSMENT AND STANDARDIZATION PROSPECTS OF FATTY OILS AND OIL EXTRACTS FOR PHARMACEUTICAL PURPOSES (REVIEW)

E.V. Semina[1]*, P.S. Klimovich[1], A.O. Dolinkin[1], E.V. Parfenova[1], K.A. Rubina[1]

Abstract. Today technologies stimulating growth and stabilization of new blood vessel, regulating trajectory of vascular growth are promising for the treatment of ischemia. These technologies represent a therapeutic angiogenesis. Its are essential in the rapidly developing regenerative medicine. In the present work we describe the development and validation methods for determining the specific impurities (purity) gene therapeutic drug using the electrophoresis method in agarose gel followed by densitometry of electrophoretogram. This drug is designed for the treatment of lower limb ischemia. This drug is a combination preparation containing a mixture of DNA plasmid encoding the gene of hepatocyte growth factor and gene of Angiopoietin-1.

Keywords: regenerative medicine, regeneration, gene therapy drug, validation of method, restriction, electrophoresis.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания, связанные с ишемией миокарда, головного мозга и нижних конечностей, в том числе в сочетании с сахарным диабетом, относятся к наиболее значимым причинам смертности и инвалидизации населения России [1]. В последние годы отмечается рост заболеваний, связанных с инфарктом миокарда и ишемией конечностей, особенно среди лиц молодого и среднего возраста. Существующие хирургические методы применимы только для части больных, а консервативные методы лечения неэффективны у значительной части тяжелых больных. В этой связи, помимо медикаментозной терапии, эндоваскулярной и хирургической реваскуляризации, активно ведутся разработки принципиально новых технологий. Целью этих технологий является индукция роста новых кровеносных сосудов, их стабилизация и контроль траектории роста. Эта стратегия названа терапевтическим ангиогенезом и является одной из основополагающих технологий бурно развивающейся регенеративной медицины [2].

В настоящее время на кафедре биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ проводится фармацевтическая разработка комбинированного генотерапевтического лекарственного препарата для лечения ишемии нижних конечностей на основе невирусных плазмидных конструкций, несущих гены факторов роста. Препарат представляет собой раствор для внутримышечного введения и содержит в качестве действующих веществ две невирусные плазмидные ДНК, содержащие оптимизированные гены фактора роста гепатоцитов (HGFopt) и ангиопоэтин-1 (AGPopt).

После введения препарата в поврежденную ткань происходит экспрес-

сия трансгена в течение одной-двух недель, что обеспечивает высокий уровень продукции факторов роста в ткани-мишени. При этом фактор роста гепатоцитов (HGF) является фактором роста, индуцирующим ангиогенез, и антиапоптотическим фактором, а ангиопоэтин-1 участвует в стабилизации вновь образованных сосудов, уменьшает их проницаемость и обладает противовоспалительной активностью [3–5]. Преимуществом разрабатываемого препарата является то, что он обеспечивает увеличение продукции сразу двух факторов роста в ткани-мишени. В результате препарат обеспечивает комплексное воздействие на ключевые процессы, необходимые для регенерации органов и тканей: индуцирует формирование функционально зрелых сосудов, оказывает антиапоптотическое действие, способствующее выживанию клеток. Имеющиеся у коллектива авторов предварительные данные, а также результаты использования комбинированной генной терапии на моделях ишемии тканей у животных *in vivo* показывают ее значительное преимущество в плане эффективности по сравнению с моногенной терапией [6]. Применение препарата может представлять собой альтернативу хирургическому вмешательству, или препарат может быть использован в сочетании со стандартными хирургическими методами, направленными на предотвращение дегенеративных процессов и улучшение кровоснабжения, что позволит восстановить функцию органа или ткани. Выход генотерапевтического препарата, оказывающего комплексное воздействие на регенеративные процессы, на отечественный рынок сделает возможным оказание современной высокоэффективной помощи больным ишемией нижних конечностей, внесет существенный вклад в снижение смертности и повышение качества жизни населения.

Процесс производства препарата включает в себя стерилизующую фильтрацию и асептический розлив фармацевтической субстанции, представляющей собой раствор, содержащий смесь плазмид с суммарной концентрацией 1 мг/мл в изотоническом растворе хлорида натрия. Получение плазмид осуществляют с помощью стандартной технологии и оборудования, применяемых для решения подобных задач в генной инженерии.

Качество лекарственного препарата обеспечивается валидированным процессом производства, а также контролем в соответствии с проектом нормативной документации (НД) по всем показателям. Поскольку генотерапевтический препарат является оригинальной разработкой и в фармакопеях не описан, стандартные фармакопейные методики контроля качества, в том числе для оценки чистоты, для него отсутствуют.

При выборе и разработке методик контроля качества были приняты во внимание рекомендации Управления по контролю качества продуктов и лекарственных средств США (FDA) по использованию плазмидных векторов в генной терапии, в частности требования к чистоте и качеству препаратов плазмидной ДНК, предназначенных для использования в качестве лекарственных средств или вакцин [7].

В процессе производства препарата возможно образование родственных примесей и продуктов деградации плазмидных ДНК. К технологическим относятся примеси, образующиеся в результате производственного процесса, например компоненты клеток-продуцентов (белки клетки-хозяина, ДНК клетки-хозяина), компоненты культуральной среды или компоненты систем очистки, компоненты питательной среды, реактивы, растворители. В связи с этим в препарате предлагается контролировать содержание действующего вещества – плазмидных ДНК, а также содержание примесей. К родственным примесям в генотерапевтических препаратах относят модифицированные варианты нуклеиновых кислот, образующиеся в ходе производства и/или хранения и отличающиеся от действующего вещества по активности, эффективности и безопасности [8, 9]. Содержание специфических примесей в препарате предложено определять методом электрофореза в агарозном геле с последующей денситометрией электрофореграммы. Предлагаемая методика позволяет определить содержание действующих веществ (плазмидных ДНК), продуктов деградации, компонентов клеток-продуцентов (белки клетки-хозяина, ДНК клетки-хозяина) и других неидентифицируемых примесей.

Целью данной работы является разработка и валидация методики определения специфических примесей (чистоты) генотерапевтического препарата методом электрофореза в агарозном геле предварительно линеаризованной плазмидной ДНК в присутствии бромистого этидия с последующей денситометрией электрофореграммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование

Оценку чистоты препарата проводили с использованием камеры и принадлежностей для электрофореза Sub-Cell GT (Bio-Rad, США). Обработку электрофореграмм методом денситометрии проводили с использованием системы гель-документирования с трансиллюминатором ультрафиолетовым с длиной волны излучения 254 нм (Chemidoc MP, Bio-Rad, США), для считывания изображения с геля пластинку фотографировали встроенной цифровой CCD-камерой с высоким разрешением. Электронную фотографию пластинки агарозного геля обрабатывали с помощью

программного обеспечения Image Quant (Molecular Dynamics, США).

Взятие навесок осуществляли на весах аналитических (Sartorius 1702, Германия). Дозирование растворов осуществляли при помощи дозаторов переменного объема Eppendorf 0,5–2 мкл, Eppendorf 2–20 мкл, Eppendorf 10–100 мкл, Eppendorf 20–200 мкл, Eppendorf 200–1000 мкл, прошедших поверку по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования и имеющих погрешность не более 3% (Eppendorf AG, Германия). Используемые средства измерения зарегистрированы в Государственном реестре средств измерений [10] и имеют действительные свидетельства о поверке.

Растворы и реактивы

Натриевая соль ЭДТА для электрофореза (Sigma, E5513, США); трис(гидроксиметил)аминометан (Sigma, T1378, США); агароза (Bio-Rad, 162-0134, США); бромистый этидий (Bio-Rad, 161-0430, США); 6-кратный краситель Loading Dye (Thermo Scientific, R0611, США); кислота уксусная ледяная, х.ч.; натрия гидроксида 10 М раствор (Sigma, S0899, США); рестриктаза SacI с концентрацией 10000 ед/мл (Thermo Scientific, ER1131, США); 10-кратный реакционный буферный раствор NEB-1 для проведения реакций рестрикции (NEB, B70015, Великобритания); препарат маркеров длин фрагментов ДНК GeneRuler^{TM} DNA Ladder Mix, 100-10000 bp (Fermentas, SM0333, Литва); вода очищенная (ФС.2.2.0020.15).

Принцип метода

Рестриктаза SacI расщепляет кольцевые плазмидные ДНК, содержащие гены HGFopt и AGPopt в строго определенном месте, превращая все формы кольцевой ДНК в линейные формы размерами 6617 пар нуклеотидов (п.н.) и 5720 п.н. Содержание линейных ДНК, образующихся после обработки рестриктазой SacI, определяемое методом электрофореза в агарозном геле в присутствии бромистого этидия, должно составлять не менее 90,0%.

Приготовление растворов

В коническую пробирку вместимостью 0,5 мл при помощи ручных дозаторов вносили 16 мкл деионизированной воды, 2 мкл 10-кратного реакционного буфера NEB-1, 1 мкл раствора препарата и 1 мкл рестриктазы SacI. Пробирку помещали в сухой воздушный термостат и инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °С, затем инактивировали инкубацией при 65 °С в течение 20 минут. По окончании инкубации готовили пробирку «М» с маркерами длин фрагментов ДНК внесением 16 мкл деионизированной воды и 2 мкл препарата маркеров. В пробирку с образцами прибавляли 4 мкл концентрированного раствора утяжелителя с краской-маркером. Процесс внесения образца в лунку геля контролировали визуально, поскольку краситель придает образцу синий цвет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Электрофорез проводили в 1,4% агарозном геле в присутствии бромистого этидия в режиме стабилизации по напряжению при 80-100 В. Линеаризованные плазмидные ДНК располагались в геле в виде полос, параллельных длинным сторонам лунок.

При облучении ультрафиолетовым светом фрагменты ДНК в комплексе с бромистым этидием флуоресцировали в оранжевой области спектра. Полосы электрофореграммы, соответствующие линеаризованным плазмидным ДНК, идентифицировали, ориентируясь на расположение полос маркеров ДНК. Типичная фотография электрофореграммы испытуемого раствора препарата представлена на рисунке 1.

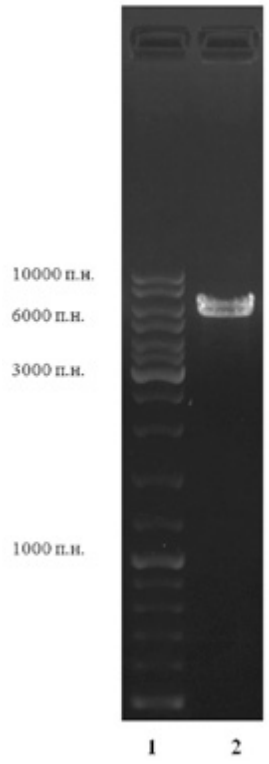


Рисунок. 1. Фотография электрофореграммы испытуемого раствора препарата.
Трек 1 соответствует раствору, содержащему маркеры длин фрагментов ДНК.
Трек 2 соответствует испытуемому раствору препарата

Обработка результатов

Обработку полученных электрофореграмм методом денситометрии проводили с использованием системы гель-документирования (Chemidoc MP, Bio-

Rad, США). Электронную фотографию пластинки агарозного геля обрабатывали с помощью программного обеспечения Image Quant (Molecular Dynamics, США), позволяющего оценивать интенсивность флуоресценции полос на треке.

Определяли суммарное значение флуоресценции (в условных единицах) полос, принадлежащих линеаризованным плазмидным ДНК, а также интегральную интенсивность флуоресценции всего трека испытуемого раствора препарата. Содержание основного вещества (*P*) в процентах рассчитывали по формуле:

$$P = \frac{I_p}{I_{total}} \cdot 100\%,$$

где I_p – суммарное значение интенсивности флуоресценции полос линейных плазмидных ДНК в условных единицах; I_{total} – суммарное значение интенсивности флуоресценции всего трека испытуемого раствора препарата в условных единицах.

Результаты анализа испытуемого раствора препарата методом электрофореза представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты оценки чистоты генотерапевтического препарата по результатам анализа методом электрофореза в агарозном геле в присутствии бромистого этидия

Параметр	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3	Среднее
I_p, у.е.	111637	110343	112065	111348
I_{total}, у.е.	121345	120863	121477	121228
P, %	92,0	91,3	92,2	91,8

Согласно результатам электрофореза содержание линеаризованных плазмидных ДНК, образующихся после обработки раствора препарата рестриктазой SacI, составило не менее 90,0%, что соответствует требованиям, предъявляемым к продуктам, полученным методами рекомбинантных технологий [7].

Для подтверждения пригодности использования разработанной методики в рутинном контроле качества генотерапевтического препарата была проведена её валидация. При планировании и проведении валидационных испытаний принимали во внимание требования, изложенные в [12–14].

В рамках валидации методики получены и обработаны результаты по параметрам: (1) специфичность, (2) линейность, (3) предел количественного определения, (4) правильность, (5) сходимость и (6) устойчивость [11].

(1) Специфичность

Для валидируемой методики определяли способность однозначно определять содержание плазмидных ДНК в присутствии плацебо – 0,9% раствора натрия хлорида.

Для оценки специфичности использовали геномную ДНК бактерий *Escherichia coli* O157 (штамм EDL 933).

Готовили следующие растворы:

- SP1. 0,9% раствор натрия хлорида;
- SP2. раствор ДНК *E. coli* O157 (EDL 933) с концентрацией 100 мкг/мл;
- SP3. испытуемый раствор препарата.

Приготовленные растворы анализировали согласно разработанной методике.

По результатам электрофореза на треках SP1 и SP2 полосы не детектируются, а на треке SP3 детектируются полосы с размером фрагментов 6617 п.н. и 5720 п.н. Результаты оценки специфичности представлены на рисунке 2.

Согласно полученным результатам предлагаемая методика обладает достаточной специфичностью для достижения удовлетворительных результатов при определении чистоты препарата.

(2) Линейность

Для исследования наличия линейной зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации линейных ДНК в пределах аналитической области методики анализировали серию растворов, приготовленных разбавлением раствора после обработки рестриктазой SacI. Диапазон концентраций линейных плазмидных ДНК в анализируемых растворах составлял от 0,025 мг/мл до 0,5 мг/мл. Электрофореграмма, полученная в рамках оценки линейности, представлена на рисунке 3.

Результаты оценки линейности методики представлены в таблице 2.

Полученные экспериментальные данные анализировали с использованием статистических методов. С использованием метода наименьших квадратов и линейной модели $y = b \cdot x + a$ (x – концентрация линейных ДНК, %; y – суммарное значение интенсивности свечения, у. е.; b – угловой коэффициент; a – свободный член) строили калибровочный график зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации линейных плазмидных ДНК. Калибровочный график представлен на рисунке 4.

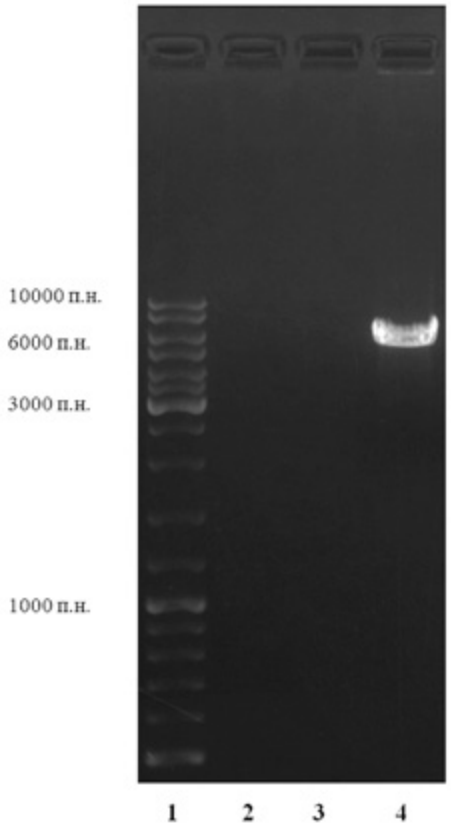


Рисунок. 2. Фотография электрофореграммы, полученная в рамках оценки специфичности.
Трек 1 соответствует раствору, содержащему маркеры длин фрагментов ДНК.
Трек 2 соответствует раствору SP1.
Трек 3 соответствует раствору SP2.
Трек 4 соответствует раствору SP3.

Результаты оценки линейности демонстрируют существование линейной зависимости между концентрацией линейных ДНК и интенсивностью флуоресценции в диапазоне концентраций от 5 до 100% от исходной концентрации испытуемого раствора [15].

(3) Правильность

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с её использованием, от значения, принимаемого за истинное [11].

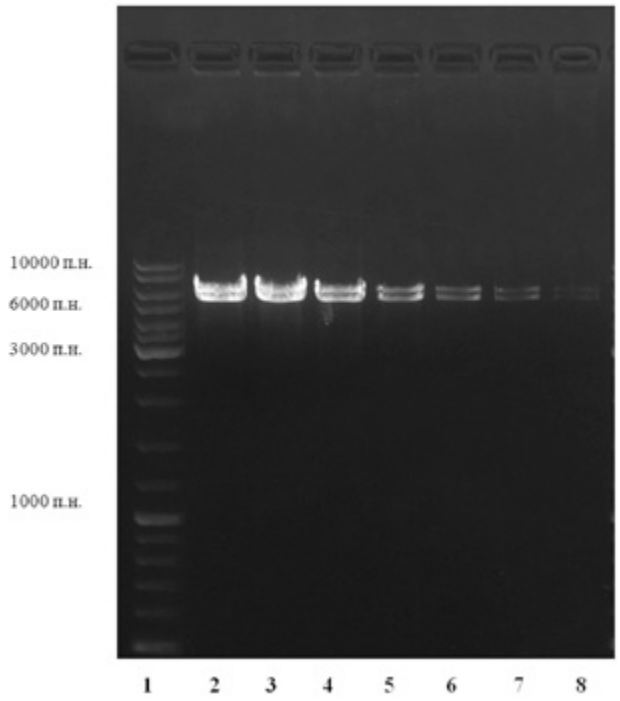


Рисунок. 3. Электрофореграмма, полученная в рамках оценки линейности методики.
Трек 1 соответствует раствору, содержащему маркеры длин фрагментов ДНК.
Трек 2 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,025 мг/мл.
Трек 3 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,05 мг/мл.
Трек 4 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,075 мг/мл.
Трек 5 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,15 мг/мл.
Трек 6 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,3 мг/мл.
Трек 7 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,45 мг/мл.
Трек 8 соответствует раствору линейных плазмидных ДНК с концентрацией 0,5 мг/мл.

Правильность валидируемой методики оценивали методом «введено – найдено» с использованием растворов, приготовленных в рамках исследования линейности. Рассчитывали процентную меру правильности. Полученные значения правильности находились в диапазоне 80–120%. Результаты оценки правильности укладываются в требуемый диапазон [13].

Таблица 2.

Результаты оценки линейности методики

Концентрация линейных ДНК, мг/мл	0,025	0,05	0,075	0,15	0,3	0,45	0,5
Концентрация линейных ДНК, %	5	10	15	30	60	90	100
Интенсивность флуоресценции, у.е.	1765	3986	5678	11256	21375	32496	36004

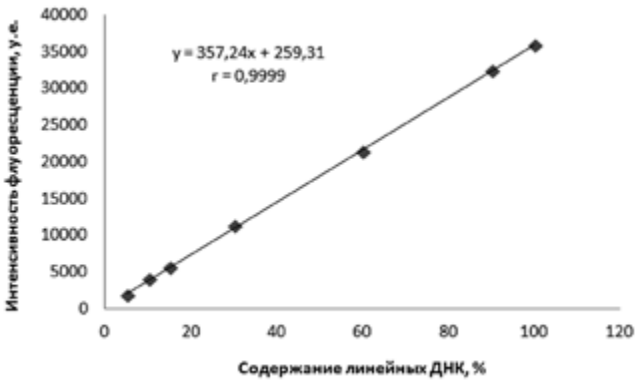


Рисунок 4. **Калибровочный график зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации линейных ДНК**

(4) Предел количественного определения

Предел количественного определения (ПКО) валидируемой методики – наименьшая концентрация линейных ДНК, которая может быть количественно определена с требуемой правильностью и прецизионностью.

Для оценки ПКО электрофореграммы, полученные при определении линейности, анализировали методом денситометрии с использованием системы гель-документирования (Chemidoc MP, Bio-Rad, США). Электронную фотографию агарозного геля обрабатывали с помощью программного обеспечения Image Quant (Molecular Dynamics, США), позволяющего проводить оценку интенсивности флуоресценции полос на треке. При этом было обнаружено, что ПКО составляет не менее 5% от исходной концентрации испытуемого раствора, что соответствует концентрации 0,025 мг/мл.

(5) Сходимость

Сходимость (повторяемость) валидируемой методики оценивали по независимым результатам, полученным в одинаковых условиях в одной лаборатории в пределах короткого промежутка времени.

Для определения сходимости готовили 6 испытуемых растворов препарата. Для всех испытуемых растворов рассчитывали среднее значение содержания плазмидной ДНК, стандартное отклонение (SD), относительное стандартное отклонение (RSD, %). Результаты оценки сходимости представлены в таблице 3.

Результаты оценки сходимости соответствуют требованию: относительное стандартное отклонение содержания плазмидной ДНК в препарате – не более 5,0% [15].

Таблица 3.

Результаты оценки сходимости валидируемой методики

Испытуемый раствор	Содержание плазмидной ДНК, %
1	94,4
2	95,5
3	92,1
4	93,8
5	95,3
6	93,0
Среднее	94,0
SD	1,2
RSD, %	1,32

(6) Устойчивость

В соответствии с ОФС.1.1.0012.15 [14] устойчивость валидируемой методики – это способность сохранять найденные для нее в оптимальных (номинальных) условиях характеристики при вероятных небольших отклонениях от условий проведения анализа.

Устойчивость валидируемой методики устанавливали по отношению к критическим параметрам пробоподготовки: времени обработки рестриктазой (16 и 20 ч соответственно), времени инкубации образца после обработки рестриктазой (анализ проводили сразу после приготовления и через 24 ч). Содержание плазмидной ДНК в испытуемых растворах отличалось не более чем на 1,7%, следовательно, валидируемая методика определения способна сохранять найденные для неё в оптимальных условиях характеристики при вероятных небольших отклонениях от условий проведения анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам валидационных испытаний предлагаемая методика определения чистоты методом электрофореза в агарозном геле удовлетворяет установленным требованиям и является пригодной для использования в рутинном контроле качества генотерапевтического препарата, содержащего плазмидные

ДНК, включающие гены HGFopt и AGPopt, по показателю «чистота».

Работа выполнена за счёт гранта Российского научного фонда (проект №14-24-00086) с использованием оборудования, приобретённого за счёт средств программы развития Московского университета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.В. Парфенова, В.А Ткачук. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы // Кардиологический вестник. 2007. № 2(2). С. 24–31.
2. К.А. Талицкий, Ю.А. Карпов, Е.В. Парфенова. Терапевтический ангиогенез в лечении ишемии нижних конечностей // Кардиология. 2007. № 12. С. 81–84.
3. L. Deveza, J. Choi, F. Yang. Therapeutic Angiogenesis for Treating Cardiovascular Diseases // Theranostics. 2012. V. 2(8). P. 801–814.
4. R. Gupta, J. Tongers, D.W. Losordo. Human Studies of Angiogenic Gene Therapy // Circ. Res. 2009. V. 105. P. 724–736.
5. R. Gupta, D.W. Losordo. Challenges in the translation of cardiovascular cell therapy // J. Nucl. Med. 2010. V. 1(51). P. 122–127.
6. Е.К. Шевченко, П.И. Макаревич, З.И. Цоколаева, В.Ю. Сысоева, А.Я. Шевелев, Н.М. Каширина, Т.Н. Власик, Е.В. Парфенова. Восстановление кровотока в ишемизированной конечности мыши с помощью плазмидных конструкций и генетически модифицированных стромальных клеток жировой ткани // Молекулярная медицина. 2011. № 4. С. 23–28.
7. Guidance for Industry: Considerations for Plasmid DNA Vaccines for Infectious Disease Indications. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), November 2007 BP. URL: http://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/vaccines/ucm091968.pdf (дата обращения 24.05.15).
8. Guideline on similar biological medicinal products. European medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. – London. 2005.
9. Guideline on similar biological medicinal products (draft). European medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. – London. 2013.
10. Государственный реестр средств измерения URL: http://fundmetrology.ru/10_tipy_si/7list.aspx (дата обращения 08.06.15).
11. Проект общей фармакопейной статьи «Валидация аналитических методик», предназначенный для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации. 13-е изд.
12. Draft guidance for industry: Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CBER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), February 2014. URL:http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM386366.pdf (дата обращения 01.06.2015).
13. ICH Harmonised tripartite guideline: Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for humanuse, Current Step 4 version parent guideline, October 1994. URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf (дата обращения 20.05.15).
14. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик // Государственная фармакопея, XIII изд.
15. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности: методические рекомендации // Под ред. Н.В. Юргеля. – М.: Спорт и Культура, 2000, 2007. 192 с.

PHARMA
Saint-Petersburg

12–14 октября 2016

Санкт-Петербург
КВЦ «ЭКСПОФОРУМ»

4-я Международная выставка лекарственных препаратов, пищевых и биологически активных добавок «ФАРМАЦИЯ»

Разделы выставки

- Лекарственные средства и вакцины
- БАДы и витаминно-минеральные комплексы
- Фармацевтические ингредиенты и ферментные препараты
- Диетические продукты

Посетители выставки

Фармацевты, заведующие аптеками, руководители медицинских центров и клиник, главные врачи, практикующие врачи лечебно-профилактических учреждений и амбулаторно-поликлинических учреждений, специалисты отдела закупок лекарственных средств

Забронируйте стенд: **pharmaexpo.ru**

Организаторы:

primexpo ITE

+7 (812) 380 60 10/00
med@primexpo.ru

В рамках:

ПМФЗ ПЕТЕРБУРГСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ ЗДОРОВЬЯ

0+

УДК 615.12

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОКСИФЛОКСАЦИНА ДЛЯ ТЕСТА «РАСТВОРЕНИЕ» МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Л.А. Меньшикова[1], А.А. Львова[2]*, И.Е. Шохин[2,3], Ю.Е. Болдина[2], Т.Н. Комаров[2], Ю.В. Медведев[1,2]

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

2 – ООО «Центр фармацевтической аналитики» (ООО «ЦФА»), 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, 20, стр. 3

3 – ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, 143442, Россия, Московская обл., Красногорский р-н, п/о Отрадное, пос. Светлые горы, владение 1

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – Center of Pharmaceutical Analytics Ltd., 20, Nauchniy Proezd, Moscow, 117246, Russia

3 – FSBIS SCBMT FMBA, 1, pos. Svetlye gory, p/o Otradnoe, Krasnogorskiy r-n, Moscow region, 143442, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: Ivovaanna1@yandex.ru

Резюме. Проведена валидация методики количественного определения моксифлоксацина. Количественное определение проводили методом УФ-спектрофотометрии. Разработанная методика была валидирована по следующим валидационным характеристикам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность, аналитическая область. По результатам исследования основные валидационные характеристики метода соответствуют критериям приемлемости, приведенным в ГФ РФ XIII, ОФС «Валидация аналитических методик».

Ключевые слова: моксифлоксацин, валидация, УФ-спектрофотометрия, тест кинетики растворения.

VALIDATION OF UV-SPECTROMETRY ASSAY METHOD FOR DISSOLUTION PROFILE TEST FOR MOXIFLOXACINE TABLETS

L.A. Menshikova[1], A.A. Lvova[2]*, I.E. Shohin[2,3], Yu.E. Boldina[2], T.N. Komarov[2], Yu.V. Medvedev[1,2]

Abstract. Validation of UV-spectrometry assay method for dissolution profile test for levofloxacine tablets was carried out. The evaluated validation characteristics were: specificity, linearity, accuracy, precision, and analytical range. It was shown than main validation characteristics meet the Russian State Pharmacopoeia XIII requirements.

Keywords: moxifloxacine, validation, UV-spectrophotometry, dissolution profile test.

ВВЕДЕНИЕ

Моксифлоксацин является антибактериальным средством группы фторхинолонов IV поколения, обладает бактерицидным действием [1, 2]. С 2012 года моксифлоксацин включён в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов [3].

При разработке и анализе лекарственных средств (ЛС) в твердых дозированных лекарственных формах важное практическое значение имеет испытание «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» (ГФ XIII, ОФС.1.4.2.0014.15) (далее – «Растворение») [4]. Данное испытание позволяет осуществлять выбор оптимального состава лекарственной формы, оценивать поведение действующего вещества при проведении сравнительных исследований *in vitro*, контролировать изменения в процессе производства, определять качество готового препарата [5].

Валидация методики – экспериментальное доказательство того, что методика обеспечивает получение необходимой и достоверной информации об объекте анализа и пригодна для практического использования. Валидация методики теста «Растворение», как и любой аналитической методики, также проводится по основным валидационным характеристикам [4, 7].

Критерии приемлемости основных валидационных характеристик теста «Растворение» различаются в разных нормативных документах (USP, ICH, АРФП), при этом лабораториям рекомендуется разработать собственную стандартную операционную процедуру по валидации теста «Растворение» на основании указанных документов [6–9]. Валидацию проводят как для собственно теста «Растворение», так и для аналитической методики количественного определения [7].

Целью данного исследования являлось проведение валидации методики количественного определения моксифлоксацина с последующей оценкой полученных результатов. Количественное определение проводили методом УФ-спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы

В качестве исследуемого соединения была взята субстанция моксифлоксацина: 1-циклопропил-6-фтор-1,4-дигидро-8-метокси-7-[(4aS,7aS)-октагидро-

6Н-пирроло[3,4-b]пиридин-6-ил]-4-оксо-3-хинолинкарбоновая кислота (в виде гидрохлорида) [2]. Структурная формула представлена на рисунке 1.

Согласно опубликованным данным моксифлоксацин относится к 1 классу БКС [11].

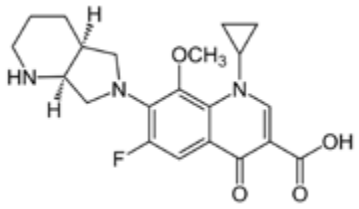


Рисунок 1. Структурная формула моксифлоксацина

Оборудование

УФ-спектрофотометр Agilent Technologies Cary 8454 UV-Vis, Agilent Technologies, США.

Agilent Technologies Cary 8454 UV-Vis

Приготовление сред растворения

0,1 М раствор хлористоводородной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносили 500 мл воды очищенной, 8,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводили объем раствора до 1000 мл водой очищенной и тщательно перемешивали.

Ацетатный буферный раствор с pH 4,5. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносили 2,99 г натрия ацетата безводного и растворяли в 200 мл воды очищенной. К полученному раствору прибавляли 14 мл 2 Н раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора до метки водой очищенной и тщательно перемешивали. Измеряли pH раствора на pH-метре, при необходимости доводили pH до 4,5 0,2 М раствором уксусной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида.

Фосфатный буферный раствор с pH 6,8. 3,40 г калия дигидрофосфата и 3,55 г натрия гидрофосфата вносили в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяли в 200 мл воды очищенной, доводили водой очищенной до метки. Измеряли pH раствора на pH-метре, при необходимости доводили значение pH до значения 6,8 раствором фосфорной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида.

Приготовление стандартных растворов

Для приготовления исходного стандартного раствора моксифлоксацина 51,0 мг субстанции помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты. Содержимое колбы перемешивали до полного растворения навески, объем раствора доводили до метки 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты и перемешивали. Концентрация приготовленного раствора приблизительно равна 0,5 мг/мл (раствор А). 5,0 мл полученного раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 200 мл, объем раствора доводили до метки соответствующей средой растворения, перемешивали. Концентрация приготовленного раствора равна 12,5 мкг/мл (раствор Б).

Стандартные растворы готовили путем разведения растворов А и Б средой растворения (таблица 1).

Таблица 1.

Приготовление стандартных растворов моксифлоксацина

Концентрация приготовленного раствора моксифлоксацина, мкг/мл	Количество компонента, мл	
	Стандартный раствор левофлоксацина	Среда растворения
1,25	2,5 (Б)	до 25
3,75	3 (Б)	до 10
6,25	10 (Б)	до 20
8,75	14 (Б)	до 20
11,25	9 (Б)	до 10
13,75	5,5 (А)	до 200
16,25	6,5 (А)	до 200

Количественное определение проводили методом УФ-спектрофотометрии. Измеряли оптическую плотность стандартных растворов на спектрофотометре в кварцевой кювете с толщиной слоя 10 мм в области максимального поглощения при длине волны 294 нм, используя в качестве раствора сравнения среду для растворения.

Программное обеспечение

Валидированная автоматическая таблица Microsoft Excel для валидации методики количественного определения;

Agilent UV-Visible ChemStation, ver. B.05.02 [15].

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ

Валидацию методики проводили согласно ГФ РФ XIII, ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», по следующим характеристикам: специфич-

ность, линейность, правильность, прецизионность (на двух уровнях: сходимость, промежуточная прецизионность), аналитическая область.

Специфичность

Для определения специфичности методики на спектрофотометре последовательно снимали спектры:

– бланка (среда растворения – 0,1М HCl; ацетатный буферный раствор с pH 4,5; фосфатный буферный раствор с pH 6,8);

– стандартного раствора моксифлоксацина с концентрацией действующего вещества 100% в приведенных средах растворения.

Определение специфичности проводили в данных средах растворения, т.к. тест «Растворение» согласно «Руководству по экспертизе лекарственных средств», т. 1 [11], проводили в трех средах, моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых происходит распад, высвобождение и абсорбция активного ингредиента (0,1 М раствор хлористоводородной кислоты; ацетатный буферный раствор 4,5; фосфатный буферный раствор 6,8).

На полученных спектрах бланков не наблюдалось поглощения в диапазоне, соответствующему максимуму поглощения моксифлоксацина в стандартном растворе с концентрацией действующего вещества 100%. Пример полученных спектров стандартного раствора моксифлоксацина и среды растворения приведен на рисунке 2.

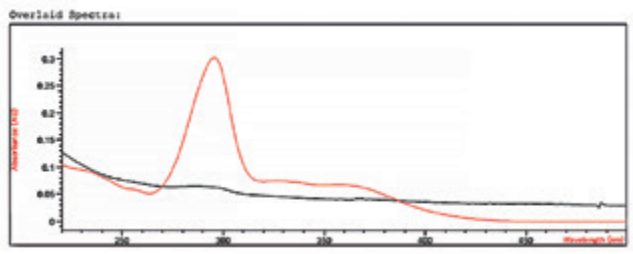


Рисунок 2. Спектры стандартного раствора моксифлоксацина с концентрацией действующего вещества 100% и среды растворения ацетатного буферного раствора с pH 4,5

Линейность

Проводили измерение оптической плотности 7 образцов стандартных растворов моксифлоксацина с концентрациями 1,25 мкг/мл, 3,75 мкг/мл, 6,25 мкг/мл, 8,75 мкг/мл, 11,25 мкг/мл, 13,75 мкг/мл, 16,25 мкг/мл. Для построения калибровочных кривых использовали линейную регрессию с нормированием 1/x. По полученным значениям был построен калибровочный график, приведенный на рисунке 3, совместно с уравнением калибровочной кривой. Коэффициент корреляции составил 0,9999.

Отклонения концентраций калибровочных растворов, рассчитанных по уравнению линейной зависимости, от фактических значений приведены в таблице 2.

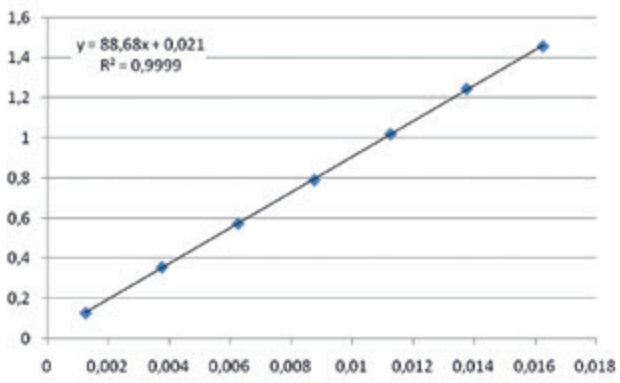


Рисунок 3. Калибровочный график зависимости оптической плотности моксифлоксацина от концентрации в растворе

Таблица 2.

Отклонения концентраций калибровочных растворов от фактических значений

Код пробы	Std 10%	Std 30%	Std 50%	Std 70%	Std 90%	Std 110%	Std 130%
$C_{факт}$, мкг/мл	1,25	3,75	6,25	8,75	11,25	13,75	16,25
$C_{рассчит}$, мкг/мл	1,23	3,80	6,24	8,69	11,27	13,81	16,21
ε, %	1,74	–1,23	0,08	0,69	–0,19	–0,47	0,27
Норма	Не более 2,00%						

Правильность и прецизионность

Проводили анализ 3 образцов стандартных растворов моксифлоксацина с концентрацией 1,25 мкг/мл, 8,75 мкг/мл, 16,25 мкг/мл. Каждый раствор измеряли на спектрофотометре 5 раз. Исследование проводили в двух последовательностях с участием двух разных аналитиков. Для полученных значений концентраций были рассчитаны величины относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительной погрешности (ε, %), приведенные в таблицах 3 и 4.

Полученные величины относительного стандартного отклонения (прецизионность) и относительной погрешности (правильность) соответствуют нормам (не более 2,00%).

Аналитическая область

Интервал между верхним и нижним значением концентрации анализируемого компонента в пробе, в рамках которого доказана приемлемая правильность, прецизионность и линейность методики, – 1,25 мкг/мл и 16,25 мкг/мл (10% и 130% соответственно).

Таблица 3.

Правильность и прецизионность (сходимость) методики

Введено (мкг/мл)	Найдено (мкг/мл)	Найдено (мкг/мл), среднее значение (n=5)	RSD, % (n=5)	ε, % (n=5)
1,25	1,27	1,24	1,57	0,74
	1,25			
	1,24			
	1,23			
	1,22			
8,75	8,63	8,69	1,35	0,59
	8,91			
	8,67			
	8,65			
	8,63			
16,25	16,24	16,19	0,39	0,33
	16,26			
	16,13			
	16,13			
	16,23			

Таблица 4.

Правильность и прецизионность (промежуточная прецизионность) методики

Введено (мкг/мл)	Найдено (мкг/мл)	Найдено (мкг/мл), среднее значение (n=10)	RSD, % (n=10)	ε, % (n=10)
1,25	1,27	1,24	1,52	0,74
	1,23			
	1,25			
	1,24			
	1,22			
8,75	8,75	8,69	1,63	0,59
	8,91			
	8,67			
	8,65			
	8,52			
16,25	16,25	16,19	0,41	0,31
	16,26			
	16,13			
	16,23			
	16,13			

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена валидация методики количественного определения моксифлоксацина методом УФ-спектрофотометрии. Разработанная методика была валидирована по следующим валидационным характеристикам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность, аналитическая область. По результатам исследования основные валидационные характеристики соответствуют критериям приемлемости. Методика может быть использована для количественного определения моксифлоксацина методом УФ-спектрофотометрии при проведении теста «Растворение».

ЛИТЕРАТУРА

1. Регистр лекарственных средств России: РЛС. Энциклопедия лекарств. URL: http://www.rlsnet.ru/ (дата обращения 16.03.16).
2. М.Д. Машковский. Лекарственные средства. 16-е изд. – М.: Новая волна, 1216 с.
3. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП). Утвержден распоряжением Правительства РФ от 7 декабря 2011 г. № 2199-р. – М. 2011.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд., ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм». – М. 2015.
5. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд., ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». – М. 2015.
6. И.Е. Шохин, Г.В. Раменская, К.С. Давыдова. Современные подходы к валидации методик испытания «Растворение» // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45. № 3. С. 92–95.
7. Тест «Растворение» в разработке и регистрации лекарственных средств. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / Под ред. И.Е. Шохина. – М.: Перо, 2015. 264 с.
8. USP 33 – NF 28. Monograph 1092 «The Dissolution Procedure: Development and Validation».
9. К.С. Давыдов, Ю.И. Кулинич, И.Е. Шохин. Тест «Растворение» в контроле качества лекарственных средств // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. 2010. № 5. С. 42–43.
10. URL: http://apps.who.int/prequal/info_applicants/BE/BW_general_2012October.pdf (дата обращения 11.11.2015).
11. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. — М.: Гриф и К., 2013. 328 с.

УДК 615.074

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ 5-[2-(3-ТРЕТ-БУТИЛАМИНО-2-ГИДРОКСИПРОПОКСИ)ФЕНОКСИМЕТИЛ]-3-МЕТИЛ-1,2,4-ОКСАДИАЗОЛА ГИДРОХЛОРИДА В ГЛАЗНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНКАХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

М.В. Большакова[1]*, М.А. Буракова[1], Б.О. Алексеев[2]

1 – ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия», 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14

2 – ООО «Научно-производственная фирма «КЕМ», 188663, Россия, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. 142

1 – SBEI HPE Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, 14, Professor Popov str., St.-Petersburg, 197376, Russia

2 – LLC «Scientific-production firm «KEM», building 142, railway station Kapitolovo, Kuzmolovsky village, Vsevolozhsk district, Leningrad region, 188663, Russia

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

Резюме. Разработана методика количественного определения 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси) феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в лекарственных полимерных пленках методом УФ-спектрометрии. Методика была валидирована по таким показателям, как правильность, специфичность, аналитическая область, линейность и сходимость. Методика может быть использована для количественного определения 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в лекарственных полимерных пленках.

Ключевые слова: валидация, количественное определение, лекарственные пленки, УФ-спектрометрия.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINING THE QUANTITATIVE CONTENT 5-[2-(3-TRET-BUTYLAMINO-2-HYDROXYPROPOXY)PHENOXYMETHYL]-3-METHYL-1,2,4- OXADIAZOLE HYDROCHLORIDE IN OCULAR DRUG FILMS FOR THE TREATMENT OF OPEN-ANGLE GLAUCOMA

M.V. Bolshakova[1]*, M.A. Burakova[1], B.O. Alekseev[2]

Abstract. Developed method for the quantitative determination of 5-[2-(3-tret-butylamino-2-hydroxypropoxy) phenoxymethyl]-3-methyl-1,2,4-oxadiazole hydrochloride in polymer drug films by UV-spectrometry. The method was validated by indicators such as accuracy, specificity, analytical area, the linearity and convergence. The method can be used for the quantitative determination of 5-[2-(3-tret-butylamino-2-hydroxypropoxy)phenoxymethyl]-3-methyl-1,2,4-oxadiazole hydrochloride in polymer drug films.

Keywords: validation, quantification, drug films, UV-spectrometry.

ВВЕДЕНИЕ

Глаукома – хроническое заболевание, характеризующееся повышением внутриглазного давления и ухудшением зрительных функций. По данным ВОЗ, глаукома составляет около 4% всех глазных заболеваний.

Основная задача лечения глаукомы заключается в сохранении зрительных функций и качества жизни пациента с минимальными побочными эффектами приемлемой терапии и при приемлемой стоимости используемых препаратов [6].

Для лечения глаукомы используют неселективный α,β-адреноблокатор 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси) феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорид. Он способствует угнетению продукции внутриглазной жидкости и снижению внутриглазного давления.

В настоящее время данный препарат применяется в форме глазных капель,

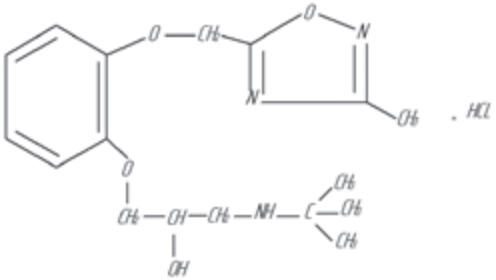


Рисунок 1. Структурная формула 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида

действие которых кратковременно. Возникает необходимость частого введения препарата. Глазные капли вызывают вымывание лизоцима, содержащегося в слезной жидкости, что может привести к возникновению инфекции. В связи с этим представляется рациональной разработка других лекарственных форм, например глазных полимерных пленок пролонгированного действия. Также является необходимой

разработка новых, более совершенных методик контроля качества готовых лекарственных форм.

В аналитической практике количественное определение 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида может проводиться титрометрически в среде неводных растворителей. Однако данный метод является трудоемким, длительным и требует больших объемов веществ для анализа.

Таким образом, было решено использовать ультрафиолетовую спектрофотометрию. Этот метод наиболее удобен, экономичен, не требует больших затрат реагентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование

Исследование проводили с помощью УФ-спектрофотометра ПЭ-5400УФ (ООО «Экрос», Россия). Взятие навесок осуществляли с помощью весов аналитических HTR-220CE [Shinko (Vibra), Япония].

Аналитические весы Vibra HTR-220CE

Реактивы и растворы

5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорид	000560
Глазные полимерные пленки	–
Вода бидистиллированная	ГОСТ 6709-72
0,1 М раствор кислоты хлористоводородной	ГОСТ 25794.1-83

Объект исследования

В качестве объекта анализа использовали глазные лекарственные пленки с 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлоридом. Данные пленки были изготовлены ООО «НПФ «КЕМ», Россия.

Построение калибровочной кривой

Для выявления возможностей количественного определения активной фармацевтической субстанции в пленках УФ-спектрофотометрическим методом изучали зависимость оптической плотности растворов пленок от длины волны.

С этой целью готовили 0,01%-й раствор субстанции в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной. Для этого 0,01 г вещества растворяли в 100 мл кислоты хлористоводородной и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре ПЭ-5400УФ в области от 250 до 300 нм в кварцевой кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной. Спектр 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида имеет максимум поглощения при длине волны 272 нм.

Спектр поглощения 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида показан на рисунке 2.

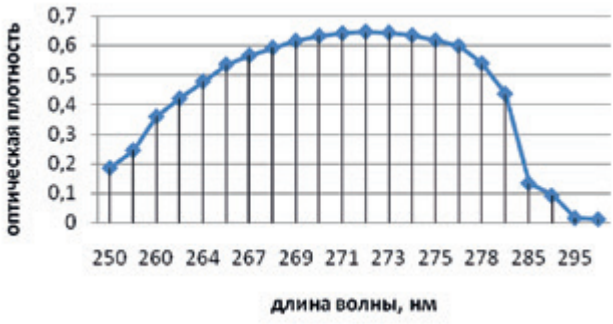


Рисунок 2. Спектр поглощения 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида

Для выявления прямолинейного участка зависимости оптической плотности от концентрации действующего вещества готовили серию стандартных растворов с содержанием от 0,001 до 0,01% 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной и измеряли оптическую плотность каждого раствора в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм при длине волны 272 нм.

Расчетные данные калибровочного графика для 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида представлены в таблице 1.

Показана прямо пропорциональная зависимость оптической плотности от концентрации в интервале от 0,001 до 0,010%.

Методом наименьших квадратов рассчитывали уравнение калибровочного графика для 5-[2-(3-трет-

бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида:

$$D = 64{,}15 \cdot C - 0{,}009,$$

где D – оптическая плотность раствора, C – концентрация исследуемого раствора, мг/мл.

Таблица 1.

Данные для построения калибровочного графика 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида

№ п/п	C	D	C·D	C^2	D^2
1	0,001	0,072	0,000072	0,000001	0,005184
2	0,002	0,111	0,000222	0,000004	0,012321
3	0,003	0,175	0,000525	0,000009	0,030625
4	0,004	0,244	0,000976	0,000016	0,059536
5	0,005	0,316	0,00158	0,000025	0,099856
6	0,006	0,373	0,002238	0,000036	0,139129
7	0,007	0,436	0,003052	0,000049	0,190096
8	0,008	0,497	0,003976	0,000064	0,247009
9	0,009	0,566	0,005094	0,000081	0,320356
10	0,01	0,645	0,00645	0,0001	0,416025
Сумма	0,055	3,435	0,024185	0,000385	1,520137

Методика количественного определения 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в полимерных пленках

Около 0,1 г (точная навеска) глазных пленок помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл воды, осторожно перемешивают при температуре 30-35 °С до полного растворения пробы. Затем доводят объем раствора 0,1 М раствором кислоты хлористоводородистой до метки и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 272 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора стандартного образца используют 0,01% раствор стандартного образца (СО) 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси) феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида. Раствор сравнения – 0,1 М раствор кислоты хлористоводородистой.

Содержание 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \times a_0 \times C}{D_0 \times a_1 \times (100 - W)},$$

где D_0, D_1 – оптические плотности раствора СО 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси) феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида и испытуемого раствора, соответственно; a_0, a_1 – навески СО 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в растворе А и испытуемой лекарственной форме в граммах, соответственно; C – содержание 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси) феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в СО, в процентах; W – содержание воды в пленках в процентах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Валидация методики

Цель валидации заключалась в том, чтобы документально подтвердить экспериментальное доказательство пригодности данной методики для определения содержания 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида в глазных лекарственных пленках для лечения глаукомы для получения достоверных и воспроизводимых результатов при определении показателей качества данной лекарственной формы.

Процедуру валидации методики количественного определения основного вещества осуществляли по следующим параметрам: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, сходимость, внутрилабораторная сходимость [1].

Специфичность

Специфичность аналитической методики – это способность методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов [3].

Для определения специфичности были получены модельные пленки без действующего вещества и с разными концентрациями 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида.

Установлено, что оптическая плотность растворов пленок, не содержащих действующего вещества, в изучаемой области спектра составляет от 0,008 до 0,018, в то время как оптическая плотность растворов пленок с действующим веществом при 272 нм находится в пределах 0,150–0,350.

Правильность

Правильность оценивается для методики количественного определения по результатам трех определений для каждого из трех уровней определяемых величин (нижнего, среднего и верхнего), лежащих в пределах аналитической области методики.

Валидируемая методика признается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике [3].

Выражением правильности ($П_р$) является отношение, рассчитываемое для каждого анализа:

$$П_р = \frac{X}{\mu} \cdot 100\%,$$

где X – количество 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида, определяемое по методике, μ – истинное значение количества 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида.

Также определяют граничные значения доверительного интервала результата отдельного определения правильности ($\bar{П}_р \pm \Delta\bar{П}_р$) при заданной вероятности (P = 95%).

Правильность методики определялась анализом пяти модельных навесок рабочего стандартного образца (РСО) с точно известным содержанием 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида.

Исходя из результатов, представленных в таблице 2, можно сделать вывод о том, что полученные данные граничных значений доверительного интервала результата отдельного определения правильности ($\bar{П}_р \pm \Delta\bar{П}_р$) находятся в интервале 98,0–102,0%, что, в свою очередь, лежит в аналитической области методики, и, соответственно, методика может считаться правильной.

Аналитическая область

Тест проводился одновременно с определением линейности. Аналитическая область методики устанавливалась в интервале от 80% до 120% по экспериментальным данным, находящимся в пределах линейной зависимости, которая описывается линейным уравнением y = 1,56x – 0,001 с коэффициентом корреляции r=0,997. Исходя из данных, представленных в таблице 3, можно сделать вывод, что границы аналитической области с учетом доверительного интервала не выходят за пределы 80–120%.

Линейность

Критерий приемлемости:

а) пропорциональность (линейная зависимость) оптической плотности испытуемого раствора от массы навески глазных пленок, выраженная уравнением y = a + bx;

б) коэффициент корреляции r≥0,95 (неслучайность линейной связи между x и y).

Таблица 2.

Результаты проверки правильности

Номер опыта	Масса навески РСО, г	Оптическя плотность раствора, D	Содержание вещества, %	Истинное содержание вещества, %	Правильность, $П_р$, %	Среднее значение правильности, $\bar{П}_р$, %	Стандартное отклонение, S, %	Граничные значения доверительного интервала отдельного определения правильности
1	0,0125	0,580	98,21	98,02	100,19	100,12	0,082	100,12±0,08
	0,0136	0,630	98,11		100,09			
	0,0110	0,609	98,19		100,17			
	0,0179	0,829	98,01		99,99			
	0,0142	0,659	98,17		100,15			
2	0,0166	0,948	100,21	99,96	100,25	100,45	0,304	100,45±0,38
	0,0136	0,777	100,25		100,29			
	0,0117	0,676	101,39		101,43			
	0,0165	0,941	100,07		100,11			
	0,0129	0,736	100,12		100,16			
3	0,0185	0,978	102,11	101,99	100,11	100,03	0,710	100,03±0,71
	0,0145	0,991	102,08		100,09			
	0,0134	0,915	101,97		99,98			
	0,0107	0,730	101,95		99,96			
	0,0100	0,683	102,01		100,02			

Таблица 3.

Результаты определения аналитической области

Процент от номинального значения	Масса навески, г	Содержание вещества в пленках, %	Расчетное содержание вещества в пленках, %	Ор, %	Среднее значение Ор, %	S_R, %	Доверительный интервал среднего значения Ор, %
1. (≈50%)	0,0566	2,604	2,6081	99,84	99,87	0,057	0,091
2. (≈80%)	0,0699	2,787	2,7900	99,89			
3. (≈120%)	0,1276	2,737	2,7423	99,81			
4. (≈150%)	0,1518	2,705	2,7067	99,94			

Таблица 4.

Результаты проверки линейности

Номер опыта	Масса навески, г	Процент от номинального значения	Оптическая плотность испытуемого раствора	Содержание вещества в пленках, %	x^2	y^2	xy	Σx·Σy	$(\Sigma x)^2$	$(\Sigma y)^2$
1	0,0566	56,6	0,084	2,604	0,0032	0,0071	0,0048	0,4078	0,2631	0,6320
2	0,0699	69,9	0,111	2,787	0,0049	0,0123	0,0078			
3	0,1070	107,0	0,167	2,739	0,0114	0,0279	0,0179			
4	0,1276	127,6	0,199	2,737	0,0163	0,0396	0,0254			
5	0,1518	151,8	0,234	2,705	0,0230	0,0548	0,0355			
	Σx=0,5129		Σy=0,795		Σx^2=0,0589	Σy^2=0,1416	Σxy=0,0913			

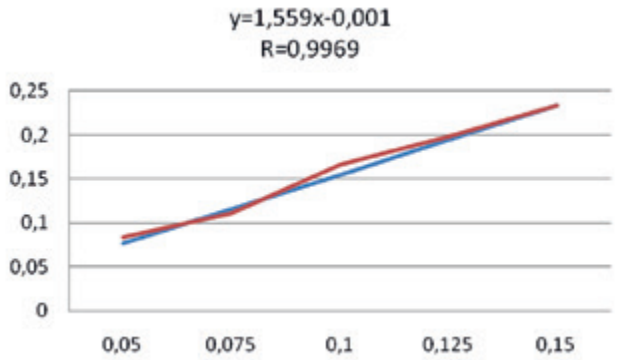


Рисунок 3. Зависимость оптической плотности 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси)феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида от его концентрации

Для проверки линейности проводили анализ пяти модельных навесок в диапазоне от 50 до 150% от номинальной навески.

Линейная зависимость оптической плотности испытуемого раствора от массы навески выражается уравнением:

$$y = 1{,}559 \cdot x - 0{,}001.$$

Коэффициент корреляции R=0,9969.

Полученные значения оптической плотности в выбранном диапазоне линейно зависят от концентрации. Коэффициент корреляции r>0,95, что говорит о неслучайности линейной связи между данными величинами.

Сходимость

Определение сходимости проводилось одним и тем же химиком при одних и тех же условиях с одними и теми же реактивами в течение короткого промежутка времени. Относительное стандартное отклонение должно быть менее 2,0%.

Проводили пять определений для навесок, соответствующих номинальному значению.

По полученным результатам находили среднее выборки ($\bar{X}$), стандартное отклонение (S) и относительное стандартное отклонение в % (S_R).

Исходя из результатов, представленных в таблице 4, относительное стандартное отклонение 0,6972% удовлетворяет требованию $S_R \leq 2{,}0\%$.

Внутрилабораторная сходимость

Определение внутрилабораторной сходимости проводилось разными аналитиками на разных пробах субстанции с интервалом в два дня.

Таблица 5.

Результаты проверки сходимости методики

Номер опыта	Масса навески, г	Оптическая плотность испытуемого раствора	Содержание вещества в пленках, %	Среднее значение содержания вещества в пленках, %	S, %	S_R, %
1	0,1072	0,169	2,766	2,739	0,0191	0,6972
2	0,1015	0,159	2,749			
3	0,1036	0,161	2,727			
4	0,1046	0,162	2,718			
5	0,1065	0,166	2,735			

1. Стандартные отклонения, полученные разными аналитиками, должны быть эквивалентны. Об этом свидетельствует следующее условие: вычисленное значение критерия Фишера (F) должно быть меньше или равно его табличному значению F (P, f_1, f_2), найденному при вероятности P=99%, F≤F (P, f_1, f_2).

2. Расчетное значение критерия Стьюдента (t) должно быть меньше табличного.

Результаты проверки внутрилабораторной точности методики представлены в таблице 5 и 6.

Таблица 6.

Результаты первого аналитика

Номер опыта	Масса навески, г	Оптическая плотность раствора, D	Содержание вещества, %	Среднее значение содержания вещества, %	S, %	S_R, %
1	0,1023	0,161	2,762	2,7501	0,0352	1,278
2	0,1086	0,172	2,779			
3	0,1041	0,160	2,697			
4	0,1048	0,166	2,779			
5	0,1085	0,169	2,733			

Табличное значение критерия Фишера: F(P, f_1, f_2) = 5,05,

$$2{,}783 < 5{,}05.$$

Табличное значение критерия Стьюдента: t (P=95%, f=m_1+m_2–2) = 2,2281.

Полученное значение 0,5175 < 2,2281.

Можно сделать заключение с вероятностью 95% о статистической незначимости различия средних результатов анализа.

Таблица 7.

Результаты второго аналитика

Номер опыта	Масса навески, г	Оптическая плотность раствора, D	Содержание вещества, %	Среднее значение содержания вещества, %	S, %	S_R, %
1	0,1012	0,158	2,740	2,7406	0,0211	0,772
2	0,1087	0,172	2,777			
3	0,1083	0,168	2,722			
4	0,1022	0,159	2,730			
5	0,1001	0,156	2,735			

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная методика количественного определения 5-[2-(3-трет-бутиламино-2-гидроксипропокси) феноксиметил]-3-метил-1,2,4-оксадиазола гидрохлорида методом УФ-спектроскопии была валидирована по основным параметрам, что доказывает ее возможное применение для количественной оценки содержания активной фармацевтической субстанции в полимерных лекарственных пленках.

ЛИТЕРАТУРА

1. В.В. Береговых, Н.В. Пятигорская, В.В. Беляев, Ж.И. Аладышева, А.П. Мешковский. Валидация в производстве лекарственных средств. – М.: Русский Врач, 2010. 286 с.
2. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств». – М. 290 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 1. – М. 2015. 1470 с.
4. М.Д. Машковский. Лекарственные средства. 16-е изд. – М.: Новая волна, 2012. 1216 с.
5. МУ 3.3.2.1886-04. Методические указания «Валидация методов контроля химических и физико-химических показателей качества МИБП: организация, порядок проведения и представление результатов». – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 38 с.
6. Национальное руководство по глаукоме / Под ред. Е.А. Егорова, Ю.С. Астахова, А.Г. Щуко. – М.: Дом печати «Столичный бизнес», 2008. 138 с.
7. Регистр лекарственных средств России: РЛС. Энциклопедия лекарств. URL: http://www.rlsnet.ru/ (дата обращения 04.02.2016).

УДК 615.072

СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСА ВКЛЮЧЕНИЯ ДИСУЛЬФИРАМА С ГИДРОКСИПРОПИЛ-β-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ ДЛЯ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ

С.А. Кедик[1,2], А.В. Панов[1,2], В.С. Тюкова[1,2]*

1 – Московский технологический университет (МИТХТ), 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, 78

2 – ЗАО «Институт фармацевтических технологий», 121353, Россия, г. Москва, Сколковское шоссе, 21/32, стр. 1

1 – Moscow Technological University (MITHT), 78, Vernadsky Prospect, Moscow, 119571, Russia

2 – CJSC Institute of Pharmaceutical Technologies, 21/32, Skolkovskoe shosse, Moscow, 121353, Russia

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

Резюме. В Государственной фармакопее XIII изд. изложены основные принципы обеспечения качества фармацевтических субстанций, перечислены показатели, которые должны включаться в нормативную документацию, дана характеристика этих показателей и рекомендации по их регламентации. Вводимые показатели контроля качества и пределы нормирования должны соответствовать назначению фармацевтической субстанции. В данной работе изложены основные показатели, которые могут быть использованы для стандартизации комплекса включения дисульфирама с гидроксипропил-β-циклодекстрином для дальнейшего его использования в качестве фармацевтической субстанции.

Ключевые слова: стандартизация, контроль качества, фармацевтические субстанции, комплекс включения, дисульфирам, гидроксипропил-β-циклодекстрин.

STANDARDIZATION OF INCLUSION COMPLEX OF DISULFIRAM WITH HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN FOR USE AS PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

S.A. Kedik[1,2], A.V. Panov[1,2], V.S. Tyukova[1,2]*

Abstract. The State Pharmacopoeia XIII sets out the main principles of quality of pharmaceutical substances listed parametrs that should be included in the regulatory documents, given the characteristics of these indicators and recommendations for their regulation. Input quality control performance and valuation limits must comply with the appointment of the pharmaceutical substance. This paper presents the key indicators that can be used to standardize the inclusion complex of disulfiram with hydroxypropyl-β-cyclodextrin for later use as a pharmaceutical substance.

Keywords: standardization, quality control, pharmaceutical substances, inclusion complex, disulfiram, hydroxypropyl-β-cyclodextrin.

ВВЕДЕНИЕ

Дисульфирам (ДСФ), использующийся в настоящее время для лечения алкогольной и наркотической зависимости [1], также является перспективным лекарственным средством для профилактики и терапии катаракты, поскольку подавляет действие гидроксильных радикалов, супероксидов, пероксинитритов и хелатов ионов металлов [2], которые приводят к разрушению белков хрусталика и в конечном итоге к его помутнению. ДСФ может активировать антиоксидантную защиту и замедлять развитие катаракты [3], что подтверждено лабораторными исследованиями [4–6]. Однако его использование в офтальмологии, в частности для приготовления глазных капель, ограничено из-за низкой растворимости в воде (4,09 мг/л, при 25 °С [1]), поэтому для приготовления глазных лекарственных форм с ДСФ целесообразно использовать солюбилизаторы. Зачастую в фармацевтической практике в качестве солюбилизаторов используют циклодекстрины [7, 8]. Хорошо зарекомендовал себя гидроксипропил-β-циклодекстрин (ГПβЦД) благодаря улучшенному профилю безопасности и высокой растворимости в воде по сравнению с другими циклодекстринами [9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ранее [10] были описаны различные методы получения комплекса включения ДСФ с ГПβЦД. В данной работе проведена стандартизация полученного комплекса включения ДСФ с ГПβЦД для его дальнейшего использования в качестве фармацевтической субстанции.

Обязательными показателями, регламентирующими качество фармацевтической субстанции, являются описание, растворимость, подлинность, родственные примеси, потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, тяжелые металлы, микробиологическая чистота и количественное определение [11].

Стандартизации подвергалось шесть лабораторных серий комплекса включения ДСФ с ГПβЦД.

Фармацевтическая субстанция на основе комплекса включения ДСФ с ГПβЦД представляет собой аморфный порошок от белого с желтоватым оттенком до светло-желтого цвета.

Фармацевтическая субстанция на основе комплекса включения ДСФ с ГПβЦД легко растворима в воде, растворима в 96% спирте этиловом, практически нерастворима в ацетоне и гексане.

Для подтверждения подлинности образования комплекса включения предлагается использовать метод ^{1}Н-ЯМР-спектроскопии (ОФС.1.2.1.1.0007.15).

Установление подлинности методом ЯМР-спектроскопии осуществляют путем сравнения спектра испытуемого образца со спектром стандартного образца или с опубликованным эталонным спектром. Спектры стандартных и испытуемых образцов должны быть получены с использованием одних и тех же методик и условий. Пики в сравниваемых спектрах должны совпадать по положению, интегральной интенсивности и мультиплетности, значения которых следует приводить при описании спектров (отклонения значений химического сдвига испытуемого и стандартных образцов в пределах ±0,1 м.д. для ^{1}Н-ЯМР и ±0,5 м.д. для ^{13}С-ЯМР).

На ^{1}Н-ЯМР-спектре раствора испытуемого образца должны наблюдаться характерные сигналы положения, интегральные интенсивности, мультиплетности и химические сдвиги сигналов которых должны соответствовать таковым на ^{1}Н-ЯМР типичного спектра комплекса включения (рисунок 1).

Подтвердить подлинность образования комплекса включения можно методом УФ-спектрофотометрии (ОФС.1.2.1.1.0003.15) по наличию максимума поглощения при длине волны 216±2 нм на УФ-спектре поглощения раствора комплекса включения.

Испытание на наличие родственных примесей контролирует продукты деструкции фармацевтической субстанции и технологические примеси, обусловленные технологией производства. Примеси могут быть идентифицированные (соединения с установленным химическим строением) и неидентифицированные (соединения, строение которых не установлено). Пределы содержания родственных примесей в фармацевтических субстанциях приводят с учетом параметров их безопасности. Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей для фармацевтических субстанций (в зависимости от максимальной суточной дозы лекарственного препарата) приведены в таблице 1.

Приведенные пределы учитываются при нормировании родственных примесей в фармацевтических субстанциях.

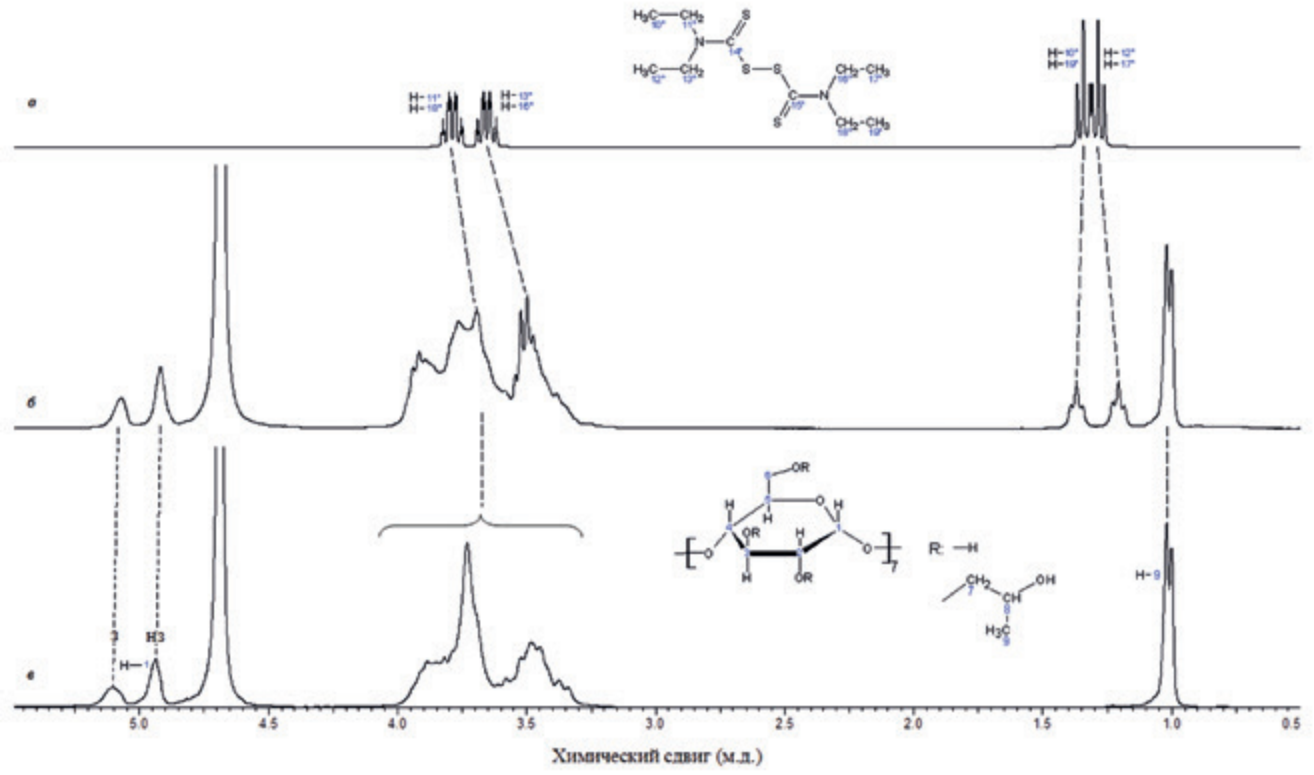


Рисунок 1. Спектры ^{1}Н-ЯМР растворов: (а) ДСФ в $CDCl_3$ (по данным спектральной базы данных SDBS [15]), (б) комплекса включения, (в) ГПβЦД в D_2O

Для контроля родственных соединений обычно используют хроматографические и, реже, спектроскопические методы. Обязательно вводится идентификация и количественное определение токсичных примесей с использованием стандартных образцов.

Таблица 1.

Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей в фармацевтических субстанциях

Максимальная суточная доза	Контролируемый предел*	Предел идентификации**	Предел квалификации***
≤2 г/сут	0,05%	0,1% или 1,0 мг/сут (что меньше)	0,15% или 1,0 мг/сут (что меньше)
>2 г/сут	0,03%	0,05%	0,05%

Примечание: *предел, выше которого примесь должна контролироваться;
**предел, выше которого примесь должна быть идентифицирована;
***предел, выше которого должна быть установлена биологическая безопасность.

Способ получения комплекса включения не предусматривает появления технологических примесей, кроме того, методом термогравиметрического анализа с последующей регистрацией ИК-спектров смеси выделяющихся газов было установлено, что термодеструкция комплекса включения начинается при температуре 190 °С. Таким образом, появления продуктов деструкции не наблюдается при хранении субстанции в естественных условиях. Исходя из этого, предлагается контролировать содержание родственных примесей, которые могут находиться в исходных компонентах ДСФ и ГПβЦД. Поскольку, исходя из загрузки, содержание ДСФ в комплексе включения в мольном соотношении в два раза меньше, а содержание его примесей, согласно нормативному документу, регламентируется как величина, не превышающая 0,5%, то родственными примесями ДСФ можно пренебречь. Содержание родственных примесей фармацевтической субстанции предлагается контролировать согласно стандартной методике, предложенной ЕР 8 для ГПβЦД (07/2013:1804).

Испытание потери в массе при высушивании вводят для контроля содержания летучих веществ в субстанции, причем регламентируют содержание летучих веществ, учитывая их количество, которое может находиться в исходных компонентах ДСФ и ГПβЦД (ОФС.1.2.1.0010.15).

Потеря в массе при высушивании для исходного компонента ГПβЦД, согласно входному контролю, составляет 2,52%, а нормируется ЕР 8 как величина, составляющая не более 10,0%. Поэтому нормирование показателя «потеря в массе при высушивании» фармацевтической субстанции на основе комплекса включения ДСФ с ГПβЦД должна соответствовать таковому для исходного компонента ГПβЦД, т.е. не более 10,0%.

Содержание сульфатной золы, как правило, не должно превышать 0,1%. Содержание сульфатной золы в фармацевтической субстанции контролируется

Таблица 2.

Спецификация к нормативному документу «Дисульфирам, комплекс включения, субстанция»

Показатель	Метод	Нормы
Описание	Визуальный	Аморфный порошок от белого до светло-желтого цвета
Подлинность	1. ^{1}H-ЯМР-спектр 2. Реакция с антроном	1. ^{1}H-ЯМР-спектр субстанции по положению сигналов должен соответствовать типичному ^{1}H-ЯМР-спектру 2. Окрашивание раствора в синий цвет
Растворимость	ГФ XIII	Легко растворим в воде, растворим в спирте этиловом 96%, практически нерастворим в ацетоне и гексане
Посторонние примеси	ЕР 8: 1. ВЭЖХ 2. ГЖХ	β-ЦД – не более 1,35% Этиленгликоль – не более 2,25%
Потеря в массе при высушивании	ГФ XIII	Не более 10,0%
Остаточные органические растворители	ГЖХ	Этанол – не более 0,5%
Сульфатная зола	ГФ XIII	Не более 0,1%
Тяжелые металлы	ГФ XIII	Не более 0,001%
Микробиологическая чистота	ГФ XIII	Должен выдерживать требования категории 1.2.Б.
Количественное определение ДСФ	УФ-спектрофотометрия	Не менее 7,5% и не более 10,5%

стандартным методом, описанным в фармакопейной статье ОФС.1.2.2.2.0014.15.

Устанавливаемые пределы содержания тяжелых металлов в фармацевтических субстанциях определяются максимальной суточной дозой препарата, произведенного из данной субстанции, и длительностью его возможного применения. В большинстве случаев содержание тяжелых металлов не должно превышать 0,001% (ОФС.1.2.2.2.0012.15).

В фармацевтических субстанциях определяют остаточные количества органических растворителей 1 класса токсичности, если обосновано их применение, независимо от стадии, на которой они используются. Для растворителей 2 класса токсичности, используемых не на последней стадии производства фармацевтических субстанций, в нормативной документации должен быть предусмотрен контроль их остаточного содержания либо должно быть приведено обоснование отсутствия контроля их остаточного содержания; если растворители 2 класса токсичности используются на последней стадии, каждый из них должен быть определен количественно. В фармацевтических субстанциях контроль растворителей 3 класса токсичности необходим, если они используются на последней стадии производства.

Поскольку для получения комплекса включения ДСФ и ГПβЦД используется органический растворитель этанол, который относится к 3 классу токсичности, его остаточное количество должно контролироваться.

Для определения остаточного количества этанола предлагается использовать метод газовой хроматографии по стандартной методике.

Микробиологическая чистота фармацевтической субстанции должна соответствовать требованиям категории 1.2.Б согласно ОФС.1.2.4.0002.15.

Количественное определение ДСФ в фармацевтической субстанции предлагается определять методом УФ-спектрофотометрии, оно характеризует степень включения ДСФ во внутреннюю полость ГПβЦД.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Перечисленные показатели позволяют наиболее точно охарактеризовать в качестве фармацевтической субстанции полученный продукт, содержащий комплекс включения ДСФ с ГПβЦД.

На основании проведенных исследований разработан проект нормативной документации, спецификация представлена в таблице 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученный водорастворимый продукт, содержащий комплекс включения ДСФ с ГПβЦД, стандартизован в качестве фармацевтической субстанции и может в дальнейшем применяться в фармацевтической промышленности при разработке новых лекарственных форм, в том числе для терапии катаракты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дисульфирам (Disulfiramum) // Интернет-справочник лекарств. URL: http://avitsena.com.ua/ru/spravochnik_lekarstv/d/disulfiram.html (дата обращения 15.05.2015).
2. L.P. Rybak, R. Ravi, S.M. Somani. Mechanism of protection by diethyldithiocarbamate against cisplatin ototoxicity: antioxidant system // Fundamental and applied toxicology. 1995. V. 26. P. 293–300.
3. A.L. Zanocco, R. Pavez, L.A. Videla, E.A. Lissi. Antioxidant capacity of diethylthiocarbamate in a metal-independent lipid peroxidase process // Radical Biology & Medicine. 1989. V. 7. P. 151–156.
4. N. Nagai, M. Takeda, Y. Ito, N., Takeuchi A. Kamei. Delay in ICR/f rat lens opacification by the instillation of eye drops containing disulfiram and hydroxypropyl-b-cyclodextrin inclusion complex // Biol. Pharm. Bull. 2007. V. 30(8). P. 1529–1534.
5. N. Nagai, Y. Ito, N. Takeuchi. Effect of disulfiram eye drops on lipid peroxide formation via excessive nitric oxide in lenses of hereditary cataract ICR/f rats // Biol. Pharm. Bull. 2008. V. 31(5). P. 981–985.
6. N. Nagai, Y. Ito, N. Takeuchi. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the anti-cataract effect of eye drops containing disulfiram and low-substituted methylcellulose using ICR/f rats as a hereditary cataract model // Biol. Pharm. Bull. 2012. V. 35. № 2. P. 239–245.
7. S. Göktürk, E. Calıskan, R.Y. Talman, U. Var. A study on solubilization of poorly soluble drugs by cyclodextrins and micelles: complexation and binding characteristics of sulfamethoxazole and trimethoprim // The Scientific World Journal. 2012. V. 2012. 12 p.
8. A. Chaudhary, U. Nagaich, N. Gulati, V.K. Sharma, R.L. Khosa. Poorly water soluble drugs: change in solubility for improved dissolution characteristics a review // Journal of Advanced Pharmacy Education & Research. 2012. V. 2. № 1. P. 32–67.
9. T. Loftsson, D. Duchene. Historical perspectives cyclodextrins and their pharmaceutical applications // International Journal of Pharmaceutics. 2007. V. 329. P. 1–11.
10. С.А. Кедик, В.С. Тюкова, Е.С. Жаворонок, А.В. Панов, В.В. Бондарь. Новый способ получения комплекса включения на основе дисульфирама с гидроксипропил-бэта-циклодекстрином // Биофармацевтический журнал. 2015. Т. 7. № 4. С. 19–23.

УДК 615.322, 582.573.21

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

2 – ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – Federal Government Budgetary Institution of Science «Federal research center of nutrition and biotechnology», 2/14, Ustyinsky pr., Moscow, 109240, Russia

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

ПРЕДСТАВИТЕЛИ РОДА ПОДСНЕЖНИК (*GALANTHUS* L.): ИСТОРИЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ, АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ГОМЕОПАТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ЕГО ОСНОВЕ

Д.О. Боков[1,2]*, И.А. Самылина[1]

Резюме. Сегодня особенно актуальны исследования, связанные с разработкой частных фармакопейных статей для Гомеопатической фармакопеи РФ, регламентирующих требования, предъявляемые к гомеопатическому лекарственному растительному сырью и настойкам гомеопатическим матричным. В статье представлена история применения подснежников в классической медицине и гомеопатии. Рассмотрены современные проблемы стандартизации гомеопатического лекарственного растительного сырья и настоек гомеопатических матричных подснежника Воронова (*Galanthus woronowii* Losinsk.) и подснежника белоснежного (*Galanthus nivalis* L.).

Ключевые слова: подснежник Воронова, подснежник белоснежный, стандартизация, настойка гомеопатическая матричная.

SNOWDROP SPECIES (*GALANTHUS* L.): HISTORY OF MEDICAL USE, TOPICAL STANDARDIZATION ISSUES OF HOMEOPATHIC CRUDE HERBAL DRUGS AND MEDICINES BASED ON IT

D.O. Bokov[1,2]*, I.A. Samylina[1]

Abstract. Today studies related with development of particular pharmacopoeia monograph for the Homeopathic Pharmacopoeia of the Russian Federation are especially relevant. Particular pharmacopoeia monographs regulate the requirements for homeopathic crude herbal drugs and homoeopathic mother tinctures. In the article the history of snowdrops use in classical medicine and homeopathy is presented. Modern standardization problems of homeopathic crude herbal drugs and homoeopathic mother tinctures produced from Voronov's snowdrop (*Galanthus woronowii* Losinsk.) and common snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) are considered.

Keywords: *Galanthus woronowii* Losinsk., *Galanthus nivalis* L., standardization, mother tincture.

Из-под снега, на проталинке,
Самый первый, самый маленький,
Мокролюб, цветочек-вешник –
Распустил бутон подснежник.

О. Карелин

ВВЕДЕНИЕ

Виды рода *Galanthus* L. (семейство амариллисовые, Amaryllidaceae J.St.-Hil.) естественно произрастают во многих частях Европы, включая Болгарию, восточные части Турции и районы цепей Кавказских гор. Научное название растений образовано из латинизированных греческих слов γάλα (gála) и ἄνθος (ánthos), что может трактоваться как «молочный цветок», дано по окраске цветков. Название «подснежник» связано с ранним цветением растений – цветы появляются сразу из-под снега.

В Европе, в частности, мало известно о медицинском применении растений этого рода. Plaitakis и Duvoisin (1983) выдвинули одну из гипотез о происхождении загадочного «моли» (волшебного корня) Гомера: по их мнению, это мог быть подснежник. В своей эпической поэме «Одиссея» Гомер описывает моли как исцеляющее средство (помощь Гермеса Одиссею). Одиссей воспользовался моли против ядов напитков Цирцеи, которые обладали антихолинергическим эффектом благодаря содержанию в них, предположительно, тропановых алкалоидов (рисунок 1). Таким образом, применение моли в качестве противоядия в «Одиссее» Гомера может представлять собой самое раннее письменное упоминание подснежника, но доказательств, к сожале-

Рисунок 1. Легендарный моли Гомера [3]

нию, недостаточно [1, 2]. Тем не менее внешний вид подснежника очень похож на описание волшебной травы в «Одиссее»:

… Так сказавши, Гермес передал мне целебное средство,
Вырвав его из земли, и природу его объяснил мне;
Корень был черен его, цветы же молочного цвета.
«Моли» зовут его боги. Отрыть нелегко это средство
Смертным мужам. Для богов же – для них невозможного нету.

(*Песнь десятая, перевод В. Вересаева*)

В народном творчестве встречаются многочисленные упоминания о подснежнике (рисунок 2). В Великобритании подснежники очень популярны, и относятся к ним весьма трепетно. Существует мнение, что это произошло благодаря старинному английскому поверью: если подснежники посадить вокруг дома, то они уберегут его обитателей от злых духов. В первую очередь подснежники – это самые ранние цветы, которые появляются после зимних холодов и, соответственно, символизируют приход весны. Ими украшены многие клумбы в городах, а их разведению уделяется пристальное внимание. 19 апреля – День подснежника (The Day of Snowdrop), учреждён в 1984 году [4].

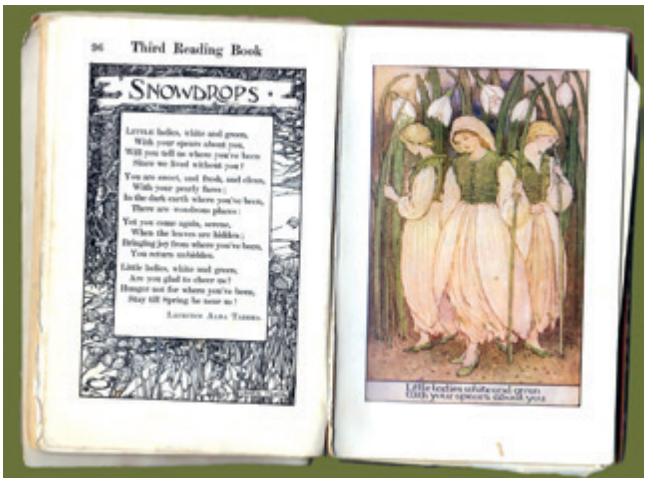


Рисунок 2. Стихи о подснежнике и оригинальная иллюстрация из «The Oxford reading books 3» (1929 г.)

ИСТОРИЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ И ГОМЕОПАТИИ

В «классических» медико-ботанических трудах XVI века (Fuchs, Bock и Brunfels) о подснежнике ничего не сообщается, имеется только небольшая ссылка на род *Leucojum*. Во избежание путаницы отметим, что в настоящей статье термин «подснежник» означает именно представителей рода *Galanthus* L., поскольку зачастую к «подснежникам» также относят другие раннецветущие растения (сциллы, хинодоксы, пролеска). Между тем следует упомянуть и другие близкие роды семейства Amaryllidaceae. Интересно, что немецкий фармакогност Madaus (1938) не описывает ни подснежник, ни белоцветник, ограничиваясь только *Narcissus pseudonarcissus*, приводя некоторые отдельные способы употребления, которые не имеют прямой связи с ЦНС, в то время как Marzell вообще их не упоминает. В труде «Arzneipflanzen» за авторством Köhler для представителей трёх родов не даётся точного медицинского назначения. Таким образом, можно точно сказать, что представители рода *Galanthus* и других родов семейства Amaryllidaceae не стали популярными лекарственными средствами в Европе. По неподтвержденным данным, в 50-х годах прошлого века один болгарский фармаколог отмечал, что подснежник, произрастающий в дикой природе, применяли в качестве средства для лечения неврологических болей (компрессы на лоб из свежерастёртых растений). Кроме того, некоторые из более ранних публикаций указывают на широкое использование подснежника в Восточной Европе, например в Румынии, на Украине, Балканском полуострове и в странах Восточного Средиземноморья [1].

В 1951 г. М.Д. Машковским и Р.П. Кругликовой-Львовой проводятся первые фармакологические исследования галантамина [5]. Установлено, что галантамин – природное высокоэффективное антихолинэстеразное средство [6]. В 1956 г. галантамин извлечён также из подснежника белоснежного – *Galanthus nivalis* L. (Д. Пасков, Л. Иванова, Болгария) [7]. С 1958 г. налажен промышленный выпуск в Болгарии («Нивалин») [8]. В Италии издаётся монография за авторством Д. Паскова «Нивалин». Алкалоид галантамин становится ещё одним из лекарственных веществ, нашедших широкое применение в медицине и фармации. Таким образом, произрастающий на Кавказе подснежник Воронова (*Galanthus woronowii* Losinsk.) исторически был первым источником получения галантамина. В 1952 г. Н.Ф. Проскурниной и А.П. Яковлевой из этого растения впервые было выделено основание галантамина [9].

Помимо классической медицины подснежники также нашли своё место и в гомеопатии. Впервые подснежник белоснежный использовался Dr. A. Whiting Vancouver, фармакопейная статья на данный вид включена в Гомеопатическую фармакопею США [10], в РФ согласно приказу Министерства здравоохранения и

медицинской промышленности № 335 для приготовления гомеопатических лекарственных средств (ГомЛС) разрешён *G. woronowii* [11].

СТАНДАРТИЗАЦИЯ СЫРЬЯ И НАСТОЕК ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ МАТРИЧНЫХ ПОДСНЕЖНИКОВ

В гомеопатической практике используются разведения настойки матричной гомеопатической (НГМ), полученной согласно методу 3а ОФС «Настойки гомеопатические матричные» [12] из целого цветущего растения (*Planta tota*). Основной группой биологически активных соединений (БАС) и лекарственного растительного сырья (ЛРС) и матричных настоек подснежников являются изохинолиновые амариллисовые алкалоиды, главные из которых – галантамин и ликорин, их структурные формулы представлены на рисунке 3. Содержание алкалоидов является основным показателем качества, которое контролируется при стандартизации НГМ подснежников [13, 14]. Некоторые ГомЛС на основе подснежников представлены в таблице 1.

Для надлежащей заготовки ЛРС, как гомеопатического, так и традиционного, важно знать витальные диагностические признаки производящих растений. Далее мы приводим наиболее точную ботанико-морфологическую характеристику производящих растений рода *Galanthus* L. по З.Т. Артюшенко [18].

Подснежник Воронова (син. подснежник икарийский – *G. ikariae* Baker) – многолетнее луковичное растение (рисунок 4).

Луковица 2–3 см длиной, 2–2,5 см в диаметре; влагалище 2–5 см длиной. Листья: во время цветения – 12–16 см длиной и 1–2 см шириной, после цветения – 18–

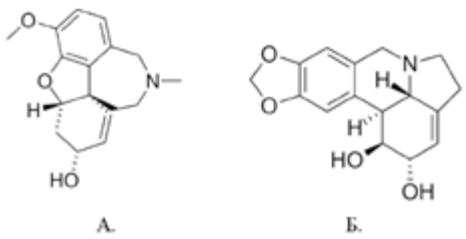


Рисунок 3. Структурные формулы галантамина (А) и ликорина (Б)

22 см длиной, ярко-зелёные, с желтоватым оттенком, с жирным блеском, слегка закрученные. Цветонос 10–15 см длиной; крыло 2,5–4,5 см длиной; цветоножка 2–3 см длиной. Наружные листочки околоцветника обратнояйцевидные, слабо вогнутые, 1,5–2,4 см длиной и 0,8–1,0 (1,2) см шириной; внутренние – продолговатые, расширенные вверху, 0,8–1,0 см длиной и 0,4–0,5 см шириной, с выемкой и зеленым пятном у верхушки.

Рисунок 4. Подснежник Воронова (*Galanthus woronowii* Losinsk.)

Таблица 1.

Гомеопатические монопрепараты подснежников

Название препарата, фирма-производитель, страна*	Форма выпуска	Показания
Galanthus Nivalis, «Буарон», Франция [15]	Глобули: 1 Mk (1000K), 10 D, 10 Mk (Xmk), 12 Ch, 12 D, 12 K, 15 Ch, 15 D, 200 K, 30 Ch, 30 D, 30 K, 4 Ch, 5 Ch, 50 Mk (Lmk), 6 D, 6 K, 7 Ch, 8 D, 9 Ch.	Мигрень, тупые головные боли, обморочные состояния, ощущение опущения, болезненное и сухое горло, беспокойство во сне.
	Гранулы: 1 Mk (1000K), 10 D, 10 Mk (Xmk), 12 Ch, 12 D, 12 K, 15 Ch, 15 D, 200 K, 30 Ch, 30 D, 30 K, 4 Ch, 5 Ch, 50 Mk (Lmk), 6 D, 6 K, 7 Ch, 8 D, 9 Ch.	
	Капсулы (cure 30 capsules): 200K – MK, 200K – XMK, 200k+35K, 6K – 200K, 6K – MK, 6K – XMK, MK – XMK, MK+35K, XMK+35K	
Galanthus Nivalis, Washington Homeopathic Products, США [16]	Пилюли (размер: No. 40, No. 25, No. 15): разведения 3X-30X, 2C-30C.	Коллапс.
Snowdrop, Helios Homoeopathy, Великобритания [17]	Tablets, soft tablets, pills, oral liquid, granules, medicating potency: 6C,12C, 30C, 200C, 1M, 10M	Мигрень, тупые головные боли, обморочные состояния, ощущение опущения, болезненное и сухое горло, беспокойства во сне.

Примечание: * – В РФ данные препараты не зарегистрированы.

Тычинки 0,6–0,7 см длиной, пыльники с острием на верхушке. Завязь 0,3–0,5 см в диаметре. Число хромосом 2n=24. Произрастает в лесах предгорий, на Черноморском побережье Кавказа встречается совместно с *G. krasnovii*. Распространение: Западное Закавказье – от Туапсе до Батуми, восточная часть Черноморского побережья Турции; о. Икария [18].

Подснежник белоснежный (рисунок 5) – травянистое многолетнее луковичное растение.

Рисунок 5. Подснежник белоснежный (*Galanthus nivalis* L.)

Луковица 1,5–2 см высотой, 1,2–1,5 см в диаметре; влагалище 6–9 см длиной. Листья тёмно-зелёные, сизые: во время цветения – 8–10 см длиной и 0,4–0,6 см шириной, после цветения – до 25 см длиной и до 1 см шириной. Цветонос (7) 9–12 см длиной; крыло 2,5–3 см длиной; цветоножка равна, длиннее или короче крыла. Наружные листочки околоцветника продолговато-обратнояйцевидные, 1,5–2,5 см длиной и 0,7–1,1 см шириной, внутренние – клиновидные, 0,7–1,2 см длиной и 0,4–0,7 см шириной. Тычинки 0,6–0,7 см длиной, пыльники с острием. Завязь 0,3–0,4 см в диаметре. Число хромосом 2n=24. Произрастает в нижнем, среднем и альпийском поясах; по опушкам леса, среди кустарников, на открытых местах (полонинах). Распространение: Средняя и Южная Европа, Предкавказье [18].

Формула цветка подснежников: $*P_{3+3}A_{3+3}G_{\overline{(3)}}$.

Плод – мясистая коробочка, открывающаяся по створкам (рисунок 6). Семена шаровидные, с сочным придатком. Следует отметить, что сырьё, заготовленное в фазе плодоношения, для приготовления НГМ считается непригодным ввиду иного состава комплекса БАС.

Существует целый ряд аспектов при стандартизации сырья и НГМ подснежников, которые необходимо учитывать при разработке нормативной документации (НД). НГМ – основная форма гомеопатической продукции и основа для получения ГомЛС. Их получают из сырья различного происхождения, по большей части растительного. Важным параметром при получении НГМ из ЛРС является точная характеристика вида сырья, а также его технологического состояния – свежее, замороженное или высушенное. Большей частью в гомеопатии применяется свежее сырье, которое по

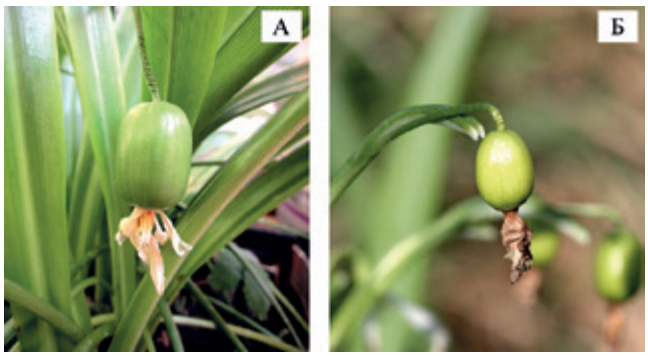


Рисунок 6. Подснежник Воронова (А) и подснежник белоснежный (Б) в период плодоношения

общепринятым правилам приготовления НГМ позволяет в итоге получать ГомЛС с широким спектром БАС [19–21].

Свежее сырье, как правило, представляет собой надземную часть растения вместе с подземными органами (целое растение). В случае подснежников это правило выполняется в точности. Иногда используется исключительно надземная часть растения, ещё реже сырьём служат подземные органы. Свежее ЛРС содержит комплекс БАС, входящий в состав растений в их естественном состоянии и не подвергшийся воздействию ферментов, которое в значительной степени влияет на химический состав ЛРС при сушке и не так сильно при заморозке. Разница в содержании БАС в НГМ, полученных из свежего и высушенного сырья, значительна, между тем заморозка позволяет сохранить комплекс БАС в нативном состоянии наиболее полно, насколько это возможно [22].

Качество НГМ во многом зависит от качества ЛРС, времени и места сбора, концентрации этилового спирта и других технологических аспектов. Существенные различия в компонентном составе НГМ обязательно сказываются на фармакологическом действии ГомЛС. Поэтому замена одноименных НГМ и официнальных настоек является серьёзной, недопустимой ошибкой. Следует еще раз подчеркнуть, что заготовку свежего ЛРС производят в строго определенные фазы роста и развития, соблюдая при этом сроки и технологию сбора. Целые растения (надземные части с подземными органами) собирают в период цветения (рисунок 7). ЛРС подснежников в зависимости от климатической зоны начинают заготавливать в марте-апреле (в более южных районах – в конце февраля). Следует отметить, что для нужд фармацевтической промышленности заготавливали только подземные органы подснежника Воронова – луковицы, которые собирали также во время цветения в марте (содержание галантамина в ЛРС 0,07–0,15%). При анализе ЛРС, используемого в гомеопатической практике, действуют приемы, аналогичные приемам для традиционного сырья: исследуют внешние признаки и микроскопию, проводят химические реакции и применяют физико-химические методы. В качественном и количественном анали-

Рисунок 7. **Сбор лекарственного растительного сырья подснежников**

зе большую роль играют физико-химические методы, в частности хроматография и оптические методы анализа, позволяющие определять основные компоненты комплекса БАС в ЛРС [23–25].

В нашей стране до последнего времени практически отсутствовали методы контроля качества НГМ, что в значительной степени являлось следствием недостаточного проведения экспериментальных исследований. Основные принципы и положения гомеопатии находят отражение в гомеопатических фармакопеях Германии, Франции, Великобритании, Индии, США и др. К настоящему моменту в РФ зарегистрировано около 30 частных фармакопейных статей (ЧФС) на НГМ. К критериям подлинности относятся качественные реакции на основные группы БАС, испытания методом ТСХ и др. Иногда дополнительно проводят количественное определение БАС. В ЧФС на НГМ приводится описание ЛРС с указанием его состояния (свежесобранное, замороженное или высушенное), метода получения НГМ. Кроме того, основными показателями качества исследуемых НГМ являются: органолептические показатели (внешний вид, цвет, запах), плотность, содержание спирта, сухой остаток, тяжелые металлы, микробиологическая чистота, радионуклиды. Для НГМ, содержащих сильнодействующие или ядовитые вещества, предусмотрено проведение испытания на D4 [26]. Внешний вид сырья и НГМ подснежника белоснежного в качестве примера представлены на рисунке 8.

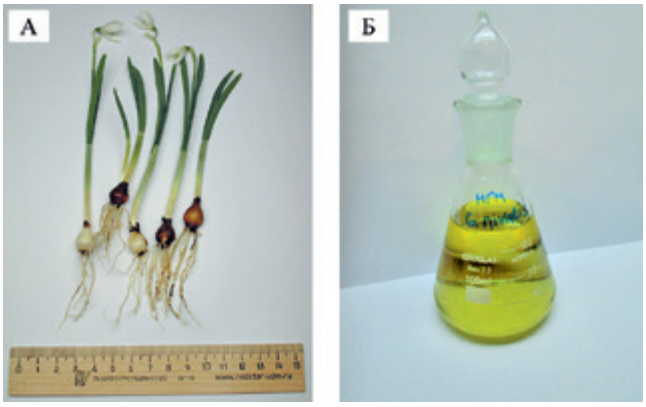


Рисунок 8. **Гомеопатическое лекарственное растительное сырьё *G. nivalis* (А) и настойка гомеопатическая матричная на его основе (Б)**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подснежники издавна применяются в официнальной и народной медицине, гомеопатической практике, являются источником ценного ЛРС, имеющего широкий спектр биологического действия. Несмотря на разностороннее применение, химический состав сырья подснежников, применяемого для гомеопатических целей, в том числе целого цветущего свежего растения, изучен недостаточно. Отсутствуют сведения по компонентному составу НГМ, полученных из целого цветущего свежего растения. Поэтому возникает необходимость в проведении углубленных исследований БАС ЛРС подснежников, НГМ с использованием современных методов анализа. В целях стандартизации ЛРС и НГМ подснежников необходимо разработать информативные методики контроля качества – определение БАС (алкалоиды, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, органические кислоты, аминокислоты, сахара и др.) – с использованием комплекса современных физико-химических инструментальных методов анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. Heinrich, H.L. Teoh. Galanthamine from snowdrop – the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge // Journal of Ethnopharmacology. 2004. № 92. С. 147–162.
2. Holy Moly: Hermes' Anticholinesterase Antidote // Anesthesiology. 2014. V. 121. P. 371. URL: anesthesiology.pubs.asahq.org/article.aspx?articleid=1917625 (дата обращения 26.03.2016).
3. Anállisis: Vino Circe/El Mito de la Diosa Circe. URL: http://jszgblog.blogspot.ru/2013/11/anallisis-vino-circeel-mito-de-la-diosa.html (дата обращения 26.03.2016).

4. М.М. Диев. Галянтусы. – М.: КМК, 2014. 168 с.
5. М.Д. Машковский, Р.Н. Кругликова-Львова. К фармакологии нового алкалоида галантамина // Фармакология и токсикология. 1951. № 14(6). С. 27.
6. М.Д. Машковский. Влияние галантамина на чувствительность скелетной мускулатуры к ацетилхолину // Фармакология и токсикология. 1955. № 18(4). С. 21–27.
7. Л.Б. Иванова. Фитохимическое исследование *Galanthus nivalis* var. *gracilis* // Фармация (Болгария). 1957. № 1. С. 82–83.
8. Препарат «Нивалин» (галантамина гидробромид). URL: http://nivalin.ru/ (дата обращения 21.03.2016).
9. Н.Ф. Проскурнина, А.П. Яковлева. Об алкалоидах *Galanthus woronowii* II. О выделении нового алкалоида // Журнал общей химии. 1952. № 10(22). С. 1899–1902.
10. Homoepathic Pharmacopoeia of the United States. Revision Service. T. 1. December 1988 – December 1990. T. 2. December 1989 – June 1990.
11. Приказ МЗ МП РФ № 335 от 29.11.95 «Об использовании метода гомеопатии в практическом здравоохранении».
12. ОФС 42-0027-05. Настойки гомеопатические матричные.
13. Д.О. Боков, И.А. Самылина. Требования к качеству гомеопатического лекарственного растительного сырья и настоек гомеопатических матричных видов подснежника (*Galanthus* L.) в отечественной и зарубежной нормативной документации: Доклад на XXVI Московской международной гомеопатической конференции «Развитие гомеопатического метода в современной медицине» 22–23 января 2016 г. // Гомеопатический ежегодник «Гомеопатическая книга». – Новосибирск. 2016. С. 145–147.
14. D.O. Bokov, I.A. Samylina. Homeopathic remedies of snowdrops: key aspects for standardization procedures. Proceedings of the V International scientific-practical conference «Fundamental science and technology – promising developments» (24–25 February 2015). North Charleston, USA // Pharmaceutical sciences. 2015. № 2. P. 184–186.
15. Zwitserse Apotheek. Galanthus Nivalis – UNDA-BOIRON. URL: https.//www.zwitserseapotheek.com/de/g-2981263/#/suche_nach_name-galanthus_nivalis (дата обращения 25.03.2016).
16. Washington Homeopathic Products. Galanthus Nivalis – Pills. URL: http.//www.homeopathyworks.com/product.php?xProd=7910 (дата обращения 23.03.2016).
17. Helios Homoeopathy. Snowdrop. URL: https.//www.helios.co.uk/shop/snowdrop (дата обращения 20.03.2016).
18. З.Т. Артюшенко. Амариллисовые (Amaryllidaceae Jaume St.-Hilaire) СССР. Морфология, систематика и использование. АН СССР. Ботан. ин-т им. В.Л. Комарова. – Л.: Наука, 1970. С. 41–83.
19. Д.О. Боков, И.А. Самылина. Современное состояние ботанико-фармакогностических исследований представителей рода подснежник (*Galanthus* L.). Инновации в медицине и фармации 2015: материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых / Под ред. А.В. Сикорского, О.К. Дорониной, Е.В. Барковского, Т.В. Тереховой. – Минск: БГМУ, 2015. С. 801–804.
20. Д.О. Боков, И.А. Самылина. Подснежники в гомеопатической фармации // Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации». Санкт-Петербург, 10–11 ноября 2015 г. – СПб.: СПХФА, 2015. С. 185–188.
21. И.А. Самылина и др. Научные подходы к разработке общих фармакопейных статей на гомеопатические лекарственные формы // Фармация. 2010. № 3. С. 53–56.
22. З.П. Костенникова, Л.В. Акашкина. Анализ и стандартизация гомеопатических лекарственных средств растительного происхождения // Фармация. 1993. № 6. С. 59–62.
23. Я.Ф. Копытько, Т.А. Сокольская, Т.Д. Даргаева. Регламентация качества настоек гомеопатических матричных и сырья для их изготовления в России и за рубежом // Традиционная медицина. 2010. № 23. С. 53–56.
24. Е.В. Ших и др. О гомеопатических лекарственных средствах, разрешенных для медицинского применения в Российской Федерации // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2014. № 4. С. 50–54.
25. Е.И. Саканян и др. Лекарственные формы и их место в современной гомеопатической практике // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2014. № 2. С. 60–63.
26. Н.С. Терёшина. Принципы стандартизации гомеопатических субстанций из близких видов растительного сырья // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2014. № 4. С. 21–27.
27. Н.В. Пятигорская и др. Современные требования к производству гомеопатических лекарственных средств // Традиционная медицина. 2010. № 20. С. 8–13.

УДК 543.865/.867

1 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., 1

1 – Voronezh State University, 1, University Square, Voronezh, 394006, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: trineevaov@mail.ru
Тел.: 8 (473) 253 07 89

ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЖИРНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ И МАСЛЯНЫХ ЭКСТРАКТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ (ОБЗОР)

О.В. Тринеева[1]*

Резюме. Масла жирные растительные – это природные смеси, состоящие из триацилглицеридов. В состав жирных масел могут входить различные биологически активные вещества, которые обуславливают соответствующее фармакологическое действие жирного масла. Долгое время (с 1968 по 2015 гг.) в нашей стране контроль качества жирных растительных масел (РМ) регламентировался требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС) Государственной фармакопеи (ГФ) СССР X изд. В связи с этим впервые для отечественной Фармакопеи XIII изд. разработан гармонизированный с Европейской Фармакопеей проект ОФС «Масла жирные растительные», в который включены современные требования к качеству и безопасности жирных РМ. Масляные экстракты (МЭ) фармацевтического назначения в настоящее время широко представлены на фармацевтическом рынке в качестве косметических и массажных масел. Для определения соответствия МЭ рекомендуется использовать нормативы СанПин 2.3.2.1078-01 для БАД на основе РМ, ГОСТов и ТУ. В то же время следует отметить, что многие понятия, характеризующие качество растительных масел, трактуются по-разному в соответствующих ГОСТах и ГФ XIII изд. Возникла необходимость обновления и совершенствования гармонизированных с ОФС ГФ XIII изд. фармакопейных статей и другой нормативной документации на отдельные виды масел, применяемых в фармации. В работе проведен анализ современного состояния, перспектив развития и совершенствования подходов к стандартизации и оценке качества РМ и МЭ фармацевтического назначения.

Ключевые слова: масла жирные растительные, масляные экстракты, стандартизация.

FEATURES QUALITY ASSESSMENT AND PROSPECTS STANDARTIZATION FATTY OILS AND OIL EXTRACTS FOR PHARMACEUTICAL PURPOSES (REVIEW)

O.V. Trineeva[1]*

Abstract. Fatty vegetable oils are natural mixtures of triacylglycerols. The composition of fatty oils may include various biologically active substances, which cause corresponding pharmacological action fatty oil. For a long time (from 1968 to 2015) in our country, fatty oils regulated quality control requirements sheathe pharmacopoeial article (SPA) of the State Pharmacopoeia (SP) of the Soviet Union X Vol. In this regard, the first time for the national pharmacopoeia developed harmonized with the European pharmacopeia draft SPA «vegetable fatty oils», which includes the modern requirements for quality and safety of fatty oils. Oil extracts of pharmaceutical grade currently widely available in the pharmaceutical market as a beauty and massage oils. To determine whether the oil extracts is recommended to use the standards of sanitary rules and norms 2.3.2.1078-01 for dietary supplements based on plant oils, state standards and technical conditions. At the same time, it should be noted that many of the concepts which characterize the quality of vegetable oils are treated differently in the relevant government standards and SP XIII. There was a need to update and improve the pharmacopoeial article and other normative documents on certain types of oils used in pharmacy, harmonized with the SPA SP XIII ed. The paper analyzes the current state of, and prospects for the development of approaches to improve the standardization and evaluation of the quality of vegetable oils and oil extracts of pharmaceutical grade.

Keywords: vegetable oil fatty, oily extracts, standardization.

ВВЕДЕНИЕ

Масла жирные растительные (*Olea pinguia*) – это природные смеси, состоящие из триацилглицеридов (сложных эфиров глицерина с различными, как правило, высшими жирными кислотами). В состав жирных масел могут входить различные биологически активные вещества (БАВ) в виде жирных кислот (ЖК) семейств омега-3 или омега-6; каротиноиды; токоферолы; стерины; лигнаны или другие соединения. РМ применяются в качестве слабительных, гепатопротекторных, антисклеротических, ранозаживляющих и других средств. Масла жирные, не обладающие выраженной фармакологической активностью, используются в качестве вспомогательных веществ (персиковое, миндальное, подсолнечное, льняное масло и др.) для изготовления лекарственных форм (ЛФ) [1].

К медицинскому применению разрешены следующие жидкие жирные масла

растительного происхождения: миндальное, касторовое, кунжутное, арахисовое, оливковое, рапсовое, кукурузное, соевое и др. Твердыми жирными маслами растительного происхождения, в триациглицеридах которых преобладают насыщенные ЖК (пальмитиновая, стеариновая и др.), являются: масло какао, пальмоядровое и кокосовое масла. Препараты на основе жирных масел и высших ЖК среди лекарственных средств (ЛС) и ЛФ насчитывают более 120 наименований [2], которые можно разделить на 6 основных групп: ЛС и вспомогательные вещества, представляющие собой нативные жирные масла природного происхождения; ЛС, представляющие собой модифицированные природные жирные масла; ЛС, представляющие собой масляные экстракты *(Extractum oleosa)*; ЛС, представляющие собой масляные растворы липофильных лекарственных субстанций *(Solutio oleosa; Solutio oleosa pro tnjecionibus)*; ЛС, представляющие собой смеси высших ЖК или их эфиров; ЛС, представляющие собой смеси сложных омыляемых липидов.

Долгое время (с 1968 по 2015 гг.) в нашей стране контроль качества жирных РМ регламентировался требованиями обшей фармакопейной статьи (ОФС) Государственной фармакопеи (ГФ) СССР X изд. [3]. Природные РМ широко используются в медицине, в том числе в ЛФ для инъекций. В связи с этим впервые для отечественной ГФ XIII изд. разработан гармонизированный проект ОФС «Масла жирные растительные», в который включены современные требования к качеству и безопасности жирных РМ. По ГФ РФ XIII изд. стандартизация РМ проводится по следующим показателям качества: «Описание»; «Подлинность»; «Растворимость»; «Плотность»; «Температура затвердевания» и/или «Температура плавления»; «Показатель преломления»; «pH» и/или «Кислотное число»; «Число омыления»; «Йодное число»; «Перекисное число», и/или «Индекс окисленности», и/или «Анизидиновое число»; «Неомыляемые вещества»; «Летучие вещества»; «Тяжелые металлы»; «Мыла»; «Объем содержимого упаковки» или «Извлекаемый объем»; «Микробиологическая чистота» или «Стерильность»; «Количественное определение». Определение подлинности и количественное определение жирных масел, обладающих фармакологическим действием, проводят по БАВ масла, обуславливающим его фармакологическую активность. Испытания на посторонние примеси, такие как тяжелые металлы и мыла, являются обязательными для всех жирных РМ. Испытания на наличие фосфорсодержащих и экзогенных веществ проводят в соответствии с требованиями ФС или нормативной документации (НД) на жирное РМ конкретного наименования. Показатель качества «Гидроксильное число» применим только к маслам типа касторового, содержащего в составе триацилглицеридов остатки гидроксикислот. Фармакопейными маслами являются: миндальное, масло какао, персиковое, касторовое, облепиховое, масло шиповника. В соответствии с руководством В. Швабе для получения гомеопатических масел употребляются масла вазелиновое, персиковое, абрикосовое, сливовое, оливковое, подсолнечное [2].

Масляные экстракты (МЭ) или медицинские масла – это извлечения из лекарственного растительного сырья, приготовленные с использованием растительных или минеральных масел [4, 5]. Фармакопейными МЭ являются: беленное масло, репейное масло, масло зверобоя [2]. МЭ фармацевтического назначения в настоящее время широко представлены на фармацевтическом рынке в качестве косметических и массажных масел. Для определения соответствия МЭ рекомендуется использовать нормативы СанПин 2.3.2.1078-01 [6] для БАД на основе РМ. Физико-химические показатели, а также показатели безопасности применения МЭ (тяжелые металлы, радионуклиды и пестициды), по которым оценивают их качество, недостаточно полно характеризуют их фармакологические свойства и не дают информации о качественном и количественном составе БАВ. При этом РМ, используемые в качестве экстрагентов для получения МЭ фармацевтического назначения, стандартизируются в соответствии с различными ГОСТами и ТУ [7-20]. ГОСТ 18848-73 [7] устанавливает применяемые в науке, технике и производстве термины и определения основных показателей качества РМ (таблица 1).

В то же время следует отметить, что многие понятия, характеризующие качество РМ, трактуются поразному в соответствующих ГОСТах и ГФ XIII [1].

В связи с вышесказанным совершенно очевидно, что возникла необходимость обновления и совершенствования ФС и другой НД на отдельные виды применяемых в фармации масел, гармонизированных с ОФС «Масла жирные растительные» ГФ XIII изд.

Цель работы – анализ современного состояния, перспективы развития и совершенствования подходов к стандартизации и оценке качества РМ и МЭ фармацевтического назначения.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

Проведенный анализ НД позволил выявить основные физико-химические показатели качества РМ, используемых в качестве экстрагентов и вспомогательных веществ для приготовления МЭ и различных ЛФ (таблица 2), а также РМ, используемых в качестве ЛС и БАД (таблица 3).

Таблица 1.

Основные показатели качества РМ [7, 21–28]

№ п/п	Термин	Определение	ГОСТ/ОФС ГФ XIII
Органолептические показатели качества РМ			
1	Вкус РМ	–	ГОСТ 18848-73
2	Запах РМ	–	ГОСТ 5472-50
3	Прозрачность РМ	Показатель, характеризующий отсутствие в РМ при температуре 20 °С мути или взвешенных частиц, видимых невооруженным глазом	ГОСТ 5472-50
4	Цвет РМ	Показатель, характеризующий окраску слоя РМ, просматриваемого невооруженным глазом	ГОСТ 5472-50
Физико-химические показатели качества РМ			
1	Показатель преломления (ПП) РМ	–	ГОСТ 5482-90/ ОФС.1.2.1.0017.15
2	Плотность (П) РМ	–	ОФС.1.2.1.0014.15
3	Температура плавления РМ	Температура, при которой РМ, перейдя из твердого состояния в жидкое, становится полностью прозрачным	ОФС.1.2.1.0011.15
4	Температура застывания РМ	Наивысшая температура, при которой жидкое РМ способно перейти в твердое состояние	ОФС.1.2.1.0012.15
5	Температура вспышки РМ	Наименьшая температура, при которой выделяющиеся из РМ летучие вещества вспыхивают и мгновенно гаснут при соприкосновении с пламенем, поднесенным к поверхности масла. **Примечание.** Показатель устанавливает наличие в масле примеси органических растворителей, применяемых для извлечения масла экстракцией	ГОСТ 9287-59
6	Температура воспламенения РМ	Наименьшая температура, при которой загоревшиеся от соприкосновения с пламенем летучие вещества РМ продолжают гореть	ГОСТ 18848-73
7	Влага РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание воды в РМ	ГОСТ Р 50456 и ГОСТ 11812
8	Нежировые примеси РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание в РМ веществ, нерастворимых в петролейном эфире	ГОСТ 5481-89
9	Отстой РМ по объему	Показатель, характеризующий отношение объема, занимаемого выделенным в стандартных условиях осадком, к общему объему РМ	ГОСТ 5481-89
10	Общая зола РМ	Показатель, характеризующий отношение массы прокаленного минерального остатка к общей массе РМ, сожженного в стандартных условиях	ГОСТ 5474-66
11	Фосфорсодержащие вещества РМ	Показатель, характеризующий наличие в РМ фосфатидов, а также других веществ, содержащих фосфор, выраженный в пересчете на стеароолеолецитин или фосфорный ангидрид	ГОСТ Р 52676
12	Цветность РМ	Показатель, характеризующий интенсивность окраски РМ, выраженный в условных единицах	ГОСТ 5477-93
13	Цветность хлопкового масла	Цветность, определяемая сравнением цвета хлопкового масла с цветом набора стандартных стекол и выражаемая количеством единиц красного цвета при установленном количестве единиц желтого цвета	ГОСТ 5477-93
14	Цветное число (ЦЧ) РМ	Цветность, определяемая сравнением цвета РМ с цветом эталонных йодных растворов и выражаемая количеством миллиграммов йода	ГОСТ 5477-93
15	Кислотность РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание свободных ЖК и других титруемых щелочью веществ в РМ в пересчете на олеиновую кислоту	ГОСТ Р 50457-92
16	Кислотное число (КЧ) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ свободных ЖК и других титруемых щелочью веществ, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для их нейтрализации	ГОСТ Р 52110/ ОФС.1.2.3.0004.15

Продолжение таблицы 1

№ п/п	Термин	Определение	ГОСТ/ОФС ГФ XIII
17	Неомыляемые вещества РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание в РМ сопутствующих веществ, не реагирующих со щелочами и не разрушающихся при омылении масла	ГОСТ 5479-64
18	Содержание мыла в РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание в рафинированном РМ следов солей ЖК в пересчете на олеиновокислый натрий. Примечание. Показатель характеризует эффективность отделения от масла омыленных ЖК после проведения щелочной нейтрализации и промывки	ГОСТ 5480-59
19	Число омыления (ЧО) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ свободных и связанных в виде триглицеридов ЖК, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирных связей и нейтрализации выделенных при этом свободных ЖК. **Примечание.** Показатель является характеристикой средней молекулярной массы смеси свободных ЖК, входящих в состав триглицеридов	ГОСТ 5478-90/ ОФС.1.2.3.0008.15
20	Число нейтрализации ЖК РМ	Условная величина, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для нейтрализации 1 г смеси ЖК, выделенных из РМ в стандартных условиях. Примечание. Показатель является характеристикой молекулярной массы смеси ЖК, входящих в состав триглицеридов; применяется для идентификации масел	ГОСТ 18848-73
21	Эфирное число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ связанных в виде триглицеридов ЖК, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирных связей и нейтрализации выделенных при этом ЖК	ОФС.1.2.3.0009.15
22	Гидроксильное число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ гидроксилсодержащих соединений, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для нейтрализации уксусной кислоты, выделяющейся после гидролиза избытка ацетилирующего реагента	ГОСТ 18848-73
23	Ацетильное число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ гидроксилсодержащих соединений, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирной связи между уксусной кислотой и гидроксилом и нейтрализации выделившейся при этом уксусной кислоты	ГОСТ 18848-73
24	Йодное число (ЙЧ) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 100 г РМ непредельных соединений, выраженная в граммах йода, эквивалентного состоящему из галогенов реагенту, присоединившемуся к маслу	ГОСТ 5475/ ОФС.1.2.3.0005.15
25	Родановое число (РЧ) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 100 г РМ непредельных соединений, выраженная в граммах йода, эквивалентного родану, присоединившемуся к маслу	ГОСТ 18848-73
26	Число Генера (ЧГ)	Условная величина, характеризующая процентное содержание в РМ нелетучих и нерастворимых в воде ЖК вместе с неомыляемыми веществами	ГОСТ 18848-73
27	Число Рейхерта – Мейселя (ЧРМ)	Условная величина, характеризующая содержание в 5 г РМ растворимых в воде летучих ЖК, выделенных в стандартных условиях из масла, выраженная в миллилитрах 0,1 М раствора едкого кали, необходимого для их нейтрализации	ГОСТ 18848-73
28	Число Поленске (ЧП)	Условная величина, характеризующая содержание в 5 г РМ нерастворимых в воде летучих ЖК, выделенных в стандартных условиях из масла, выраженная в миллилитрах 0,1 М раствора едкого кали, необходимого для их нейтрализации	ГОСТ 18848-73
29	Термопроба льняного масла	Показатель, характеризующий наличие в льняном масле соединений, способных выпадать в осадок при нагревании масла в интервале температур 250–300 °С	ГОСТ 5486-50
Дополнительные показатели качества РМ			
1	ЖК РМ	Алифатические карбоновые кислоты, входящие в состав РМ	ГОСТ 18848-73
2	ЖК-состав РМ	Процентная доля каждой из индивидуальных ЖК в общей смеси ЖК, выделенных из РМ	ГОСТ 31663

Продолжение таблицы 1

№ п/п	Термин	Определение	ГОСТ/ОФС ГФ XIII
3	Трансизомеры ЖК	–	ГОСТ 31754-2012
4	Массовая доля эруковой кислоты	–	ГОСТ 30418
5	Влага и летучие вещества РМ	Показатель, характеризующий суммарное содержание в РМ воды и других веществ, способных испаряться при 100–105 °С	ГОСТ Р 50456 и ГОСТ 11812/ ОФС.1.5.3.0007.15
6	Степень окисленности РМ	Количественное содержание в РМ кислородсодержащих группировок, образовавшихся в результате окисления ЖК, а также их сополимеризации и конденсации. **Примечание.** К числу кислородсодержащих групп, характеризующих окисленное РМ, относятся эпоксигруппы, гидроокиси, альдегиды и кетоны, перекиси и гидроперекиси, а также оксиполимеры	–
7	Тетрабромное число РМ	Условная величина, выражаемая в процентах тетрабромстеариновой кислоты, полученной из смеси ЖК, выделенных из РМ и подвергнутых бромированию. **Примечание.** Показатель характеризует наличие в РМ линолевой кислоты и ее изомеров. При отсутствии линолевой кислоты определяются только ее изомеры	–
8	Гексабромное число РМ	Условная величина, выражаемая в процентах гексабромстеариновой кислоты, полученной из смеси ЖК, выделенных из РМ и подвергнутых бромированию. **Примечание.** Показатель характеризует наличие в РМ линолевой кислоты, способной образовывать при бромировании в стандартных условиях гексабромстеариновую кислоту	–
9	Полибромное число РМ	Условная величина, выражаемая в процентах полибромидов, полученных из смеси ЖК, выделенных из РМ и подвергнутых бромированию. **Примечание.** Показатель характеризует наличие в РМ высоконепредельных ЖК, имеющих в молекуле более трех двойных связей	–
10	Перекисное число (ПЧ) РМ	Условная величина, выражаемая количеством йода в процентах, эквивалентным йодистоводородной кислоте, прореагировавшей в стандартных условиях с перекисной или гидроперекисной группами РМ	ГОСТ Р 51487/ ОФС.1.2.3.0007.15
11	Содержание эпоксидного кислорода в РМ	Процентная доля кислорода, эквивалентного бромистому водороду, прореагировавшему в стандартных условиях с моно- и диэпокисями ЖК окисленного РМ	–
12	Карбонильное число РМ	Условная величина, определяемая по цвету избытка непрореагировавшего реагента или продуктов взаимодействия, образовавшихся в стандартных условиях при действии на альдегидные группы РМ специфическими реагентами, выражаемая в условных процентах. **Примечание.** В качестве таких реагентов применяют бензин, гидроксиламин, 2,4-динитрофенилгидразин, флюроглюцин	–
13	Бензидиновое число (АЧ) РМ	Карбонильное число, определяемое по цвету продуктов взаимодействия альдегидных групп с бензидинацетатом, выражаемое в миллиграммах-процентах коричного альдегида	ГОСТ Р 52465/ ОФС.1.2.3.0003.15
14	Тиобарбитуровое число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в РМ диальдегидов, определяемая по цвету продуктов взаимодействия альдегидных групп с 2-тиобарбитуровой кислотой, выражаемая в миллиграммах малондиальдегида на 1000 г РМ	–
15	Диеновое число РМ	Условная величина, выражаемая количеством диенофильного реагента, пересчитанным на эквивалентное количество йода, которое способно присоединиться в установленных условиях к сопряженным этиленовым связям в 100 г жира. **Примечание.** Показатель дает возможность определять процентное содержание ЖК с сопряженными этиленовыми связями	–
16	Массовая доля витаминов А и Е	–	ГОСТ 30417-98

Таблица 2

Физико-химические свойства РМ, используемых в качестве экстрагентов и вспомогательных веществ для приготовления МЭ и различных ЛФ [8–20]

Тип масла	Срок годности	Числовые показатели										Цвет	П	ПП	ТЗ	Подлинность
		ЦЧ	КЧ	ПЧ	ЙЧ	ЧО	АЧ	РЧ	ЧГ	ЧРМ	ЧП					
Масло подсолнечное (*Oleum Helumthi*)																
Полувысыхающее	6 мес.	Не более 10	Не более 3,0	Не более 10,0	119–144	186–194	Не более 3,0	74–83	95	0,3–1,0	0,3–1,8	Золотисто-желтый	0,924	1,4680	От –16 до –19	ЖК-состав
Масло хлопковое (*Oleum Gossypii*)																
Полувысыхающее	3–6 мес.	Не более 10	Не более 0,2	–	101–116	188–199	–	62–67	95–96	0,2–1,0	0,2–0,7	От красно-бурого до черного	0,920	1,4634	От –1 до –6	–
Масло соевое (*Oleum Glycinae*)																
Полувысыхающее	4–12 мес.	–	Не более 4,0	Не более 10,0	114–139	189–195	Не более 3,0	83,7	94–96	–	–	От светло-желтого до темно-желтого	0,928	1,4678	От –8 до –18	ЖК-состав
Масло кунжутное (*Oleum Sesami*)																
Полувысыхающее	2–5 лет	Не более 15	Не более 0,4	–	103–117	186–195	–	75–77	95–96	0,1–0,5	0,2–0,6	От желтого до коричневого	0,922	1,4708	–7	–
Масло кукурузное (*Oleum Maydis*)																
Полувысыхающее	12–18 мес.	Не более 18	Не более 5,0	Не более 10,0	111–133	187–190	–	77–78	92–96	0,3–2,5	–	Золотисто-желтый	0,924	1,4745	От –10 до –15	ЖК-состав
Оливковое масло (*Oleum Olivarum*)																
Невысыхающее	12–24 мес.	–	Не более 2,5	–	75–88	187–196	–	76,5	95–96	0,1–0,8	–	Золотисто-желтый	0,917	1,4635	От –2 до –6	-
Миндальное масло (*Oleum Amygdalarum*)																
Невысыхающее	12–18 мес.	–	Не более 2,5	–	93–102	190–195	–	82–85	96–97	0,2–0,5	0,2–1,0	Желтый	0,917	1,4672	От –10 до –21	Качественная реакция

Продолжение таблицы 2

Тип масла	Срок годности	Числовые показатели										Цвет	П	ПП	ТЗ	Подлинность
		ЦЧ	КЧ	ПЧ	ЙЧ	ЧО	АЧ	РЧ	ЧГ	ЧРМ	ЧП					
Персиковое масло (*Oleum Persicorum*)																
Невысыхающее	24 мес.	–	Не более 2,5	–	96–103	187–195	–	–	94	До 0,1	0,3–0,8	Золотисто-желтый	0,920	1,4645	От –20 до –23	Качественная реакция
Абрикосовое масло (*Oleum Armeniacae*)																
Невысыхающее	–	–	–	–	96–109	188–198	–	–	95–96	0,1	0,3	Светло-желтый	0,919	1,4646	–20	–
Рапсовое масло (*Oleum Rapeseed*)																
Невысыхающее	4-6 мес.	-	Не более 0,4	Не более 10,0	-	-	Не более 3,0	77,8	94-96	0,1-0,8	-	Бурый	0,914	1,4650	От -4 до -10	ЖК-состав
Пальмовое масло (*Oleum Palmi*)																
Невысыхающее	–	–	Не более 0,2	Не более 0,9	50–55	–	–	–	94–98	0,4–1,9	0,4–0,6	От темно-желтого до темно-красного	0,923	1,4545	31–41	ЖК-состав
Кокосовое масло (*Oleum Coconut*)																
Невысыхающее	24 мес.	–	Не более 15,0	–	Не более 12,0	254–267	–	8,2–9,6	86–92	4–7	8,5–11	От бесцветного до желтоватого	0,925	1,4497	19–26	–
Какао масло (*Butyrum Cacao*)																
Невысыхающее	–	–	Не более 2,25	–	32–38	–192–196	–	32–35	95–96	0,1–04	0,5–1,0	Желтоватый	0,960	1,4569	21,5-27	–

Таблица 3.

Физико-химические свойства РМ, используемых в качестве ЛС и БАД [8-20]

Тип масла	Срок годности	Числовые показатели												Цвет	ТЗ	Подлинность
		ЦЧ	КЧ	ПЧ	ЙЧ	ЧО	АЧ	ПП	П	РЧ	ЧГ	ЧРМ	ЧП			
Облепиховое масло (*Oleum Hippophaes*)																
Невысыхающее	18 мес.	–	Не более 7,5	–	–	–	–	1,468–1,476	0,915–0,922	–	–	0,2–0,5	–	От желтого до оранжево-коричневого	–20	Сумма каротиноидов и ЖК-состав
Касторовое масло (Oleum Ricini)																
Невысыхающее	2–5 лет	–	Не более 2,0	–	82–91	176–186	–	1,475–1,480	0,948–0,968	81,6	96,1	0,2–0,3	–	От бесцветного до темно-желтого	–10	Качественная реакция
Масло шиповника (*Oleum Rosae*)																
Невысыхающее	24 мес.	–	Не более 10,0	Не более 15,0	–	–	–	1,475–1,490	0,915–0,940	–	–	–	–	От желто-оранжевого до красно-коричневого	–	Сумма каротиноидов и ЖК-состав
Рыжиковое масло (*Oleum Camelinae sativae*)																
Высыхающее	–	–	Не более 0,7	–	133–155	181–190	–	1,4748–1,4782	0,920–0,930	90–100	94–95	–	–	Золотисто-желтый	От –15 до –18	–
Льняное масло (*Oleum Lini*)																
Высыхающее	6–12 мес.	Не более 60	Не более 1,0	–	Не менее 175	184–195	–	1,4800–1,4870	0,935	–	95	0,5	До 0,5	От желтого до бурого	От –18 до –27	–

Числовые показатели

Величина КЧ по ГОСТ и ОФС ГФ XIII традиционно определяется методами алкалиметрического или потенциометрического титрования [27–29]. В последнее время также разработаны и другие способы:

– способ определения КЧ масел и жиров, основанный на использовании 10-30-кратного избытка триэтаноламина в спиртоэфирной смеси и определении КЧ исследуемого продукта с построением градуировочного графика [29];

– способ определения КЧ РМ, предусматривающий смешение навески отобранной пробы исследуемого РМ со спиртоэфирной смесью, предварительно нейтрализованной по фенолфталеину, измерение величины pH полученной смеси и определение КЧ исследуемого масла с использованием модельных растворов [27];

– способ определения КЧ РМ, предусматривающий смешивание навески отобранной пробы с органическим растворителем, в который сначала вводят не более 0,5 $см^3$ стандартного раствора олеиновой кислоты с концентрацией от 0,03 до 0,08 М, измеряют величину pH полученной смеси. Значение КЧ исследуемого РМ определяют по известной формуле [29].

ЙЧ и ПП, как правило, характеризуют степень ненасыщенности РМ, а также способность масел к высыханию – образованию при окислении тонкой прозрачной смолоподобной эластичной пленки (линоксин), нерастворимой в органических растворителях [30]. Классификация РМ по способности к высыханию приведена в таблице 4. Для медицины представляют интерес масла невысыхающие, поскольку они используются для парентерального введения ЛС. Высыхающие и полувысыхающие масла могут быть использованы для приготовления мазевых и суппозиторных основ. ЙЧ определяют методом йодхлориметрического или йодбромометрического титрования [31].

Таблица 4.

Взаимосвязь ЙЧ и способности масел к высыханию

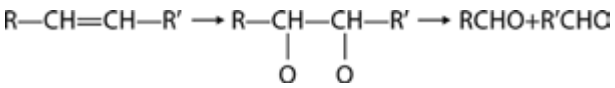
№ п/п	Способность к высыханию	ЙЧ
1	Невысыхающие масла	менее 100
2	Полувысыхающие масла	100–140
3	Высыхающие масла	140 и более

Для одновременного экспресс-определения показателей качества и безопасности РМ (КЧ, ПЧ, АЧ, ЙЧ, цветность, массовые доли фосфорсодержащих веществ, эруковой кислоты, трансизомеров ЖК, влаги и летучих веществ, нежировых примесей) разработан современный физико-химический метод, основанный на регистрации поглощения анализируемых проб в ближней ИК-области (12800–3600 $см^{-1}$) с последующим математическим расчетом значений определяемых показателей по градуировочным образцам, представляющим собой образцы РМ с известными значениями исследуемых величин [28].

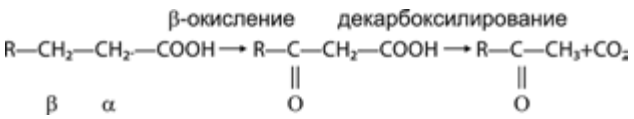
Окисленность масел

Окисление – одна из главных причин порчи масел и жиров. Ненасыщенные ЖК, легко окисляясь по двойным связям, превращаются в перекисные и затем гидроперекисные соединения [30]. У масел, подвергшихся окислительному прогоркнанию, ухудшаются органолептические свойства (вкус и запах). Кроме того, многие продукты окисления могут вызывать отравления и различные заболевания [30]. Известно, что продукты окисления масел и жиров делятся на три группы. Первичные продукты окисления: гидроперекиси, представляющие особую опасность как канцерогены-прооксиданты. Вторичные продукты окисления: карбонильные соединения, эпокиси- и многоатомные спирты. Третичные продукты окисления: карбоновые кислоты и альдегиды низкомолекулярной группы. Различают два типа прогоркания: гидролитическое и окислительное. Гидролитическое прогоркание происходит под действием липаз, чему способствует влага, свет, доступ воздуха, тепло. При этом образуются свободные ЖК. Окислительное прогоркание происходит после гидролитического, но может быть и без него. Различают три вида окислительного прогоркания [32]:

а) неферментативное, связанное с окислением ненасыщенных ЖК кислородом воздуха; при этом кислород присоединяется по месту двойных связей, образуя пероксиды; при разложении пероксидов ЖК получаются альдегиды, придающие маслу неприятный запах и вкус:



б) ферментативное (кетонное) происходит часто при участии микроорганизмов и характерно для жирных РМ, в состав которых входят C_6–C_{12}-кислоты:



в) ферментативное, с участием липоксидаз и липоксигеназ; при этом образуются гидропероксиды, способные окислять БАВ, содержащиеся в масле, например токоферолы и каротиноиды.

Для определения степени и характера изменений липидов в отечественной и зарубежной практике научных исследований используют следующие подходы:

– определение содержания исходных компонентов субстрата [например, свободных ЖК (КЧ), сопряженных диенов, поглощенного кислорода, об-

разовавшихся свободных радикалов, определение жирнокислотного и фракционного состава липидов];

– определение первичных продуктов окисления масла (например, пероксидов – ПЧ) [33]; определение содержания вторичных продуктов окисления жира, таких как малоновый диальдегид, карбонильные соединения и другие вещества (тест с 2-тиобарбитуровой кислотой, альдегидное число, АЧ, тест Kreis, количество карбонильных соединений) [34, 35]; оценка совокупных изменений липидов при тотальном окислении (totox-показатель); косвенные методы, которые включают определение структуры, спектральных характеристик, функциональных свойств и цвета исследуемого объекта.

УФ-спектр масел позволяет рассчитать очень важный параметр – индекс окисленности (ИО), который характеризует качество липидного комплекса масла. Данный параметр отражает накопление суммы продуктов перекисного окисления ЖК остатков липидов [36–40]. В настоящее время в НД [36–40] нередко расчет ИО осуществляется разными методами. В одном случае этот параметр рассчитывают как отношение абсорбции раствора фитопрепарата в органическом растворителе (этаноле) при λ=232 нм (поглощение конъюгатов гидропероксидов) к абсорбции при λ=206–210 нм (поглощение –С–С-связей образца) [40]. ИО, рассчитанный по этой методике, показывает содержания первичных продуктов окисления – конъюгированных гидропероксидов в образце. В другом случае, по данным автора [38], данный показатель рассматривают как отношение абсорбции раствора фитопрепарата в органическом растворителе (этаноле) при λ=233 нм к абсорбции при λ=215 нм. Британская Фармакопея рекомендует рассчитывать соотношение A_{232}/A_{270}, т.е. отношение абсорбции первичных и вторичных продуктов окисления [40]. ИО в настоящее время рекомендован ОФС ГФ XIII для оценки качества РМ фармацевтического назначения [1].

Определение БАВ

Комплекс БАВ РМ, среди которых важнейшими являются каротиноиды, фосфолипиды, токоферолы, биофлаваноиды, полиненасыщенные ЖК, фитостерины и сквален, определяют биологическую ценность масла. Физико-химические показатели, по которым оценивают качество РМ, недостаточно полно характеризуют их фармакологические свойства и не дают информации о качественном и количественном составе БАВ РМ. До недавнего времени нормативная документация (НД) не нормировала содержание основных БАВ РМ [41]. Однако именно они обусловливают их терапевтическую эффективность и безопасность. В ОФС ГФ XIII «Масла жирные растительные» появился раздел «Количественное определение». Различные ГОСТы содержат нормативы только на состав ЖК в РМ [8–20].

Качественная идентификация основных групп БАВ РМ описана в литературе [42] и представлена в таблице 5.

С помощью качественных реакций можно проводить определение не только жирорастворимых БАВ в РМ, но и устанавливать вид РМ (таблица 6).

С применением метода дифференциальной спектрофотометрии исследованы спектральные характеристики РМ, а также изучено влияние на них растворителей [43]. В результате выявлены характеристические полосы поглощения, характерные для РМ и МЭ в органических растворителях, обусловленные присутствием в них различных групп БАВ. Выявленные полосы поглощения при 320–360 нм могут

Таблица 5.

Качественные реакции на основные группы БАВ в РМ и МЭ

№ п/п	БАВ	Реактивы и условия реакции	Аналитический эффект
1	Токоферолы	К 0,5 мл РМ добавляют 0,5 мл конц. азотной кислоты	В течение 1 мин на границе раздела фаз масло – кислота появляется широкое кольцо коричнево-красного цвета. При взбалтывании все масло окрашивается в оранжево-красный цвет
2	Витамины группы К (в присутствии витаминов группы А и Е)	К 1-2 мл РМ добавляют несколько кристалликов резорцина и 3-4 капли конц. серной кислоты	Появляется темное красно-коричневое окрашивание (для светлых масел) или темно-синее (для темноокрашенных масел)
3	Каротиноиды	К 0,5 мл РМ прибавляют 1-2 капли конц. серной кислоты	Появляется темно-синее окрашивание
		К 0,5 мл РМ добавляют 1,0 мл конц. азотной кислоты	При перемешивании в течение 1 мин появляется темно-зеленое окрашивание, переходящее в темно-вишневое при стоянии в течение 10 мин
4	Фосфолипиды, содержащие аминогруппы	К 1-2 мл РМ в фарфоровую чашку добавляют 5 мл ацетона, несколько кристалликов нингидрина и выпаривают на кипящей водяной бане до сухого остатка	Появляется окаемка красно-фиолетового цвета

соответствовать фенольным соединениям; максимумы при 420, 440-456, 472–490 нм близки к спектрам каротиноидов и ЖК; полосы в диапазоне 539–542 нм характерны для антоцианов; 653–672 нм – для хлорофилловых соединений [43].

Таблица 6.

Качественные реакции для установления вида РМ [3]

№ п/п	Вид РМ	Реактивы и условия реакции	Аналитический эффект
1	Миндальное масло	5 мл РМ взбалтывают с 1 мл смеси равных объемов воды, конц. серной кислоты и дымящей азотной кислоты	Получается масса слабо-желтого цвета
2	Абрикосовое масло		Получается масса красного цвета
3	Персиковое масло		
4	Кунжутное масло		Получается масса бурого цвета
5	Хлопковое масло		

Метод ИКС можно успешно использовать при изучении химической структуры не только индивидуальных веществ, но и сложных многокомпонентных смесей, таких как РМ. Безусловно, БАВ РМ вступают во взаимодействие между собой, формируя ассоциаты, конгломераты или др. образования. Актуальность изучаемого вопроса обусловлена недостатком информации в литературе о характере связей между компонентами РМ. К одному из видов таких «ассоциативных взаимодействий» принадлежит водородная связь. Важным критерием, подтверждающим образование данной связи, является появление значительных смещений максимумов поглощения в ИК-спектрах изучаемых объектов [44]. На рисунке 1 в качестве примера представлен ИК-спектр РМ плодов шиповника.

В ИК-спектрах наибольшей интенсивностью характеризуются полосы поглощения различных триглицеридов РМ, имеющих в своем составе функциональные группы, способные поглощать электромагнитное

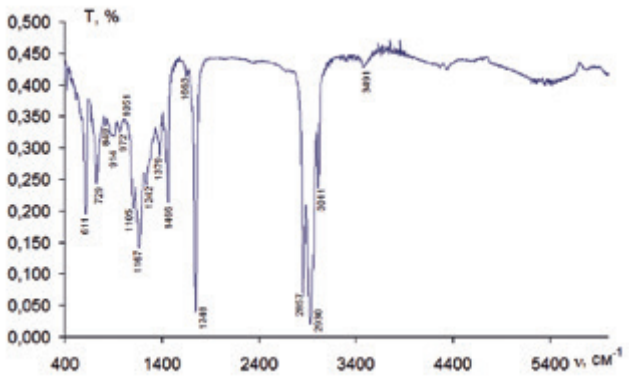


Рисунок 1. **ИК-спектр масла шиповника**

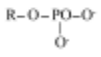
излучение света инфракрасного диапазона длин волн [30]. Изучение структуры РМ и МЭ методом ИКС показало, что они имеют общие характеристические полосы поглощения при 2859–2855; 1379–1375; 1466; 729–727 $см^{-1}$, обусловленные валентными и деформационными колебаниями групп CH, CH_2 и CH_3. В диапазонах частот 1682–1653 и 3013–3011 $см^{-1}$ полосы поглощения соответствуют C=C-группам; полосы поглощения при 1749–1746 $см^{-1}$ соответствуют C=O-связи в сложноэфирной группировке. Кроме того, наблюдаются полосы поглощения в интервале частот 1244–1240 $см^{-1}$, обусловленные наличием групп P=O, а также полосы при 1171–1165 и 1136–1103 $см^{-1}$, связанные с присутствием протонированной P–OH и депротонированной $P–O^-$ фосфатных групп в структуре фосфолипидов, присутствующих в маслах [45]. Отнесение общих характеристических частот поглощения в ИК-спектрах РМ представлено в таблице 7.

На ИК-спектрах РМ, кроме общих характеристических полос, обнаруживаются полосы поглощения, специфические для определенного вида масла, которые можно использовать в качестве критериев при оценке их качества. По наличию полос поглощения в диапазоне частот 1171–1165; 3505–3476 $см^{-1}$ [30], которые обусловлены присутствием токоферолов в маслах, возможно оценивать качество РМ и МЭ.

Анализ ЖК триацилглицеролов. Поскольку более 90% состава липидных комплексов представлено триацилглицеридами, изучение их качественного состава и количественное определение в РМ является традиционным направлением для исследователей жиров и жироподобных веществ. Для разделения ЖК, а также их эфиров и амидов в пределах всего класса липидов наиболее эффективными из доступных сейчас методов являются следующие: ТСХ; ГЖХ на жидких полярных фазах; ВЭЖХ на колонках с обращенной фазой. ЖК в основном разделяют методом ГЖХ на жидких полярных фазах после их превращения в метиловые или бутиловые эфиры [46]. При исследовании ЖК-состава особенное внимание уделяют установлению присутствия трансизомеров ЖК. Цис- и трансизомеры можно успешно разделить с помощью ГЖХ, используя определенные неподвижные фазы. Так, метиловые эфиры олеиновой и элаидиновой кислот можно успешно разделить на достаточно длинных колонках (в м) с 15% OV-275. Для идентификации полиненасыщенных ЖК авторы [46] рекомендуют использовать простой и удобный метод каталитического гидрирования. Сравнивают ГЖХ-хроматограммы до и после гидрирования (исчезают пики, соответствующие ПНЖК, а увеличиваются пики, соответствующие насыщенным ЖК с тем же числом атомов углерода). Предложена усовершенствованная методика определения облепихового масла в препаратах «Олазоль», «Статизоль», «Облекол» и др. методом ГЖХ. Содержание облепихового масла в них составляет всего от 1% до 3%, и судить по сумме каротиноидов о его подлинности и количестве представляется маловероятным. Поэтому наличие облепихового

Таблица 7.

Отнесение общих характеристических частот поглощения в ИК-спектрах РМ

ν, см$^{-1}$ на спектре	Интенсивность	Диапазон частот соответствующей функциональной группы [30]	Тип колебаний и соответствующий структурный фрагмент	Функциональная группа
2859–2855	Сильная	2853±10	Валентное, CH	$-CH_2$
1379–1375	Средняя	1375±10	Деформационное симметрическое, CH	$-CH_3$
1466	Средняя	1450±20	Деформационное ассиметрическое, CH	$-CH_3$
731–725	Средняя	750–720	$(-CH_2-)_4$, скелетные	$-CH_2$
1682–1647	Переменная	1680–1620	Валентное, C=C, несопряженное	–C=C–
3013–3009	Переменная	3040–3010	Валентное, CH	–CH=CH– (транс-)
1749–1746	Сильная	1750–1740	Валентное, C=O	–COOH
	Сильная	1750–1730	Валентное, C=O, насыщенная	RCOOR RCOR
2936–2928	Очень сильная	2940–2915	Валентное, ассимметрическое, $-CH_2-$	$-CH_2$
3505–3472	Слабая	3600–3200	–OH в межмолекулярных H-связях	–OH
1105–1101	Средняя	1116–1105	Валентные скелетные	$-CH_2-$
849–822	Слабая	840–800	Валентное, CH	–C=C– (цис-)
1244–1240	Сильная	1300–1200	Валентное, свободная Группа –P=O	Фосфаты 
	Сильная	1240–1180		
1171–1165	Очень сильная	1200–1150	Валентное, связанная группа –P=O	
974–968	Слабая	980–965	Неплоские, деформационные, –C–H	–C=C– (транс-)
918–912	Очень слабая	918	Эфиры	–C–O–C–
729–725	Сильная	745–705	Деформационное, –C–H	C–H

масла в препаратах устанавливается путем определения содержания пальмитиновой кислоты с введением внутреннего стандарта (миристиновой кислоты). В отличие от традиционных методов абсолютное количество облепихового масла рассчитывается по отношению к сумме всех ЖК с введением соответствующих калибровочных коэффициентов. Количественное отношение олеиновой кислоты к пальмитиновой должно быть не менее 0,9, что характеризует достоверное содержание облепихового масла. Сводные данные по составу ЖК в различных РМ фармацевтического назначения обобщены в таблице 8.

Таблица 8.

Состав ЖК различных РМ фармацевтического назначения

№ п/п	РМ	Основной тип жиров	Содержание и состав ЖК, %		
			насыщенные	мононенасыщенные	ПНЖК
1	Оливковое	Мононенасыщенные	15–17	62–66	22–28
2	Рапсовое		2–6	28–54	22–32
3	Хлопковое	Полиненасыщенные	22–25	30–35	40–48
4	Пальмовое	Насыщенные	44–57	40–45	До 9
5	Кокосовое		До 90	5–10	1–2
6	Кукурузное	Полиненасыщенные	10–14	30–49	48–56
7	Арахисовое	Мононенасыщенные	13–22	50–63	13–33
8	Подсолнечное	Полиненасыщенные	6–12	24–40	46–63
9	Соевое		12–14	23–29	54–63
10	Кунжутное		10–16	35–48	37–48
11	Льняное		9–11	13–29	59–91

Триглицеридный состав РМ. Для получения данных о триглицеридном составе РМ все чаще применяют обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ с рефрактометрическим и УФ-детекторами [47–50]. Поскольку обнаружение по поглощению в УФ-области спектра не позволяет уловить малые количества ЖК, были разработаны методы получения производных с сильным поглощением в УФ-области. Показано, что метод ВЭЖХ может быть использован также для количественного определения суммы триглицеридов в РМ различных типов [47–50]. В работе [47] описано, что применение поливолнового режима детектора позволяет контролировать не только триглицериды, но и при 254–270 нм жирорастворимые витамины, антиоксиданты и другие соединения (рисунок 2).

Методами ВЭЖХ и хромато-масс-спектрометрии получены хроматографические профили ЖК, токофе-

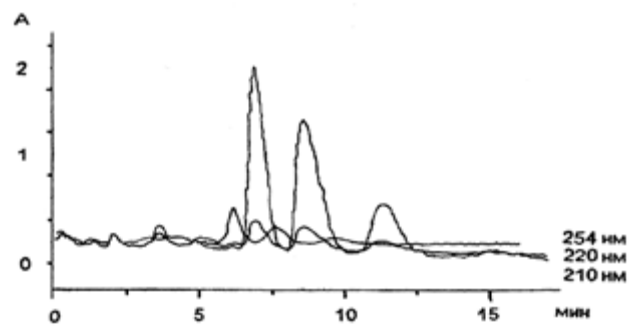


Рисунок 2. ВЭЖХ-хроматограмма облепихового масла, зарегистрированная при трех длинах волн

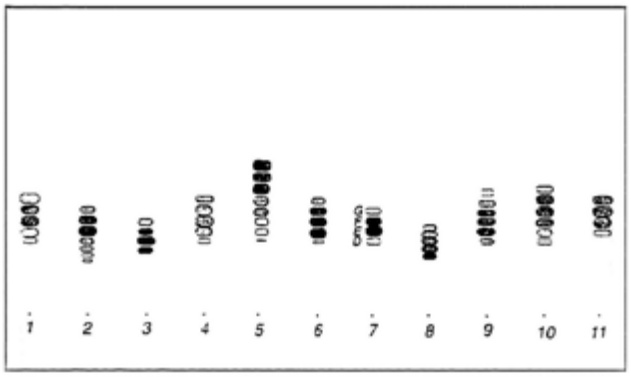


Рисунок 3. Типичный вид хроматограммы для идентификации жирных РМ (1. Кукурузное масло; 2. Арахисовое масло; 3. Масло какао; 4. Сезамовое масло; 5. Льняное масло; 6. Миндальное масло; 7. Оливковое масло; 8. Рапсовое масло; 9. Рапсовое масло (без эруковой кислоты); 10. Соевое масло; 11. Подсолнечное масло)

ролов, стеринов и монотерпенов, определены основные показатели, характеризующие качество, пищевую и биологическую ценности РМ, обогащенных БАВ.

Для исследования ЖК возможно также использование БХ и ТСХ. Так, например, для разделения ЖК масла семян бузины черной, снежной ягоды, жимолости монетолистной и абелии щитковидной была использована техника ТСХ на силикагеле в системе петролейный эфир – диэтиловый эфир – ледяная уксусная кислота (9:1:0,1) [46].

В Европейской Фармакопее (ЕФ) [51–53] изложен простой, доступный и экспрессный способ идентификации РМ методом ТСХ, который позволяет однозначно определить вид масла. Неподвижной фазой служит модифицированный C_{18} силикагель для ВЭТСХ. Проводят двукратное элюирование сначала первой подвижной фазой – диэтиловым эфиром (высота пробега – 0,5 см), а затем двукратное элюирование второй подвижной фазой (высота пробега – 8 см) – смесью метиленхлорид : уксусная кислота : ацетон (20:40:50). Объем пробы – 1 мкл раствора 20 мг масла в 3 мл метиленхлорида. Проявитель – 10% спиртовый раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК). Типичный вид хроматограмм РМ приведен на рисунке 3.

В отечественной литературе также описана подобная методика идентификации РМ и МЭ методом ТСХ [54, 55]. Сравнительная характеристика методик представлена в таблице 9.

При анализе отечественной литературы была обнаружена работа [56], в которой авторы также предлагают идентифицировать и прогнозировать свойства РМ с применением хроматографических профилей ЖК, токоферолов и стеринов.

ЖК, входящие в состав триацилглицеринов, могут быть определены с использованием ферментативных методов. Так, А.У. Умаровым был предложен метод ферментативного гидролиза жиров с вариантом расчета типа триацилглицеролов, позволяющим определить их глицеридный состав в соответствии с характером ЖК-состава масел для представителей семейств зонтичных, мальвовых, розоцветных, крестоцветных, жимолостных, яснотковых, гранатовых [46].

Таблица 9.

Сравнительная характеристика методик идентификации РМ и МЭ методом хроматографии в тонком слое сорбента

№ п/п	Показатель	Отечественная методика [54]	Методика ЕФ 6.0 [51-53]
1	Время анализа	30–40 мин	60–70 мин
2	Пробоподготовка	Раствор масла в хлороформе 0,1 г/мл	Раствор масла в метиленхлориде 0,007 г/мл
3	Тип пластин для ТСХ	Силикагелевые пластинки марки Sorbfil 10×15 см с полимерной подложкой	Пластинки с модифицированным C_{18} силикагелем для ВЭТСХ 10×10 см
4	Подвижная фаза	Гексан – этанол (10:0,25)	Диэтиловый эфир; Метиленхлорид – уксусная кислота – ацетон (20:40:50)
5	Высота пробега	12–13 см	0,5 см; 8 см
6	Проявитель	10% спиртовый раствор ФМК	

Анализ каротиноидов в РМ. В составе липидных комплексов растительных объектов обнаружено свыше 80 каротиноидов. К ним относятся β-каротин, его природные (структурные и пространственные) изомеры, алифатический изомер каротина – ликопин, а также значительное количество каротиноидов, являющихся окси- и оксопроизводными структурных изомеров β-каротина.

Суммарное содержание каротиноидов в РМ в пересчете на β-каротин, как правило, является единственным критерием стандартизации РМ по содержанию БАВ [19–20,57] и определяется с помощью спект-

рофотометрии в видимой области. Метод включен в ФС на масло шиповника, облепиховое масло и различные ЛС на его основе. Однако данный подход не дает представления о присутствии отдельных компонентов в сумме.

Методика разделения каротиноидов колоночным методом разработана еще М.С. Цветом, и за все последующие годы усовершенствованы лишь ее детали. Каротины лучше разделять на сорбентах с более высокой полярностью, а органические растворители, обладающие высокой элюирующей способностью (этанол, метанол), хорошо элюируют с адсорбента ксантофиллы. Используются также смеси полярных и неполярных растворителей. При этом даже незначительные количества полярных растворителей в такой смеси резко повышают ее элюирующую способность. В случае использования хроматографии со ступенчатым элюированием хроматограмма последовательно промывается растворителями повышающейся полярности или системой растворителей, например петролейный эфир – ацетон (99:1; 98:2; 95:5; 90:10 и т.д.). При этом добиваются поочередного элюирования каротиноидов или их смесей в приемнике. Колоночный метод хроматографирования позволяет разделить большие количества каротиноидов на группы и индивидуальные вещества, подготовить экстракты для анализа другими методами, например методом ТСХ [46].

Значительное количество публикаций посвящено использованию ТСХ в анализе веществ каротиноидной природы. Разделяя одни и те же каротиноиды методом ТСХ, исследователи часто добиваются хороших результатов, используя различные адсорбенты и системы растворителей. С применением в качестве элюента малополярной системы гексан – бензол (19:1) проведено разделение каротиноидов в облепиховом масле и масле шиповника [58].

Большие возможности в области идентификации и количественного определения каротиноидов в РМ открываются при использовании ВЭЖХ. Метод ВЭЖХ широко применяется для разделения и количественного определения α- и β-каротинов, ликопина, криптоксантина, лютеина, зеаксантина. Наряду с ВЭЖХ широкое применение нашли также ГЖХ и газовая хроматография / масс-спектрометрия (ГХ/МС) – уникальные методы анализа каротиноидов и ретинолов. Они позволяют не только быстро идентифицировать вещества, но и определять их молекулярную массу, получать информацию, касающуюся стереохимии первоначального каротиноида [46].

Анализ стеринов РМ. К неомыляемой фракции жирных РМ также относятся высокомолекулярные циклические спирты, имеющие стероидный скелет – стерины. В действующей НД на жирные масла не регламентируется компонентный состав стериновой фракции. Стерины с трудом поддаются разделению, что, в частности, связано с высоким содержанием гомологов в данном классе соединений. Методикам хроматографического анализа стеринов в маслах посвящен ряд работ. В зарубежной печати опубликованы работы обзорного характера, посвященные анализу растительных стеринов методом ГХ. В ГФ Украины 1 изд. и ЕФ [59] присутствует ОФС «Стерины в жирных маслах», которая описывает методику определения компонентного состава стериновой фракции в различных РМ и количественного содержания стеринов методом ГХ. Методика основана на получении неомыляемого остатка анализируемого масла, далее из неомыляемого остатка методом ТСХ выделяют стериновую фракцию, компонентный состав которой определяют методом ГХ после обработки силилирующим реактивом [59].

Для разделения сложных смесей растительных стеринов часто используются методики ВЭЖХ. Высокой разрешающей способностью обладает адсорбционная хроматография на силикагеле, проводимая в режиме изократического, градиентного или рециклического элюирования [46].

Анализ токоферолов РМ. Эти вещества экстрагируют каким-либо органическим растворителем (гексаном, диэтиловым эфиром, дихлорметаном), а затем путем гидролитической обработки сырого экстракта получают содержащую витамин Е фракцию неомыляемых липидов, которые можно сравнительно легко разделить, используя разнообразные хроматографические методы. ТСХ нашла широкое применение как метод определения витамина Е во многих образцах [60–62]. Определение витамина А и Е в РМ осуществляют с применением аттестованной методики ГОСТ 30417 [63], в соответствии с которой выделяют из масел неомыляемую фракцию БАВ с последующим разделением витаминов в тонком слое сорбента, их элюированием и количественным анализом на фотоэлектроколориметре после добавления цветореагентов – реактива Эммера – Энгеля и хлорида сурьмы (III) для токоферолов и ретинола соответственно. Разработаны многочисленные хроматографические методики, позволяющие проводить определение жирорастворимых витаминов без процедуры омыления [60, 61].

С целью количественной оценки содержания токоферолов в растительных объектах большинство авторов используют ГЖХ. Наиболее приемлемые результаты по разделению позиционных изомеров β- и γ-токоферолов были получены с применением ВЭЖХ [46].

Анализ фосфолипидов (ФЛ). Липиды семян, как известно, подразделяются на несколько классов, таких как нейтральные липиды, ФЛ, гликолипиды. Для ТСХ основных типов ФЛ РМ в качестве растворителей наиболее широко используют смеси метанола, хлороформа и воды с добавлением уксусной кислоты или без последней и раствора аммиака. Прекрасного разделе-

ния ФЛ при одномерной ТСХ можно достигнуть, применив в качестве элюента систему хлороформ – метанол – раствор аммиака (13:7:1 или 13:5:1). Эта система также нашла широкое применение в анализе ФЛ как РМ, так и животных тканей и синтетических образцов. В двумерной ТСХ наиболее часто применяются смеси хлороформ – метанол – 4 М раствор аммиака (13:7:1) или хлороформ – метанол – 7 М раствор аммиака – вода (26:14:1:1). Так, при наличии фосфатидилхолина при обработке хроматограмм 5% спиртовым раствором ФМК образуются синие пятна на желтом фоне. Все ФЛ, содержащие NH_2-группу (фосфатидилэтаноламин, лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин), проявляются после обработки 0,3% раствором нингидрина в н-бутаноле, содержащем 3% уксусную кислоту, в виде розовых пятен на белом фоне и др. Количественное определение ФЛ в РМ аттестованным методом сводится к измерению содержания фосфата, входящего в состав этих соединений [46] в пересчете на стеароолеолецитин или фосфорный ангидрид.

Последние достижения в области ВЭЖХ ФЛ продемонстрировали большие возможности колонок с кремниевой кислотой и эффективность проводимого на них разделения в сочетании с количественной оценкой. Однако количества веществ, которые можно разделить с помощью этого метода, сравнительно невелики, поэтому он вряд ли найдет применение в рутинных анализах [46].

Определение флавоноидов в экстракционных маслах

В литературе приводятся результаты исследований, подтверждающих ярко выраженную зависимость биологического действия экстракционных масел от количественного содержания в них флавоноидов [64]. Флавоноиды в РМ попадают в процессе экстракции растительного сырья маслами-экстрагентами. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в РМ в присутствии каротиноидов методом дифференциальной спектрофотометрии. Для анализа содержания суммы флавоноидов в РМ плодов облепихи и шиповника в пересчете на рутин измеряют оптическую плотность 0,2% спиртовых растворов РМ при длине волны 362,5±2 нм. В качестве раствора сравнения используют спиртовой раствор стандартного образца β-каротина после предварительного разведения подсолнечным маслом до концентрации, равной содержанию каротиноидов в анализируемом РМ, определенному фотоэлектроколориметрически по общепринятой методике, входящей в НД на препараты [19, 20]. Параллельно проводят измерение оптической плотности спиртового раствора стандартного образца рутина с содержанием 4 мкг/мл относительно растворителя. Данный метод позволяет количественно определить биологически активные флавоноиды экстракционных масел из лекарственных растений.

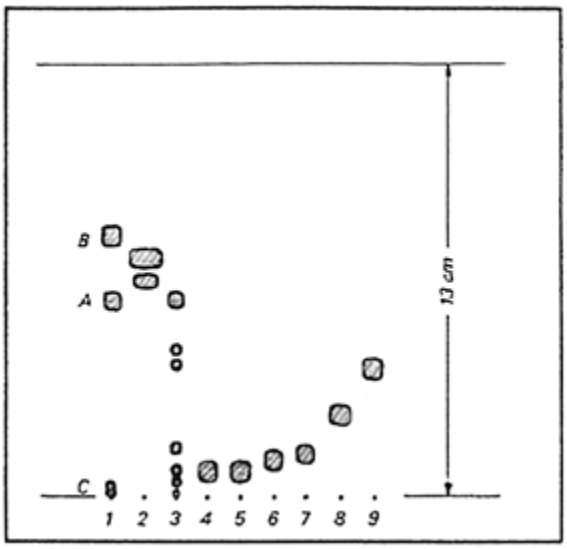
Определение антиоксидантов (АО) в РМ

Одним из обязательных требований к частной ФС на конкретное РМ является указание названия введенного экзогенного АО, определение его подлинности и количественного содержания [65]. Для ГФ XIII издания подготовлен проект ОФС, в который включены методики определения качественного содержания АО в РМ. Проект ОФС составлен на основе статей ГФ Республики Казахстан, ГФ Республики Беларусь и ЕФ [51–53]. Испытания проводят методом ТСХ. Идентифицируют неполигидроксиантиоксиданты (НПГАО), полигидроксиантиоксиданты (ПГАО) и АО, нерастворимые в метиловом спирте. Условия проведения анализа представлены в таблице 10. Вид получаемых хроматограмм приведен на рисунке 4. Идентификация АО осуществляется путем сравнения положения пятен на хроматограммах испытуемого раствора со свидетелями.

Определение антиоксидантной активности (АОА) РМ и МЭ фармацевтического назначения. Известно, что МЭ из растительного сырья содержат целый комплекс БАВ, обладающих АОА (токоферолы, каротиноиды, фосфолипиды, флавоноиды и др.). В литературе описано определение АОА масла из зародышей пшеницы на модели Fe^{2+}-индуцированного перекисного окисления липидов мембран липосом методом хемилюминесцентного анализа, а также спектрофотометрически по накоплению продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой [66]. Показано, что мембранозащитное действие масла обусловлено содержанием токоферолов, обрывающих цепь АО. Данная методика длительна, трудоемка и требует специального оборудования, а также больших затрат реактивов и материалов. АОА РМ и МЭ фармацевтического назначения, которой соответствует концентрация БАВ восстанавливающего характера, авторы в работе [67] определяли титриметрически по методике, разработанной Т.В. Максимовой с соавторами. В качестве титрантов использовали спиртовые извлечения (1:20) из РМ и МЭ, полученные методом мацерации, с применением в качестве экстрагентов 70% и 96% этанола. Точку эквивалентности устанавливали по обесцвечиванию 0,05 М раствора калия перманганата в присутствии разведенной серной кислоты. В качестве растворов сравнения использовали такие известные АО, как рутин и кверцетин [67]. Данная методика проста в исполнении, однако позволяет определить только суммарную АОА РМ.

Определение показателей чистоты и безопасности применения РМ. В соответствии с НД РМ и МЭ подвергаются анализу на степень чистоты по следующим показателям: наличие мыла (качественная проба); присутствие воска, парафина, перекисей, альдегидов и смоляных масел; содержание влаги и летучих веществ; присутствие воды, белков и посторонних ма-

А. Вид хроматограмм при идентификации НПГАО и АО, нерастворимых в метиловом спирте (1 – гваяковая смола; 2 – 3-(1,1-диметилэтил)-4-метоксифенол; 3 – 2-(1,1-диметилэтил)-4-метоксифенол; 4 – 2,2,5,7,8-пентаметил-6-хроманол; 5 – тетраэтилтиурам дисульфид; 6 – α-токоферол; 7 – дибутилгидроксианизол; 8 – бутилгидрокситолуол)



Б. Вид хроматограмм при идентификации ПГАО (1 – окрашенная зона на старте; 2 – бутилированный гидроксианизол; 3 – гваяковая смола; 4 – нордигидрогваяретовая кислота; 5 – метилгаллат; 6 – этилгаллат; 7 – пропилгаллат; 8 – октагаллат; 9 – декагаллат)

Рисунок 4 а и б. Вид хроматограмм при идентификации АО в РМ (a, b и c – пятна на старте; А – желтый; В – красный; С – синий)

сел [68–70]. Для косточковых масел проводят испытание также на цианиды и синильную кислоту. Основные требования в отношении степени чистоты РМ обобщены в таблице 11.

Основными тяжелыми металлами, нормируемыми в РМ, согласно ОФС ГФ XIII [1] являются свинец, мышьяк, кадмий и ртуть. В соответствующих ГОСТах на отдельные виды РМ дополнительно определяют железо и медь. Допустимые нормы по содержанию тяжелых металлов для РМ пищевого назначения и БАД на основе РМ приведены в таблице 12.

Таблица 10.

Условия проведения ТСХ-анализа АО в РМ

Тип АО	Пробоподготовка	Условия ТСХ-анализа	Проявитель
НПГАО			
Пространственно замещенные алкилфенолы	Раствор РМ в метаноле	Пластинки с силикагелем G; двумерное хроматографирование: элюент 1 – хлороформ (высота пробега 10 см), элюент 2 – бензол (высота пробега 10 см). Если на линии старта обнаруживаются синие пятна, то идентифицируют ПГАО	20% спиртовой раствор ФМК
ПГАО			
Нордигидрогваяретовая кислота и алкилгаллаты	Раствор РМ в метаноле	Пластинки с силикагелем G; элюент: ледяная уксусная кислота – бензол – петролейный эфир (30:60:60)	20% спиртовой раствор ФМК
АО, нерастворимые в метиловом спирте			
α-токоферол, бутилгидрокситолуол	Неомыляемые АО растворяют в петролейном эфире, полученные после кипячения	Пластинки с силикагелем G; двумерное хроматографирование: элюент 1 – хлороформ, элюент 2 – бензол. Если на линии старта обнаруживаются синие пятна, то идентифицируют ПГАО	0,01% спиртовой раствор 2,6-дихлорхинонхлоримида

Таблица 11.

Основные требования в отношении степени чистоты РМ фармацевтического назначения [1, 3, 51–53, 68–70]

№ п/п	Примесь	Реактивы и условия реакции	Аналитический эффект
1	Парафин, воск, смоляные масла	1 мл РМ нагревают с 10 мл 0,5 М спиртового раствора КОН при непрерывном взбалтывании, омыление наступает очень быстро	Полученный прозрачный раствор не должен мутнеть от добавления 25 мл воды
2	Вода и белки	1 мл РМ растворяют в 2 мл бензина	Растворы должны оставаться прозрачными и без осадка
3	Мыла для масел, не предназначенных для приготовления инъекционных растворов	В конической колбе вместимостью 250 см^3 предварительно кипятят 50 см^3 дистиллированной воды с несколькими каплями фенолфталеина (при этом вода должна оставаться бесцветной), а затем добавляют около 10 см^3 испытуемого масла и кипятят еще в течение 5–10 мин. Для равномерного кипения в колбу помещают кусочки пемзы или стеклянные капилляры. По окончании кипячения колбу ставят на лист белой бумаги и добавляют еще несколько капель фенолфталеина	Раствор не должен приобретать розовое окрашивание, что говорит об отсутствии мыла или его содержании в количестве не более 0,01%
4	Мыла для масел, предназначенных для приготовления инъекционных растворов	5 мл масла сжигают в фарфоровом тигле и прокаливают	Остаток не должен превышать 0,01%
		К остатку прибавляют 1 мл воды и при легком нагревании добавляют 2 капли фенолфталеина	Жидкость не должна окрашиваться в стойкий розовый цвет. Содержание мыла в масле – не более 0,001%
5	Примеси мыла в РМ (по ЕФ)	10 мл РМ растворяют в конической колбе в смеси 10 мл ацетона и 0,3 мл воды, добавляют 0,05 мл 0,04% спиртового раствора бромфенолового синего	Добавление не более 0,1 мл 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной должно вызывать изменение синей окраски на желтую
6	Перекиси, альдегиды	1 мл РМ взбалтывают в течение 1 мин с 1 мл конц. соляной кислоты, прибавляют 1 мл эфирного раствора флороглюцина (1:1000) и снова встряхивают	Не должно наблюдаться розового или красного окрашивания
7	Цианиды, синильная кислота	В небольшую колбу вносят 5 мл РМ и 5 мл разведенной серной кислоты. Колбу неплотно закрывают корковой пробкой со щелью в нижней части пробки по диаметру. В щель вставляют полоску фильтровальной бумаги шириной 1 см и такой длины, чтобы нижний край полоски находился на 1–1,5 см над уровнем жидкости. Нижний конец полоски смачивают 1 каплей раствора едкого натра. Колбу закрывают пробкой со вставленной полоской и ставят на горячую водяную баню на 15 мин. Затем колбу снимают, кончик полоски, смоченный раствором едкого натра, отрезают и помешают в фарфоровую чашку. На бумагу в чашке наносят 1 каплю насыщенного раствора сульфата закисного железа и нагревают на водяной бане 1 мин. На бумагу в чашке наносят 1 каплю 5% раствора хлорида окисного железа и 1 каплю концентрированной соляной кислоты	Не должно наблюдаться синего или голубого окрашивания жидкости или бумаги
8	Минеральные масла	4 г РМ нагревают на водяной бане в колбе с обратным холодильником при частом взбалтывании с 50 мл 0,5 М спиртового раствора едкого кали до полного омыления. К 20 мл омыленной жидкости прибавляют 40 мл теплой воды	Раствор должен оставаться прозрачным

Таблица 12.

Допустимые нормы для РМ пищевого назначения и БАД на основе РМ, мг/кг [1, 6]

№ п/п	Тяжелый металл	Предельно допустимое содержание
1	Pb	0,1 (арахисовое 0,2)
2	Cd	0,05
3	Hg	0,03
4	As	0,1
5	Cu	0,5
6	Fe	5,0
7	Ni (в арахисовом гидрогенизированном масле по ЕФ)	1,0

Нормирование радионуклидов и остаточных пестицидов, а также веществ канцерогенного действия – бензопиренов и микотоксинов проводится только для РМ, контролируемых ГОСТами. Микотоксины в РМ определяют в соответствии с требованиями СанПин [6] преимущественно методами ИФА и ВЭЖХ. В некоторых НД испытание на присутствие микотоксинов в РМ проводят по биотесту с инфузориями [10]. Для здоровья человека одними из наиболее опасных токсинов являются афлатоксин, содержание которого должно быть не более 0,005 мг/кг для нерафинированных РМ и масличных культур, и охратоксин, содержание которого не нормируется [6].

Микробиологическая чистота РМ. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота» (категория 3А) для фармакопейных масел. В 1 г испытуемого масла допускается наличие не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов (суммарно). Не допускается наличие бактерий *Escherichia coli* [1]. Предельно допустимое содержание микрофлоры для МЭ фармацевтического назначения не разработано. Для оценки их качества по показателю микробиологическая чистота могут быть использованы нормативы, рекомендованные СанПин 2.3.2.1078-01 [6] для РМ и БАД на основе РМ (таблица 13).

Хранение РМ. В результате длительного хранения на свету, при повышенной температуре или под действием микроорганизмов РМ портятся (прогоркают), что сопровождается ухудшением органолептических свойств, а также повышением КЧ, ПЧ, АЧ, ИО и снижением величин ЙЧ, ПП и ЧО. Установлено, что окисление БАВ РМ происходит задолго до изменения данных физико-химических показателей [30]. Продукты окисления ЖК, низкомолекулярные ЖК и их глицериды, продукты распада каротиноидов, стеринов, витаминов, ФЛ придают РМ неприятный запах и вкус [2]. Для предотвращения прогоркания РМ хранят в герметичной упаковке, максимально наполненной, в сухом прохладном затемненном месте. Срок годности РМ зависит от содержания в нем ЖК и витамина Е. РМ с высоким содержанием насыщенных ЖК сохраняются дольше масел, у которых высокое содержание ненасыщенных ЖК. Содержание витамина Е также увеличивает срок годности масла [2].

Таблица 13.

Нормативы микробиологической чистоты для МЭ и масел-экстрагентов, применяемых в фармации по НД [6]

№ п/п	Нормируемый показатель	Требования по НД					
		КМАиФАМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи, КОЕ/г, не более	Плесени, КОЕ/г, не более
			БГКП (коли-формы)	Staphylococcus aureus	Патогены (в т.ч. сальмонеллы)		
1	Допустимые нормы для РМ, БАД на основе РМ пищевого назначения	–	0,001	–	25	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$
2	Допустимые нормы для РМ для наружного применения	$1 \cdot 10^4$	0,01	–	25	50	50

Примечание: КМАиФАМ – количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов; БГКП – бактерии группы кишечной палочки; КОЕ – колоний образующих единиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка современных подходов к стандартизации РМ и МЭ фармацевтического назначения продолжает оставаться актуальной задачей. РМ являются весьма сложными объектами для анализа. Это связано с малым содержанием БАВ в них, переменностью состава, зависящего от качества исходного растительного сырья, технологии производства, а также нестойкостью при хранении вследствие самопроизвольно происходящих каскадных реакций перекисного окисления липидов. БАВ РМ при этом выполняют роль эндогенных АО, так как относятся к группе легкоокисляющихся веществ (токоферолы, каротиноиды). В настоящее время, конечно, наметилась тенденция к переходу стандартизации РМ по содержанию БАВ, обусловливающих фармакологическую активность, что отвечает современным веяниям в вопросах оценки качества РМ, применяемых в фармации, на мировом уровне. Значительно расширился в последних НД перечень показателей безопасности применения РМ [71]. Более дифференцированы подходы к определению степени окисленности РМ. Так, традиционное измерение величины ПЧ титриметрическим методом сегодня дополняется оценкой накопления более глубоких продуктов окисления липидов (альдегидов и кетонов) современными физико-химическими методами. Исследование состава ЖК дополняется в НД требованиями по установлению присутствия и количественного содержания трансизомеров ЖК, известных своими негативными эффектами на организм человека. Все это в совокупности позволит сделать стандартизацию РМ и МЭ фармацевтического назначения более прозрачной, отвечающей современному уровню развития фармацевтической науки.

ЛИТЕРАТУРА

1. ОФС «Масла жирные растительные» // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. URL: http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey (дата обращения 11.10.2015).
2. Н.С. Терешина, З.П. Костенникова, И.А. Самылина. Масла, используемые для получения гомеопатических лекарственных форм // Фармация. 2011. № 8. С. 48–51.
3. Государственная фармакопея СССР. 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. С. 483–485.
4. А.Н. Шиков, В.Г. Макаров, В.Е. Рыженков. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства. – М.: Русский врач, 2004. С. 100–112.
5. С.А. Минина, И.Е. Каухова. Химия и технология фитопрепаратов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. С. 252.
6. СанПин 2.3.21078-01. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов от 14.11.2001/22.03.02. URL: http://www.service-holod.ru/SanPiN2/SanPiN_2_3_2_1078_01.htm (дата обращения 21.02.2016).
7. ГОСТ 18848-73. Масла растительные. Показатели качества. Термины и определения. – М.: Стандартинформ, 2005. 5 с.
8. ГОСТ Р 52465-2005. Масло подсолнечное. – М.: Изд-во стандартов, 2007. 16 с.
9. ГОСТ 6757-96. Масло касторовое техническое. – М.: Изд-во стандартов, 1997. 7 с.
10. ГОСТ 8808-2000. Масло кукурузное. – М.: Изд-во стандартов, 2002. 11 с.
11. ГОСТ 8990-59. Масло кунжутное. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 6 с.
12. ГОСТ Р 53510-2009. Масло соевое. – М.: Изд-во стандартов, 2010. 14 с.
13. ГОСТ 1128-75. Масло хлопковое рафинированное. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 9 с.
14. ГОСТ 5791-81. Масло льняное техническое. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 7 с.
15. ГОСТ 10113-62. Масло рыжиковое. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 5 с.
16. ГОСТ Р 53457-2009. Масло рапсовое. – М.: Изд-во стандартов, 2010. 14 с.
17. ГОСТ 10766-64 с изменениями и дополнениями. Масло кокосовое. – М.: Изд-во стандартов, 1964. 7 с.
18. ГОСТ Р 53776-2010. Масло пальмовое рафинированное. – М.: Изд-во стандартов, 2010. 11 с.
19. ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей. неполная информация
20. ФС 42-42-10179-99. Масло шиповника. – М.: Изд-во стандартов, 1999. 16 с.
21. ГОСТ 31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. 11 с.
22. ГОСТ 31665-2012. Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. 11 с.
23. ГОСТ 5472-50. Масла растительные. Определение запаха, цвета и прозрачности. 1990. С. 9–12.

24. ГОСТ 5482-90. Масла растительные. Метод определения показателя преломления. – М.: Изд-во стандартов, 1992. С. 56–57.

25. ГОСТ 5478-90. Масла растительные и натуральные жирные кислоты. Метод определения числа омыления. – М.: Изд-во стандартов, 1992. С. 39–41.

26. ГОСТ 5477-93. Масла растительные. Метод определения цветности. – М.: Изд-во стандартов, 1995. С. 33–37.

27. ГОСТ 50457-92. Масла растительные. Методы определения кислотного числа. – М.: Изд-во стандартов, 1992. С. 177–180.

28. ГОСТ Р 54896-2012. Масла растительные. Определение показателей качества и безопасности методом спектроскопии в ближней инфракрасной области. – М.: Стандартинформ, 2012. 11 с.

29. Патент РФ № 2119161. МПК G 01 N 33/00. Способ потенциометрического определения кислотного числа растительного масла / В.Е. Акулинин, О.Е. Рувинский, С.Я. Шарудина; патентообл. Кубанский государственный технологический университет; заявл. 20.05.1997; опубл. 20.09.1998.

30. О.В. Чечета. Исследования по стандартизации и оценке качества растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации: дисс. … к.фарм.н. – Курск. 2009.

31. ГОСТ 5475-69. Масла растительные. Методы определения йодного числа. – М.: Изд-во стандартов, 1987. С. 20–23.

32. А.В. Луговой, Н.И. Чертков, А.Г. Сергеев, А.Н. Миронова. Хранение растительных масел и жиров. – М.:Агропромиздат, 1989. С. 19–23.

33. ГОСТ 51487-99. Масла растительные. Метод определения перекисного числа. – М.: Изд-во стандартов, 1999. С. 89–93.

34. ГОСТ 31756-2012. Жиры и масла животные и растительные. Определение анизидинового числа. – М.: Стандартинформ, 2014. 12 с.

35. ГОСТ Р 55810-2013. Метод определения тиобарбитурового числа. – М.: Стандартинформ, 2014. 6 с.

36. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение спектральных характеристик спиртовых растворов растительных масел и масляных экстрактов методом УФ-спектрофотометрии // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2007. № 2. С. 171–173.

37. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, О.В. Фролова. Оценка качества растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2007. № 2. С. 174–177.

38. Е.Ф. Сафонова. Выделение и изучение фосфолипидов масла семян амаранта: автореф. дисс. … к.х.н. – М. 2004. 28 с.

39. М.В. Гаврилин, Л.С. Ушакова, М.В. Гаврилова. Альтернативные показатели качества жирных масел // Сборник науч. трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». – Пятигорск. 2009. Вып. 64. С. 261–263.

40. Н.Н. Глущенко, Т.А. Лобаева, Т.А. Байтукалов и др. Анализ показателей качества фитопрепаратов на основе жирных растительных масел // Фармация. 2005. № 3. С. 7–9.

41. Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, А.А. Назарова и др. Проблемы стандартизации растительных масел и масляных экстрактов // Тезисы докл. 2-й Всероссийской научно-методической конференции «Фармобразование-2005». – Воронеж. 2005. С. 389–391.

42. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Экспресс-анализ в оценке качества растительных масел и масляных экстрактов // Материалы IX Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке». – М. 2008. С. 199–200.

43. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, С.В. Снопов, А.И. Сливкин. Исследование спектральных характеристик растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации // Материалы Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармобразование-2010», Ч. II. – Воронеж. 2010. С. 403–406.

44. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Исследование возможности применения ИК-спектроскопии для стандартизации и оценки качества растительных масел и масляных экстрактов // Тезисы докл. 4-й Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармобразование-2010», Ч. II. – Воронеж. 2010. С. 394–398.

45. Н.С. Арутюнян, Е.П. Корнена. Фосфолипиды растительных масел // М.: Агропромиздат, 1986. 256 с.

46. Н.А. Тюкавкина, А.С. Берлянд, Т.Е. Елизарова и др. Стандартизация и контроль качества лекарственных средств: учебное пособие / Под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М.: Медицинское информационное агенство, 2008. 384 с.

47. В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, Н.Г. Габрук и др.. Анализ растительных масел с использованием ВЭЖХ // Журнал аналитической химии. 2003. Т. 58. № 12. С. 1294–1299.

48. В.И. Денисов, Л.А. Дейнека. Анализ растительных масел методом микроколоночной высокоэффек-

тивной жидкостной хроматографии // Журнал аналитической химии. 2004. Т. 59. № 9. С. 993–997.

49. О.Б. Рудаков, К.К. Полянский. Хроматографическая идентификация растительных масел // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. № 10. С. 37–40.

50. О.Б. Рудаков, К.К. Полянский. Развитие метода интерпретации хроматограмм животных жиров // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. № 10. С. 40–42.

51. European Pharmacopoeia: Supplement, 1997. 2nd ed. – Strasbourg: Council of Europe, 1996. XVIII. 1765 p.

52. European Pharmacopoeia: Supplement, 2001. 3rd ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2000. V.XIV. 1705 p.

53. European Pharmacopoeia: Supplement. 6th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2008. 3905 p.

54. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Вып. 4. С. 646–653.

55. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Применение метода тонкослойной хроматографии для идентификации растительных масел и масляных экстрактов // Сборник материалов XVI национального конгресса «Человек и лекарство». – М. 2009. С. 765–766.

56. О.А. Рабина, А.И. Вялков, Е.И. Черняк и др. Анализ хроматографических профилей жирных кислот, токоферолов и стеринов как метод идентификации и прогнозирования свойств растительных масел и продуктов // Тезисы докл. V Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ». – Уфа. 2008. С. 245.

57. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, Г.А. Оголь. Определение суммы каротиноидов в растительных маслах и масляных экстрактах // Тезисы докл. 3-й Всероссийской научно-методической конференции «Фармобразование-2007». Ч. I. – Воронеж. 2007. С. 306–308.

58. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Изучение каротиноидного состава растительных масел плодов облепихи и шиповника методом ТСХ // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. Т. 9. № 2. С. 3–6.

59. Э.Э. Котова. К вопросу о стандартизации некоторых жирных растительных масел и препаратов на их основе // Фармаком. 2004. № 2. С. 1–9.

60. Е.Е. Чупандина, О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение витамина Е в растительных маслах // Фармация. 2009. № 6. С. 12–16.

61. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение α-токоферола в жирных растительных маслах и масляных экстрактах методом хроматографии в тонком слое сорбента // Сборник материалов XIV национального конгресса «Человек и лекарство». – М. 2007. С. 778.

62. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение токоферолов методом хроматографии в тонком слое сорбента // Химико-фармацевтический журнал. 2008. Т. 42. № 8. С. 31–34.

63. ГОСТ 30417-96. Методы определения массовых долей витаминов А и Е в растительных маслах. – М.: Изд-во стандартов, 1997. 102 с.

64. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, С.В. Снопов, А.И. Сливкин. Определение флавоноидов в растительных маслах методом дифференциальной спектрофотометрии // Тезисы докл. Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармобразование-2010». Ч. II. Воронеж, 20–22 апреля (2010). С. 399–402.

65. И.П. Рудакова, О.И. Терешкина, И.А. Самылина. Антиоксиданты в жирных маслах и их идентификация // Фармация. 2015. № 7. С. 54–56.

66. И.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин, Н.А. Тюкавкина и др. Антиоксидантная активность масла из зародышей пшеницы // Фармация. 2001. № 2. С. 15–18.

67. О.В. Тринеева, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, И.И. Сафонова. Определение антиоксидантной активности растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2013. Т. 79. № 2. С. 26–27.

68. ГОСТ 5480-59. Масла растительные. Методы определения мыла. – М.: Изд-во стандартов, 1990. С. 45–46.

69. ГОСТ 50456-92. Масла растительные. Метод определения содержания влаги и летучих веществ. – М.: Изд-во стандартов, 1994. С. 192–194.

70. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Изучение степени чистоты растительных масел и масляных экстрактов // Тезисы докл. межрегиональной научно-методической конференции «Проблемы здоровьесбережения школьников и студентов. Новые научные тенденции в медицине и фармации». – Воронеж, 2008. С. 482–483.

71. ТР ТС 024/2011. Технический регламент на масложировую продукцию. 2011. 37 с.

23-я Международная специализированная выставка

аптека 2016

ufi Approved Event

РОССИЙСКАЯ НЕДЕЛЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

DECEMBER
5–8
ДЕКАБРЯ

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ДЕЛОВОЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ФОРУМ

INTERNATIONAL MEDICAL AND PHARMACEUTICAL BUSINESS FORUM

Международный Форум

Традиционные медицинские системы мира

International Forum TRADITIONAL MEDICAL SYSTEMS OF THE WORLD

Москва
ЦВК «Экспоцентр»
павильон № 7

Pav.7, Expocentre
Fairgrounds, Moscow

Ждем вас на нашей выставке!

Организатор:
ЕВРОЭКСПО
EUROEXPO

16+

www.aptekaexpo.ru

УДК 615.12

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ИННОВАЦИОННОГО АНТИРЕТРОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА НИКАВИР® И ЕГО ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ С ЛАМИВУДИНОМ (ФОСФАЛАДИН®)

И.Е. Шохин[1,3]*, Ю.В. Медведев[1,2], Т.Н. Комаров[1], О.В. Климова[2], Б.В. Бровченко[4]

1 – ООО «Центр фармацевтической аналитики» (ООО «ЦФА»), 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, 20, стр. 3

2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

3 – ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, 143442, Россия, Московская обл., Красногорский район, п/о Отрадное, пос. Светлые горы, владение 1

4 – ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», 121552, Россия, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, 15А

1 – Center of Pharmaceutical Analytics Ltd., 20, Nauchniy Proezd, Moscow, 117246, Russia

2 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

3 – FSBIS SCBMT FMBA, 1, pos. Svetlye gory, p/o Otradnoe, Krasnogorskiy r-n, Moscow region, 143442, Russia

4 – LLC «AZT PHARMA K.B.», 15A, 3-rd Cherepkovskaya str., Moscow, 121552, Russia

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

Резюме. Экспериментально определена биофармацевтическая растворимость фосфазида, на основании чего он отнесен к 3 классу БКС. Изучена сравнительная кинетика растворения инновационного препарата Никавир® (таблетки 400 мг относительно таблеток 200 мг) в трех средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8. Показана эквивалентность профилей исследуемых лекарственных средств. Изучена сравнительная кинетика растворения фиксированной комбинации фосфазида и ламивудина – Фосфаладин® 150мг + 400 мг относительно препаратов Никавир® 400 мг и Эпивир® 150 мг в трех средах растворения с pH 1,2; 4,5; 6,8. Для ламивудина показана эквивалентность профилей растворения во всех средах растворения без математической оценки. Для фосфазида показана эквивалентность профилей растворения без математической оценки в среде с pH 1,2. Изученная серия препарата Фосфаладин® была рекомендована в качестве серии-клинического кандидата для последующего проведения исследования биоэквивалентности.

Ключевые слова: фосфазид, ламивудин, БКС, тест кинетики растворения, ВЭЖХ.

DISSOLUTION PROFILE STUDY FOR INNOVATION ANTI-RETROVIRAL DRUG PRODUCT NIKAVIR® AND ITS FIXED COMBINATION WITH LAMIVUDINE (PHOSPHALADINE®)

I.E. Shohin[1,3]*, Yu.V. Medvedev[1,2], T.N. Komarov[1], O.V. Klimova[2], B.V. Brovchenko[4]

Abstract. Biopharmaceutical solubility was experimentally determined for innovation anti-retroviral API phosphazide (Nikavir®) which was classified as BCS Class 3 drug. Dissolution profile test for Nikavir® 200 mg and 400 mg in three media pH 1.2, 4.5, 6.8 was conducted, and equivalence for both dosages was shown. Also dissolution profile test for phosphazide and lamivudine fixed combination 150 mg + 400 mg (Phosphaladine®) was performed in three media pH 1.2, 4.5, 6.8 against two reference drug products Nikavir® 400 mg and Epivir® (lamivudine) 150 mg. Dissolution profiles for lamivudine were equivalent in all three media, and phosphazide profiles were equivalent in pH 1.2. Studied batch of phosphazide and lamivudine fixed combination was recommended to be a clinical biobatch for further BE studies.

Keywords: phosphazide, BCS, dissolution profile test, HPLC.

ВВЕДЕНИЕ

Фосфазид – активный ингредиент лекарственного препарата Никавир®. Фосфазид (3′-азидо-2′,3′-дидезокситимидин-5′-монофосфат натрия) – противовирусный препарат, ингибирующий обратную транскриптазу ВИЧ. Включается в вирусную ДНК, нарушает ее элонгацию, останавливая рост молекулы; ингибирует обратную транскрипцию в процессе ретровирусной репликации, блокирует ключевой процесс репликации других ретровирусов. Фосфазид хорошо всасывается из ЖКТ, относительная биодоступность – 83,7%, проходит через гемато-энцефалический барьер и плаценту, концентрация в спинномозговой жидкости составляет 15–64% дозы. Метаболизируется в печени с образованием глюкуронида, который выводится из организма почками. $T_{1/2}$ – 2,5 ч.

Фосфазид применяется при ВИЧ-инфекции в стадии вторичных заболеваний (стадии IIIA, IIIБ, IIIВ по классификации В.И. Покровского), в стадии острой инфекции (IIA), при первичных клинических проявлениях (IIБ, IIВ), при снижении уровня Т-лимфоцитов CD4 до величины менее $0,3–0,4\times10^9$/л и повышении содержания РНК ВИЧ до значений более 20 тыс. копий на 1 мл (при определении методом RT PCR), в стадии инкубации (стадия I), а также как профилактическое средство [1].

Структурная формула фосфазида представлена на рисунке 1.

Ламивудин ((2R-цис)-4-Амино-1-[2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-2(1H)-пиримидинон) применяется при ВИЧ-инфекции у взрослых и детей. Фармакологическое действие – противовирусное, ингибирующее обратную транскрип-

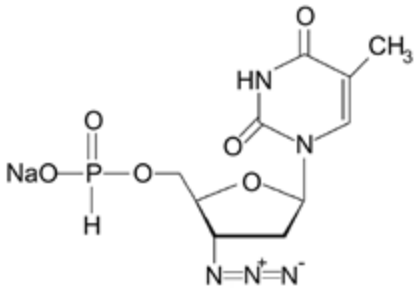


Рисунок 1. **Структурная формула фосфазида**

тазу ВИЧ. Ламивудин обладает вирусостатическим эффектом в отношении ВИЧ–1. Проникает в клетки, индуцированные вирусом, переходит в активную форму – ламивудин 5'-трифосфат, подавляет активность обратной транскриптазы. Ингибирует альфа-, бета- и гамма-ДНК-полимеразы.

После приема внутрь ламивудин быстро и практически полностью всасывается (абсолютная биодоступность – 86%). Связывание с белками плазмы составляет 36%; на поверхности эритроцитов адсорбируется до 57% дозы. Объем распределения – 1,3 л/кг. Подвергается незначительной (5%) биотрансформации в печени с образованием неактивного транссульфоксид метаболита. Экскретируется почками в основном в неизмененном виде; частично выделяется с грудным молоком. $T_{1/2}$ составляет 3–5 ч [2].

Структурная формула ламивудина представлена на рисунке 2.

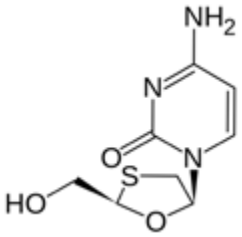


Рисунок 2. **Структурная формула ламивудина**

В настоящее время производится фармацевтическая разработка комбинированного лекарственного препарата Фосфаладин®, предназначенного для лечения ВИЧ-инфекции, на основе фосфазида и ламивудина. Одним из важнейших этапов разработки твердых дозированных лекарственных форм является проведение сравнительного теста кинетики растворения (СТКР), который позволяет косвенно оценить поведение препарата в ЖКТ в условиях *in vivo*. Актуальность данного исследования определяется необходимостью разработки качественных, эффективных и безопасных отечественных импортозамещающих антиретровирусных ЛС, к которым относятся Никавир® и Фосфаладин®.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести исследование кинетики растворения для инновационного лекарственного средства (Никавир®, таблетки, 200 мг и 400 мг) и его фиксированной комбинации (Фосфаладин®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг + 400 мг).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Препараты фосфазида:

Исследуемое лекарственное средство:

Никавир®, таблетки, 400 мг, производства ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия, серия 010712, годен до 07.2014 г. (далее по тексту – Никавир® 400 мг).

Состав: фосфазид – 400 мг; вспомогательные вещества (кальция карбонат осажденный – 225,5 мг, целлюлоза микрокристаллическая – 72,7 мг, кремния диоксид коллоидный – 25,5 мг, кальция стеарат – 7,3 мг).

Референтное лекарственное средство:

Никавир®, таблетки, 200 мг, производства ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия, серия 400612, годен до 06.14 г. (далее по тексту – Никавир® 200 мг).

Состав: фосфазид – 200 мг, вспомогательные вещества (кальция карбонат, целлюлоза микрокристаллическая, аэросил, кальция стеарат).

Состав исследуемых лекарственных средств является дозопропорциональным.

Препараты фосфазида и ламивудина

Исследуемое лекарственное средство:

Фосфаладин®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг + 400 мг (ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия), серия 010415, срок годности до 04.17 г. (далее по тексту – Фосфаладин® 150 мг+400 мг).

Состав: ламивудин – 150 мг, фосфазид – 400 мг; вспомогательные вещества [целлюлоза микрокристаллическая силицированная – 55,0 мг (микрокристаллическая целлюлоза – 98%, кремния диоксид коллоидный – 2%) (Ph. Eur. или USP/NF), натрия стеарилфумарат – 3,0 мг (Ph. Eur. или USP/NF), кальция стеарат – 3,0 мг (USP/NF)]. Состав оболочки: пленочное покрытие Вивакоат® PM-2P-000 – 18,0 мг, гипромеллоза – 9,0 мг (Ph. Eur., или USP/NF, или E464), титана диоксид – 4,5 мг (Ph. Eur., или E171), оксид железа желтый – 0,9 мг (USP/NF или E172), тальк – 1,8 мг, (USP/NF или Ph. Eur, или E553b), гипролоза – 0,9 мг (Ph. Eur., или USP/NF), макрогол-3350 – 0,9 мг (Ph. Eur., или USP/NF).

Референтное лекарственное средство № 1:

Эпивир®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг («ГлаксоСмитКляйн Фармасьютикалз С.А.», Польша), серия UH0420, срок годности до 06.18 г. (далее по тексту – Эпивир® 150 мг).

Состав: ламивудин, 150 мг; вспомогательные вещества [микрокристаллическая целлюлоза, карбоксиметилкрахмал натрия (натрия крахмала гликолят), магния стеарат, Opadry® YS-1-7706-G (гипромеллоза 59, титана диоксид, макрогол – 400 (полиэтиленгликоль – 400), полисорбат 80)].

Референтное лекарственное средство №2:

Никавир®, таблетки, 400 мг (ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия), серия 010415, срок годности до 04.17 г.

Состав: фосфазид 400 мг; вспомогательные вещества [кальция карбонат (осажденный), целлюлоза микрокристаллическая, кремния диоксид коллоидный (аэросил), кальция стеарат].

В качестве действующих веществ исследуемое и референтное лекарственные средства содержат фосфазид (натрий 3'-азидо-3'-дезокситимидин-5'-водородфосфонат) и ламивудин (4-амино-1-[(2R, 5S)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-1,2-дигидропиримидин-2-он).

Все лекарственные средства были предоставлены ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия.

Оборудование

Сравнительный тест кинетики растворения проводили на аппаратах Agilent Technologies 708-DS Dissolution Apparatus (США) и Erweka DT 800-1000LH, (Германия). Определение биофармацевтической растворимости субстанций проводили на термостатируемом шейкере TS-100, Biosan, Латвия. Количественное определение высвободившегося лекарственного вещества проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity II с диодно-матричным УФ-детектором (Agilent Technologies, США) и программным обеспечением OpenLAB ChemStation Edition, версия C.01.07.

Растворы и реактивы

В работе использовалась реактивы: хлористоводородная кислота концентрированная («Сигма Тек», Россия, класс «х.ч.»), аммония ацетат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия ацетат тригидрат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), уксусная кислота ледяная (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия гидрофосфата дигидрат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), калия дигидрофосфат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), фосфорная кислота 85% (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия гидроксид (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия хлорид (Scharlau, Испания, класс «х.ч.»), ацетонитрил (Scharlau, Испания, HPLC grade), вода деионизированная (18,2 мОМ). Растворы для сред растворения готовили в соответствии с ГФ XIII издания, USP 30-NF 25 и JP 15 [3, 4].

Agilent Technologies 708-DS Dissolution Apparatus

ERWEKA DT 820

Стандартные образцы

- стандартный образец фосфазида (Никавир®, ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия, содержание фосфазида 99,5%, серия 011214, годен до 12.2016 г.);
- стандарт ламивудина (Europen Pharmacopoeia Reference Standard, CRS, содержание ламивудина 99,7%, серия Y0000425).

Стандартные образцы были предоставлены ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия.

Agilent 1290 Infinity II

Изучение биофармацевтической растворимости субстанции фосфазида

Около 50 мг (точная навеска) субстанции фосфазида вносили в полипропиленовые центрифужные пробирки типа Eppendorf вместимостью 1,5 мл и прибавляли 1000 мкл соответствующей среды растворения. Пробирки помещали в термошейкер и встряхивали в течение 12 ч при температуре 37,0 °С при 1400 об/мин, далее незамедлительно центрифугировали при 13500 об/мин в течение 10 мин и отделяли надосадочную жидкость. Для каждой среды растворения испытание проводили в трех повторностях. Параллельно проводили термостатирование в течение 12 ч для стандартных растворов в каждой из сред растворения для оценки стабильности субстанции фосфазида в условиях изучения биофармацевтической растворимости.

Для количественного определения надосадочную жидкость разводили в 1000 раз соответствующей средой растворения. 100 мкл надосадочной жидкости переносили в полипропиленовые пробирки вместимостью 10 мл, прибавляли 9,9 мл соответствующего буферного раствора и перемешивали на вортекс-шейкере в течение 1 мин. 1 мл полученного раствора переносили в полипропиленовые пробирки вместимостью 10 мл, прибавляли 9 мл соответствующего буферного раствора и снова перемешивали на вортекс-шейкере в течение 1 мин.

Количественное содержание растворившегося фосфазида проводили методом ВЭЖХ.

Хроматографические условия:

Колонка: Eclipse Plus C18, 150 x 4,6 мм, 5 мкм. Предколонка Eclipse Plus C18 Guard Cartridge, 12,5 x 4,6 мм.

Температура колонки: 30±2 °С.

Температура образца: 20±2 °С.

Объем пробы: 10 мкл.

Скорость потока: 1 мл/мин.

Подвижная фаза: 0,05 М раствор ацетата аммония – ацетонитрил (7 : 1).

Детектор: УФ, 265 нм.

Время хроматографирования: 11 мин.

Время удерживания фосфазида: около 3 мин.

Для оценки биофармацевтической растворимости никавира в каждой из сред проводили расчет отношения дозы к растворимости (D/S), которое рассчитывали по формулам, рекомендованным ВОЗ и FDA:

$$D/S=D_{max}/S \text{ и } D/S=ВРД/S,$$

где D/S – отношения дозы к растворимости, мл; D_{max} – максимальная дозировка лекарсвенного средства (ЛС), зарегистрированная в РФ к медицинскому применению; ВРД – высшая разовая доза ЛС.

Растворимость лекарственного вещества (ЛВ) считается «*высокой*», если значение величины D/S составляет не менее 250 мл.

Изучение сравнительной кинетики растворения препаратов Никавир® и Фосфаладин®

Тест «Растворение» проводили на аппарате «Вращающаяся корзинка» при скорости вращения 100 об/мин при температуре 37±0,5 °С. Условия сравнительного теста кинетики растворения были подобраны экспериментальным путем. Исследование проводили в трех средах растворения (pH 1,2, 4,5, 6,8), моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых происходит распадение, высвобождение и абсорбция активного ингредиента. Временные точки отбора проб (10 мин, 15 мин, 20 мин и 30 мин) выбраны таким образом, чтобы полностью описать профиль растворения исследуемых ЛС с выходом на полное высвобождение (не менее 85%) или плато. В качестве аппарата была выбрана «Вращающаяся корзинка» для предотвращения залипания частиц препарата на стенке сосуда для растворения. Скорость вращения (100 об/мин) была выбрана как оптимальная скорость вращения аппарата «Вращающаяся корзинка» для ЛФНВ. Объем среды растворения (900 мл) был выбран таким образом, чтобы обеспечить «условия предельного разбавления» (*sink conditions*), кото-

рые обеспечивают полное растворение дозировки ЛС в данном объеме среды.

Рассчитывали среднее значение количества растворившейся субстанции (или субстанций) и величину относительного стандартного отклонения RSD, %. Достоверность результатов оценивали по величине относительного стандартного отклонения, величина которого не должна превышать 20% для первой временной точки и 10% – для остальных временных точек.

При высвобождении более 85% действующего вещества в течение 15 мин кинетика растворения считалась эквивалентной без математической оценки.

В случае если в течение 15 мин высвобождалось менее 85% действующего вещества, для оценки эквивалентности кинетики растворения ЛС производили расчет фактора сходимости *f2* по следующему уравнению:

$$f_2 = 50 \times \log_{10}\left\{\left[1+\left(\frac{1}{n}\right)\sum_{i=1}^{i=n}(R_t - T_t)^2\right]^{-0,5} \times 100\right\},$$

где n – число временных точек (не считая нуля); R_t – среднее значение высвобождения фармацевтической субстанции из референтного препарата на момент времени t, %; T_t – среднее значение высвобождения фармацевтической субстанции из исследуемого препарата на момент времени t, %.

Сравнительный тест кинетики растворения для препаратов Никавир® 200 мг и 400 мг

На момент проведения исследования препарат Никавир® 200 мг был зарегистрирован к медицинскому применению в РФ. Для дополнительной дозировки (400 мг) лекарственного средства необходимо было провести изучение его кинетики растворения и оценки эквивалентности его профиля растворения с основной дозировкой лекарственного средства.

В каждый из 6 сосудов для растворения с 900 мл среды растворения, предварительно термостатированными при 37±0,5 °С, помещали по 1 таблетке исследуемого лекарственного средства Никавир® 400 мг. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, который незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через фильтры типа Agilent Captiva Premium Syringe Filter® с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Параллельно и аналогичным образом проводили исследование референтного лекарственного средства Никавир® 200 мг.

Количественное определение проводили методом ВЭЖХ при условиях, приведенных для СТКР для препаратов Фосфаладин® 150+400 мг и Эпивир® 150 мг + Никавир® 400 мг.

Сравнительный тест кинетики растворения для препаратов Фосфаладин® 150+400 мг и Эпивир® 150 мг + Никавир® 400 мг

Данное исследование сравнительной кинетики растворения проводилось с целью подтверждения эквивалентности в условиях *in vitro* для исследуемого и референтного препарата для выбора серии клинического кандидата и последующего проведения исследования биоэквивалентности для препарата Фосфаладин® 150+400 мг, являющегося фиксированной комбинацией. Для наиболее достоверного моделирования поведения препаратов Эпивир® 150 мг и Никавир® 400 мг в условиях *in vitro* обе лекарственные формы помещались в сосуд для растворения одновременно, поскольку при проведении соответствующего исследования БЭ планируется одновременный прием обоих препаратов добровольцами. В случае раздельного изучения кинетики растворения препаратов Эпивир® 150 мг и Никавир® 400 мг может не быть учтено взаимное влияние вспомогательных вещества каждого из препаратов на растворимость соответствующих субстанций, которая может потенциально как увеличиться, так и снизиться.

В каждый из 6 сосудов для растворения с 900 мл среды растворения, предварительно термостатированными при 37±0,5 °С, помещали по 1 таблетке исследуемого лекарственного средства Фосфаладин® 150+400 мг. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, которые незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через мембранные фильтры Agilent Captiva Premium Syringe Filter® с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Затем 2,0 мл полученного фильтрата переносили в мерную колбу вместимостью 5 мл, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали (испытуемый раствор). Параллельно и аналогичным образом проводили исследование референтных лекарственных средств Эпивир® 150 мг и Никавир® 400 мг, которые помещали в корзинку одновременно. Испытание проводили на 12 единицах каждого лекарственного средства.

Количественное определение

Количество фосфазида и ламивудина, перешедших в раствор, определяли методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. На хроматограммах измеряли площади пиков ламивудина и фосфазида.

Условия хроматографирования

Подвижная фаза А: смесь 0,03 М раствора аммония уксуснокислого с pH 3,8 и ацетонитрила в соотношении 95:5.

Подвижная фаза В: ацетонитрил.

Условия хроматографирования

Колонка	Zorbax Eclipse plus, 150x4,6 мм, заполненная сорбентом Luna C18(2) с размером частиц 5 мкм
ПФ	*А:* 0,03 М раствор аммония ацетата с pH 3,8 – ацетонитрил (95:5) *В:* ацетонитрил
Скорость потока	1,0 мл/мин
Температура колонки	30 °С
Детектор	УФ, 270 нм
Объем вводимой пробы	10 мкл
Время анализа	8 мин

Программа градиента:

Время, мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0–3	90	10
3–3,5	90 → 75	10 → 25
3,5–5,5	75	25
5,5–6	75 → 90	25 → 10
6–8	90	10

Время удерживания ламивудина – около 2,3 мин, фосфазида – около 3,2 мин.

Количество ламивудина или фосфазида, перешедших в раствор из таблетки, в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \times a_0 \times 900 \times 5 \times 5 \times P}{S_0 \times L \times 100 \times 10 \times 2} = \frac{S_x \times a_0 \times 45 \times P}{S_0 \times L \times 4},$$

где S_0 – площадь пика ламивудина или фосфазида на хроматограмме стандартного раствора; S_x – площади пика ламивудина или фосфазида на хроматограмме испытуемого раствора; a_0 – навеска стандарта ламивудина или фосфазида, взятая для приготовления стандартного раствора, мг; L – нормируемое содержание ламивудина или фосфазида в одной таблетке, мг; P – чистота стандартов ламивудина или фосфазида, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биофармацевтическая классификация фосфазида

Данные о биофармацевтической классификации и, соответственно, биофармацевтической растворимости фосфазида в литературе отсутствуют, в связи с этим для последующего исследования кинетики растворения и подбора оптимальных условий теста необходимо экспериментальным путем установить биофармацевтическую растворимость и класс фосфазида по БКС. Исходя из структуры молекулы, представляющей собой натриевую соль замещенной фосфористой кислоты, можно предположить «*высокую*» растворимость фосфазида в водных растворах в физиологическом диапазоне pH, однако для инновационных молекул необходимо экспериментальное определение биофармацевтической растворимости для точного установления класса по БКС.

При изучении биофармацевтической растворимости было установлено, что навески субстанции фосфазида (50 мг) полностью растворились в 1000 мкл каждой из сред растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8. В связи с этим было принято, что биофармацевтическая растворимость фосфазида в физиологическом диапазоне pH превышает 5% (50 мкг/мл). Рассчитанные величины D/S и биофармацевтическая растворимость фосфазида приведены в таблице 1. Кроме того, при изучении стабильности фосфазида в средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8 при 37 °С в рамках исследования биофармацевтической растворимости было показано, что степень деградации фосфазида до азидотимидина в течение 12 ч в каждой из трех сред растворения не превышала 2%, несмотря на наличие в составе молекулы сложноэфирной связи с неорганической (фосфористой) кислотой. Таким образом, можно сделать предположение, что фосфазид обладает «*высокой*» биофармацевтической растворимостью и стабильностью в физиологических условиях ЖКТ.

По результатам фармакокинетических исследований, приведенных в литературе, относительная биодоступность фосфазида при пероральном применении составляет 83,7% [5]. Данная величина биодоступности позволяет охарактеризовать кишечную проницаемость фосфазида как «*низкую*» (критерий приемлемости: не менее 85%). Принимая во внимание «*высокую*» биофармацевтическую растворимость и «*низкую*» кишечную проницаемость фосфазида, его следует отнести к III классу БКС. Для препаратов III класса БКС, как и для I класса БКС, ожидается полное

высвобождение (более 85%) в каждой из сред растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8 при проведении исследования кинетики растворения.

Таблица 1.

Оценка биофармацевтической растворимости субстанции фосфазида

Среда растворения	D/S (D_{max}=400 мг)	D/S (ВРД = 400 мг)	Растворимость
0,1 М раствор хлористоводородной кислоты + 0,2% натрия хлорида pH 1,2	< 8	< 8	«высокая»
ацетатный буферный раствор pH 4,5	< 8	< 8	«высокая»
фосфатный буферный раствор pH 6,8	< 8	< 8	«высокая»

Биофармацевтическая классификация ламивудина

Ламивудин представляет собой производное дигидропиримидин-2-она и содержит в составе молекулы первичную аминогруппу, которая определяет его слабоосновные свойства (pKa 4,3). Согласно литературным данным, ламивудин имеет «высокую» биофармацевтическую растворимость в физиологическом диапазоне pH и абсолютную биодоступность на уровне 82–88%. Принимая во внимание критерий ВОЗ для «высокой» кишечной проницаемости (более 85%), ламивудин следует отнести к 3 классу БКС (на границе с 1 классом БКС по проницаемости). Следует отметить, что на ламивудин подготовлена «монография по биовейверу» FIP, которая относит его именно к 3 классу БКС [6]. В связи с этим, так же как и для фосфазида, для ламивудина ожидается полное высвобождение (более 85%) при проведении СТКР в средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8.

Результаты исследования СТКР препаратов Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг

Профили растворения лекарственных средств Никавир® 400 мг и Никавир® 200 мг приведены на рисунках 3–5.

По результатам исследования СТКР было установлено, что выбор временных точек (10, 15, 20, 30 мин) является обоснованным, поскольку позволил полностью описать профиль растворения (до полного высвобождения более 85% или с выходом на плато). Результаты СТКР были признаны достоверными на основании расчета величин RSD, которые составили не более 20% для первой временной точки и не более 10% для остальных. Среднее значение количества фосфазида, высвободившегося в течение 15 мин в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты из лекарственно-

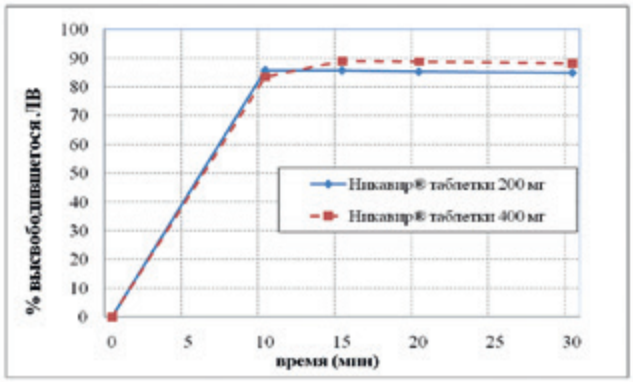


Рисунок 3. **Усредненные профили растворения лекарственных средств Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг (0,1 М HCl)**

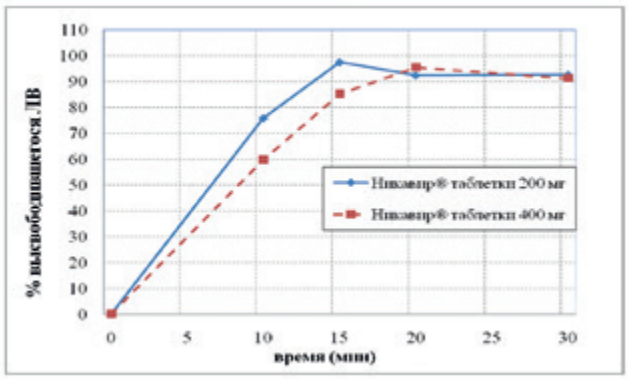


Рисунок 4. **Усредненные профили растворения лекарственных средств Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг (буферный раствор с pH 4,5)**

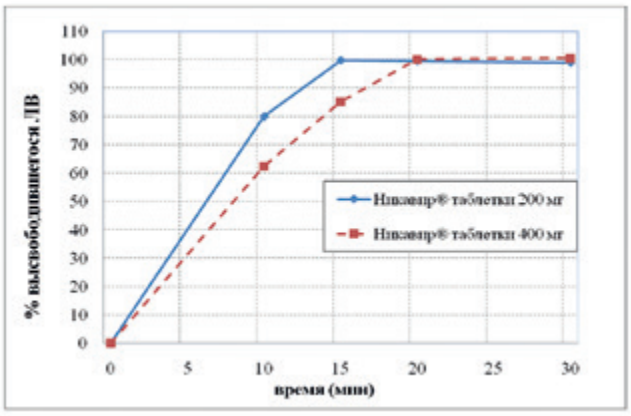


Рисунок 5. **Усредненные профили растворения лекарственных средств Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг (буферный раствор с pH 6,8)**

го средства Никавир® 200 мг, составило 85,64%, из лекарственного средства Никавир® 400 мг – 89,05%; в буферном растворе с pH 4,5 из лекарственного средства Никавир® 200 мг составило 97,45%, из лекарственного средства Никавир® 400 мг – 85,24%; в буферном растворе с pH 6,8 из лекарственного средства Никавир® 200 мг составило 99,84%, из лекарственного средства Никавир® 400 мг – 85,12% (т.е. более 85%), что позволило сделать заключение об эквивалентности кинетики растворения фосфазида без математической оценки в каждой из трех сред растворения. Таким образом, поскольку профиль растворения дополнительной дозировки препарата Никавир® (таблетки 400 мг) является эквивалентным таковому для основной дозировки препарата (таблетки 200 мг), а состав вспомогательных веществ у препаратов является дозопропорциональным, можно сделать заключение об аналогичном поведении в условиях *in vivo* для дополнительной дозировки препарата.

Результаты исследования СТКР препаратов Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг + Эпивир® 150 мг

Профили растворения лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир® 400 мг и Эпивир® 150 мг приведены на рисунках 6–11.

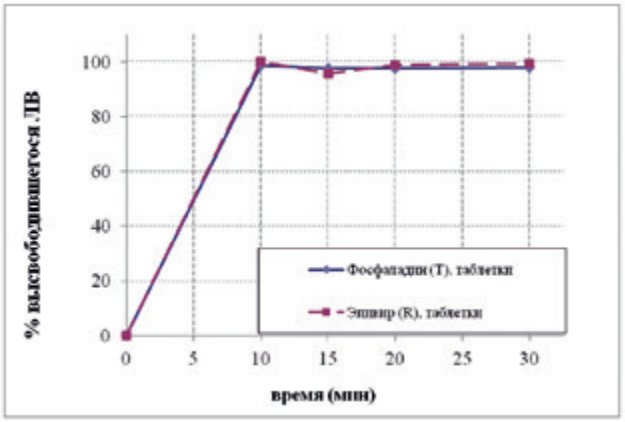


Рисунок 6. Усредненные профили растворения ламивудина из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Эпивир® 150 мг (pH 1,2)

Хроматограмма, демонстрирующая хроматографическое разделение фосфазида и ламивудина, представлена на рисунке 12.

По результатам исследования СТКР было установлено, что выбор временных точек (10, 15, 20, 30 мин) является обоснованным, поскольку позволил полностью описать профиль растворения (до полного высвобождения более 85% или с выходом на плато). Для ламивудина наблюдалось полное высвобождение уже на 10 мин во всех трех средах растворения как для исследуемого, так и для референтного препарата. Для фосфазида в среде с pH 1,2 наблюдалось полное высвобождение к 10–20 мин из препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир®

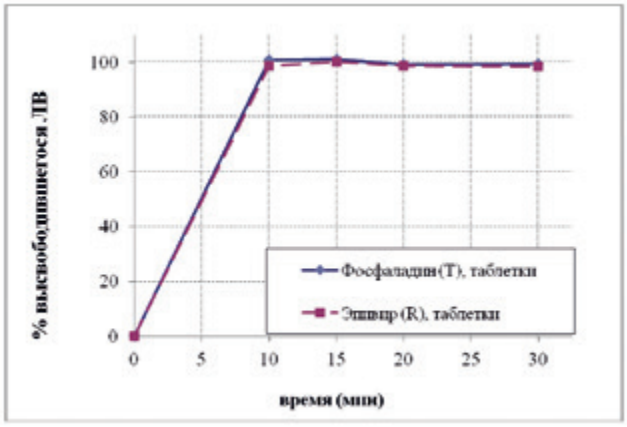


Рисунок 7. Усредненные профили растворения ламивудина из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Эпивир® 150 мг (pH 4,5)

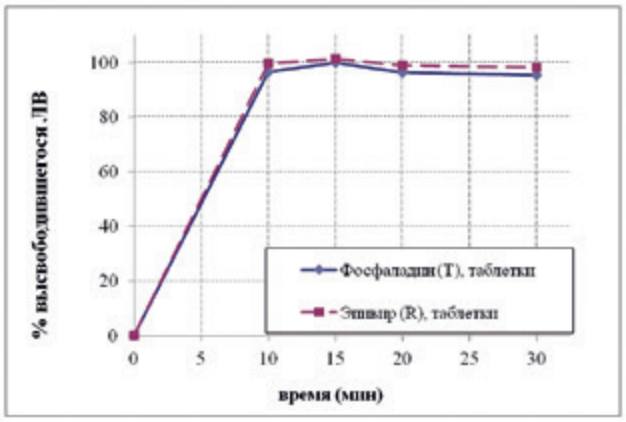


Рисунок 8. Усредненные профили растворения ламивудина из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Эпивир® 150 мг (pH 6,8)

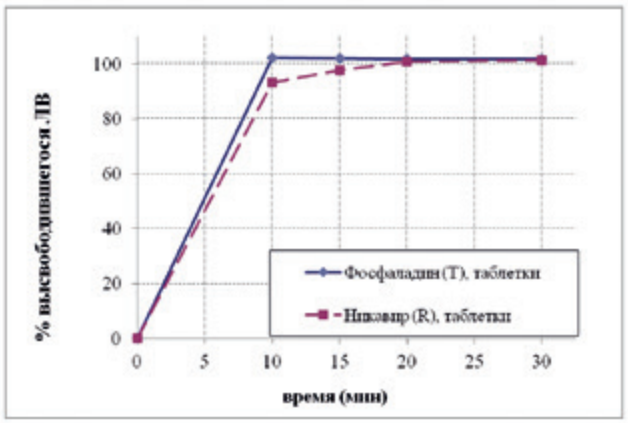


Рисунок 9. Усредненные профили растворения фосфазида из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг (pH 1,2)

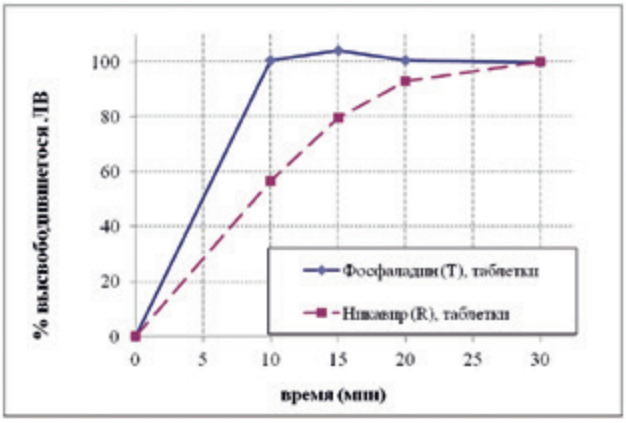


Рисунок 10. **Усредненные профили растворения фосфазида из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг (pH 4,5)**

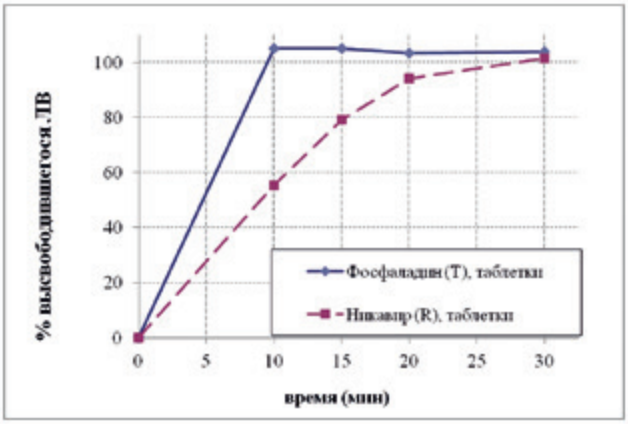


Рисунок 11. **Усредненные профили растворения фосфазида из лекарственных средств. Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг (pH 6,8)**

400 мг. Для сред растворения с pH 4,5 и 6,8 для препарата Никавир® 400 мг наблюдалось плавное высвобождение (кривая с насыщением) с полным высвобождением к 30 мин, при этом для препарата Фосфаладин® в данных средах наблюдалось полное высвобождение уже к 10 мин.

Результаты СТКР препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир® 400 мг + Эпивир® 150 мг были признаны достоверными на основании расчета величин RSD, которые составили не более 20% для первой временной точки и не более 10% для остальных.

Следует отметить, что профили растворения препарата Никавир® 400 мг для pH 4,5 и 6,8 при проведении СТКР Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг и СТКР Никавир® 400 мг и Фосфаладин® 150 мг + 400 мг были сходные (плавная кривая с насыщением). Условия данного СТКР Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг + Эпивир® 150 мг были полностью идентичными, за исключением того, что референтные препараты одновременно помещались в корзинку для растворения. Было выяснено, что при наличии в стакане для растворения только препарата Никавир® 400 мг полное высвобождение фосфазида достигалось к 20 мин, а в присутствии Эпивира® 150 мг – к 30 мин. Это свидетельствует о том, что присутствие ламивудина, каких-либо вспомогательных компонентов или веществ оболочки препарата Эпивир® 150 мг незначительно снижает скорость высвобождения фосфазида в средах с pH 4,5 и 6,8, при этом не препятствуя его полному высвобождению. Кроме того, причиной незначительного снижения скорости высвобождения фосфазида при совместном присутствии в корзинке с таблеткой препарата Эпивир® является снижение площади контакта таблетки Никавира® со средой растворения, а также прочностью таблетки Никавира® и наличием в ее составе большого количества гидрофобных вспомогательных веществ, что связано с технологическими особенностями ее получения.

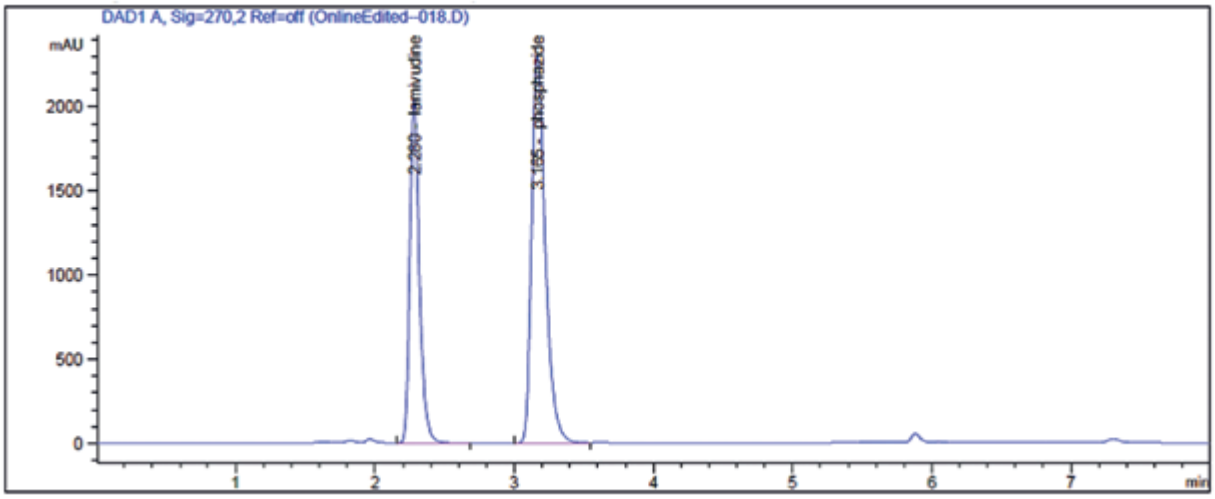


Рисунок 12. **Типичная хроматограмма фосфазида и ламивудина при совместном присутствии**

Для препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Эпивир® 150 мг во всех трех средах кинетика растворения признана эквивалентной без математической оценки по ламивудину (высвобождение более 85% в течение 15 мин).

Для препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир® 400 мг в среде растворения с pH 1,2 кинетика растворения признана эквивалентной без математической оценки по фосфазиду. В среде фосфатного буферного раствора с pH 6,8 и ацетатного буферного раствора с pH 4,5 кинетика растворения признана неэквивалентной на основании расчетов факторов сходимости, значения которых составили 26,61 и 24,23 соответственно.

Неэквивалентность профилей растворения наблюдается только для фосфазида в средах растворения с pH 4,5 и 6,8 (что предположительно связано с соотношением массовых долей АФС/ВВ в исследуемых ЛС, которое является очень высоким у препарата Фосфаладин® 150 мг+400 мг и составляет 89:11), при этом в среде с pH 1,2 наблюдается эквивалентность профилей растворения без математической оценки, при этом полное высвобождение действующего вещества наблюдается уже спустя 10 мин после начала испытания. Очевидно, что в условиях *in vivo* полное высвобождение фосфазида из лекарственной формы происходит уже в желудке (соответствует среде pH 1,2) как для исследуемого (Фосфаладин® 150 мг+400 мг), так и для референтного (Никавир® 400 мг) препарата. Таким образом, можно предположить биоэквивалентность исследуемых ЛС в условиях *in vivo* и рекомендовать данные серии ЛС в качестве серий клинических кандидатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально определена биофармацевтическая растворимость фосфазида в физиологическом диапазоне pH 1,2-6,8, которая была определена как «*высокая*». На основании экспериментальных данных по биофармацевтической растворимости и литературных данных по проницаемости («*низкая*») фосфазид был отнесен к 3 классу БКС. Ламивудин на основании литературных данных был также отнесен к 3 классу БКС. Изучена сравнительная кинетика растворения инновационного препарата Никавир® (таблетки 200 мг относительно таблеток 400 мг) в трех средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8. Показана эквивалентность профилей исследуемых ЛС без математической оценки. Изучена сравнительная кинетика растворения фиксированной комбинации фосфазида и ламивудина – Фосфаладина® 150 мг+400 мг относительно препаратов Никавир® 400 мг и Эпивир® 150 мг в трех средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8. Для ламивудина показана эквивалентность профилей растворения во всех средах растворения без математической оценки. Для фосфазида показана эквивалентность профилей растворения без математической оценки в среде с pH 1,2, и неэквивалентность в средах с pH 1,2 и 4,5 на основании расчета фактора сходимости (26,61 и 24,23 соответственно). Поскольку в условиях *in vivo* полное высвобождение фосфазида из лекарственной формы происходит уже в желудке (соответствует среде с pH 1,2) как для исследуемого (Фосфаладин® 150 мг+400 мг), так и для референтного (Никавир® 400 мг) препарата, можно предположить биоэквивалентность исследуемых ЛС в условиях *in vivo* и рекомендовать данные серии ЛС в качестве серий клинических кандидатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Регистр лекарственных средств России: РЛС. Энциклопедия лекарств. URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_3057.htm (дата обращения 11.04.2016).
2. Электронная версия справочника «Регистр лекарственных средств России». URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2338.htm (дата обращения 11.04.2016).
3. United States Pharmacopoeia 38-NF 33.
4. The Japanese Pharmacopoeia 16. 2007.
5. Инструкция по медицинскому применению препарата Никавир®.
6. S. Strauch et al. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Lamivudine // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011. V. 100. № 6. P. 2054–2063.

УДК 616-018

УЛЬТРАСТРУКТУРА ПЕЧЕНИ И ЛЕГКИХ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ МАГНИТОМИЦЕЛЛ НА ОСНОВЕ ПОКРЫТЫХ УГЛЕРОДОМ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА

Г.Ю. Васюков[1,2], И.В. Мильто[1,3], И.В. Суходоло[1], И.В. Митрофанова[1,4]*

1 – ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», кафедра морфологии и общей патологии, 634050, Россия, г. Томск, ул. Московский тракт, 2, стр. 7

2 – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», лаборатория клеточных технологий, отдел экспериментальной и клинической кардиологии, 650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

3 – ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», кафедра биотехнологии и органической химии, 634050, Россия, г. Томск, пр-т Ленина, 30

4 – ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, 634050, Россия, г. Томск, пр-т Ленина, 36

1 – Department of morphology and general pathology of Siberian State Medical University, 2/7, Moskovskiy trakt, Tomsk, 634050, Russia

2 – Laboratory of ultrastructural methods of investigating of tissues, department of experimental and clinical cardiology, institute of complex problems of cardio-vascular diseases of Siberian department of Russian Academy of Medical Science, 6, Sosnovyi blv., Kemerovo, 650002, Russia

3 – Department of biotechnology and organic chemistry of National Research Tomsk Polytechnic University, 30, Lenin av., Tomsk, 634050, Russia

4 – Laboratory of translational cellular and molecular biomedicine, Tomsk State University, 36, Lenin av., Tomsk, 634050, Russia

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

Резюме. Изучено влияние магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа после однократного внутривенного введения их водных суспензий на ультраструктуру печени и легких крыс. Выведение животных из эксперимента проводили через 1 и 40 суток после инъекции суспензий наноматериала. Ультраструктурное исследование печени и легких крыс проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа. Отсутствие изменений гепатоцитов, пневмоцитов, мононуклеарных фагоцитов, а также аэрогематического барьера указывает на отсутствие выраженного токсического действия исследуемого модифицированного наноматериала на легкие и печень.

Ключевые слова: магнитомицеллы, наночастицы железа, поверхностная модификация, трансмиссионная электронная микроскопия.

ULTRASTRUCTURE OF RAT LIVER AND LUNGS AFTER SINGLE INTRAVENOUS INJECTION OF MAGNITOMICELLS BASED CARBON-COATED IRON NANOPARTICLES

G.U. Vasukov[1,2], I.V. Milto[1,3], I.V. Sukhodolo[1], I.V. Mitrofanova[1,4]*

Abstract. In this study the effect of magnitomicells based on carbon incapsulated iron nanoparticles on the ultrastructure of rat's liver and lungs after intravenous injection of their aqueous suspensions was investigated. Deducing of animal from the experiment was conducted in 1st and 40th days after intravenous injection of suspensions of nanoparticles. Ultrastructural examination of the liver and lung of rats was performed with a transmission electron microscope. Ultrastructural signs of damage of hepatocytes, pneumocytes and mononuclear phagocytes are not detected.

Keywords: magnitomicelles, iron nanoparticles, surface modification, transmission electron microscopy.

ВВЕДЕНИЕ

Активное развитие нанотехнологий и использование разработанных на их основе наноконструкций в перспективе позволит эффективно решать широкий круг задач в биологии и медицине [1–4]. Наиболее актуальными направлениями исследований в области наномедицины являются адресная доставка лекарственных агентов, локальная магнитная гипертермия, а также создание контрастных агентов для магнитно-резонансной томографии [5, 6]. Наночастицы, обладающие магнитными свойствами, являются многообещающей основой для разработки новых терапевтических и диагностических средств [2, 7]. Однако полученные в последние десятилетия данные свидетельствуют о комплексе отрицательных биологических эффектов, которые вызывают немодифицированные магнитные наночастицы: высокой токсичности, неспецифическом взаимодействии с клетками и низкой стабильности суспензий [2, 8–10]. Одним из путей решения данной проблемы является поверхностная модификация магнитных наночастиц. Поверхностные модификаторы разделяют на неорганические (золото, кремний, углерод) и органические (хитозан, декстран, полиэтиленгликоль) [7]. Наиболее часто для поверхностной модификации магнитных частиц используется биосовместимый полимер полиэтиленгликоль и его производные [11]. Данный подход позволяет повысить седиментационную и агрегативную устойчивость наноразмерных частиц, снизить их токсичность, а также расширить возможности целевой доставки терапевтических средств [1].

С учетом вышесказанного целью исследования было изучение влияния магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа после однократного внутривенного введения их водных суспензий на ультраструктуру печени и легких крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился на 50 беспородных половозрелых крысах-самцах (виварий СибГМУ, Томск) массой 150±30 г, из которых были сформированы 5 групп: 1-я группа (10 крыс) – интактные животные, 2-я группа (10 крыс) – животные с однократным внутривенным введением суспензии покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 3-я группа (10 крыс) – животные с однократным внутривенным введением покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 4-я группа (10 крыс) – животные с однократным внутривенным введением суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 5-я группа (10 крыс) – животные с однократным внутривенным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела).

Покрытые углеродом наночастицы железа были получены газофазным методом в лаборатории прикладного магнетизма Института физики металлов УО РАН (г. Екатеринбург). Наноматериал представлен частицами размером 10 нм с углеродной оболочкой толщиной около 2 нм, представленной несколькими графеновыми слоями. Навеску наноразмерных частиц (3 г) переносили в 50 мл физиологического раствора с pH 7,4 («Вирион», Россия). Полученную суспензию подвергали дезинтеграции на ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin Sonopuls HD 2070 (Bandelin, Германия) и центрифугировали в течение 10 мин (500g, радиус ротора 15 см). Для приготовления магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в полученную суспензию добавляли DSPE-PEG-2000 (1,2-дистеароил-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000] аммониевую соль) (Avanti Polar Lipids, Inc., США), после чего повторно подвергали дезинтеграции и центрифугированию.

Ультраструктурное исследование печени и легких крыс проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM-100 CX II (JEOL, Япония). Выведение животных из эксперимента проводили методом асфиксии углекислым газом через 1 и 40 суток после внутривенного введения суспензий. Для первичной фиксации (24 ч, 4 °С) фрагментов печени и легких крыс использовали 4% параформальдегид (SERVA Electrophoresis, Германия) на буфере Хэнкса («Вектор», Россия), для вторичной (2 ч, 4 °С) – 1% OsO_4 (SPI-CHEM, США) на том же буфере. Далее материал подвергали дегидратации в этиловом спирте и ацетоне, после чего заливали в смесь эпоксидных смол Epon 812, Araldit и DDSA (SERVA Electrophoresis, Германия) в соотношении 2:1:4,5 соответственно. Ультратонкие (≈80 нм) срезы получали с помощью ультратома Leica EM UC 7 (Leica, Австрия) и помещали на медные сетки. Контрастирование срезов осуществляли уранилацетатом и цитратом свинца («Сигма-Алдрич Рус», Россия). Для обработки количественных данных использовалась

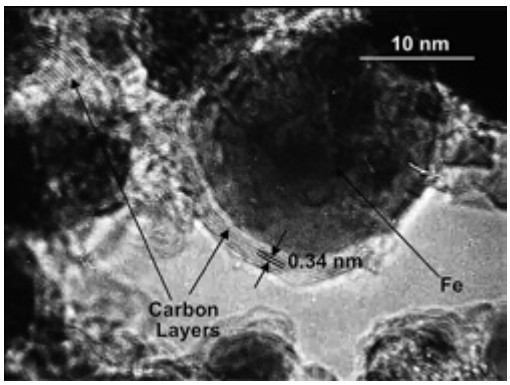


Рисунок 1. Покрытые углеродом наночастицы железа (по данным лаборатории прикладного магнетизма ИФМ УО РАН)

программа SPSS 14.0 (SPSS Inc., США). Результаты исследования представлены в виде средней и стандартного отклонения ($\bar{X}\pm s$). Для выяснения достоверности различий средних значений морфометрических между экспериментальными группами использовали t-тест для независимых выборок (тест Стьюдента) и тест Фридмана для зависимых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В печени крыс интактной группы (1-я группа) были выявлены типичные для этого органа популяции клеток (гепатоциты, звездчатые макрофаги, эндотелиоциты). Все перечисленные клетки имели характерную морфологию и локализацию. На 1-е сутки в печени животных 2-й, 3-й, 4-й и 5-й групп были обнаружены клетки, в цитоплазме которых выявляли: везикулы крупные (до 2 мкм) с преимущественно субплазмолеммальным расположением, гранулярный материал в них располагался на периферии, и везикулы небольшого размера (0,5–1 мкм), лежащие в глубоких слоях цитоплазмы, с зернистым материалом, диффузно распределенным в полости органеллы. Обнаруженный материал высокой электронной плотности в везикулах был представлен гранулами, которые образовывали агломераты размером до 100 нм. Повышение дозы введенного наноматериала (3-я и 5-я группы) приводило к увеличению количества как везикул, так и электронно-плотного материала в их полости (рисунок 2). Следует отметить, что количество везикул с содержимым высокой электронной плотности в 3-й группе превосходило таковое в 5-й группе (таблица 1). Признаков повреждения гепатоцитов, а также наличия гранулярного материала высокой электронной плотности в их цитоплазме обнаружено не было. В просвете синусоидов данный материал не фиксировался.

На 40-е сутки в печени крыс 2-й и 3-й групп также были выявлены звездчатые макрофаги, содержащие исключительно небольшие везикулы (0,5-1 мкм) с электронно-плотным материалом, диффузно распределенным в полости органелл (рисунок 3). У животных 4-й и 5-й групп были выявлены как небольшие, так и крупные везикулы (до 2 мкм) с периферичес-

ким расположением электронно-плотного материала. У животных всех групп с внутривенным введением наноматериала количество везикул, содержащих гранулярный электронно-плотный материал, как и количество самого материала в их полости, относительно предыдущего срока эксперимента было снижено (таблица 1). Признаков повреждения гепатоцитов и наличия материала высокой электронной плотности не выявлено. В просвете синусоидов зернистого материала обнаружено не было.

Таблица 1.

Динамика количества везикул, содержащих электронно-плотный материал, в макрофагах печени крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе

Группа	Тип везикул	Количество везикул на 1 клетку	
		1-е сутки	40-е сутки
2 группа	Крупные	6,6±1,14#	0,4±0,54#*
	Мелкие	2±0,7#	2,2±0,83#
	Общее количество	8,6±1,14	2,6±0,54*
3 группа	Крупные	12,2±1,48#	0,4±0,54#*
	Мелкие	5,2±1,3#	3,4±0,89#
	Общее количество	17,4±1,81	3,8±0,83*
4 группа	Крупные	4,2±0,83#	1,2±0,44*
	Мелкие	0,8±0,44#	0,6±0,44
	Общее количество	5±1,22	1,8±0,89*
5 группа	Крупные	6,6±0,89#$	2,4±0,89*$
	Мелкие	1,8±0,83#$	2,6±0,54
	Общее количество	8,4±0,55$	5±0,7*

Примечание: # – отличие количества везикул разного типа внутри группы в соответствующие сроки ($p<0,05$);

* – отличие показателя от его значения на 1-е сутки в той же группе ($p<0,05$);

$ – отличие показателя от соответствующего ему у крыс с введением покрытых углеродом наночастиц железа при одинаковой дозировке ($p<0,05$).

В легких крыс 2-й, 3-й, 4-й и 5-й групп были обнаружены клетки системы мононуклеарных фагоцитов, в цитоплазме которых были выявлены крупные (до 2 мкм), лежащие преимущественно субплазмолеммально и мелкие (0,5–1 мкм), с околоядерным расположением везикулы, содержащие зернистый материал высокой электронной плотности (рисунок 4). Следует отметить, что на 1-е сутки исследования количество крупных везикул доминировало во всех экспериментальных группах, кроме 4-й группы. Распределение содержимого высокой электронной плотности в полости органелл соответствовало описанному ранее в фагоцитах печени. Электронно-плотный материал был

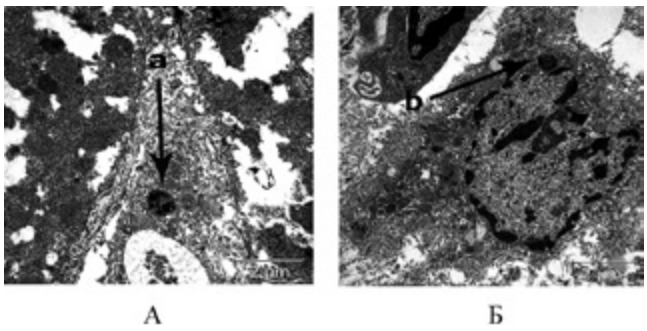


Рисунок 2. Печень крысы через 1 сутки после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 3-я группа (А), и магнитомицелл на их основе в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 5-я группа (Б). Фрагмент печеночной дольки с мононуклеарным фагоцитом, содержащим везикулу (a, b) небольшого размера с гранулами материала высокой электронной плотности

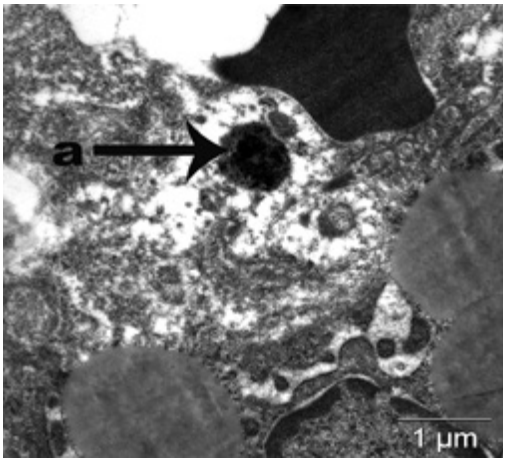


Рисунок 3. Печень крысы через 40 суток после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 2-я группа. Фрагмент цитоплазмы звездчатого макрофага с везикулой (a) небольшого размера, содержащей гранулы материала высокой электронной плотности

представлен агломератами размером до 100 нм. Обращает на себя внимание, что у крыс 3-й и 5-й групп количество везикул, как и количество электронно-плотного содержимого, превосходило таковое у животных 2-й и 4-й групп соответственно. Внутривенное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (4-я и 5-я группы) приводило к снижению количества крупных везикул на 1-е сутки исследования по сравнению с введением немодифицированных, покрытых углеродом наночастиц железа (2-я и 3-я группы) (таблица 2). Признаков повреждения аэрогематического барьера не выявляли. Пневмоциты были свободны от электронно-плотного материала и не имели признаков повреждения. Присутствия электронно-плотного материала в просвете бронхов и альвеол также не выявляли.

К 40-м суткам исследования во всех группах животных с внутривенным введением наноматериала отмечали снижение количества везикул с содержимым

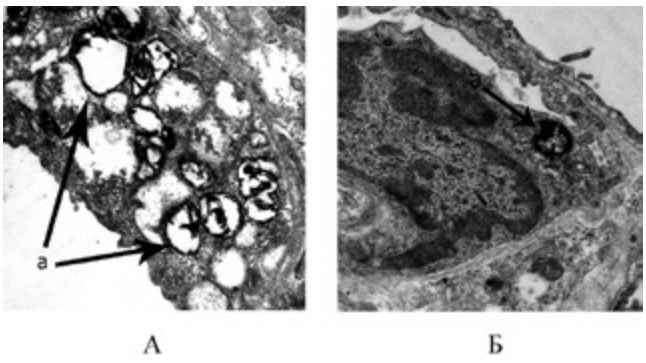


Рисунок 4. Легкое крысы через 1 сутки после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 3-я группа (А), и магнитомицелл на их основе в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 5-я группа (Б). Фрагмент цитоплазмы интерстициального макрофага с крупными везикулами (а), содержащими гранулы материала высокой электронной плотности

высокой электронной плотности. У животных 4-й и 5-й групп крупные (до 2 мкм) и мелкие (0,5–1 мкм) везикулы встречались в равных количествах, в то время как у животных 2-й и 3-й групп крупные везикулы не выявлялись вовсе (рисунок 5, таблица 2). Как и в предыдущий срок исследования, не было обнаружено наличия гранулярного электронно-плотного материала в просвете сосудов, альвеол, бронхиол и бронхов. Признаков повреждения аэрогематического барьера, пневмоцитов и клеток системы мононуклеарных фагоцитов обнаружено не было.

Выявленный электронно-плотный материал по своей морфологии (размер, форма, электронная плотность) соответствует покрытым углеродом наночастицам железа. Клетки, в цитоплазме которых выявлены везикулы, в полости которых было выявлено содержимое высокой электронной плотности, по своей структуре и локализации соответствуют клеткам системы мононуклеарных фагоцитов печени (звездчатые макрофаги, клетки Купфера) и легких (альвеолярные и интерстициальные макрофаги) [13]. Крупные везикулы,

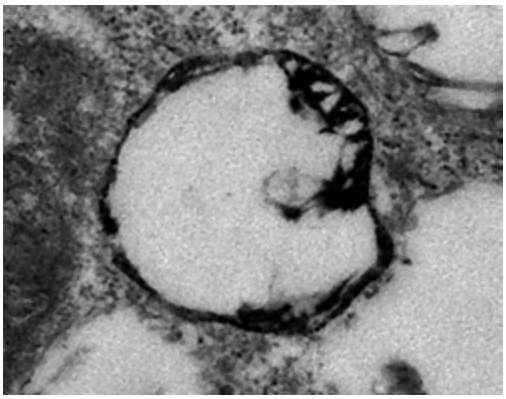


Рисунок 5. Легкое крысы через 40 суток после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 2-я группа. Фрагмент цитоплазмы альвеолярного макрофага с крупной везикулой, содержащей материал высокой электронной плотности

электронно-плотный материал в которых располагался по периферии органеллы, по-видимому, являются фагосомами. Везикулы меньшего размера, лежащие в глубоких отделах цитоплазмы, с диффузным расположением электронно-плотного материала в них – лизосомы. Совокупность этих данных может указывать на то, что захват введенного внутривенно наноматериала осуществляется путем фагоцитоза. Отсутствие наноматериала в просвете синусоидов, альвеол, а также бронхов может указывать на достаточно быстрый его фагоцитоз мононуклеарными фагоцитами изученных органов. Обращает на себя внимание соотношение числа фагосом и везикул на 1-е и 40-е сутки исследования. Так, на 1-е сутки в цитоплазме мононуклеарных фагоцитов печени и легких преобладали фагосомы, в то время как на 40-е сутки – лизосомы. Полученные данные могут указывать на то, что процессы захвата и накопления наноматериала происходят наиболее активно в первые сутки после внутривенного введения его суспензии. Наличие фагосом в клетках Купфера печени, а также альвеолярных и интерстициальных макрофагов легких крыс 4-й и 5-й групп в поздние сроки указывает на продолжающиеся процессы захвата наноматериала из циркуляции.

Таблица 2.

Динамика количества везикул, содержащих электронно-плотный материал, в макрофагах легких крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе

Группа	Тип везикул	Количество везикул на 1 клетку	
		1-е сутки	40-е сутки
2 группа	Крупные	5,2±0,83#	0#*
	Мелкие	0,4±0,55#	1,4±0,55#
	Общее количество	5,6±0,54	1,4±0,55*
3 группа	Крупные	10,4±1,14#	0#*
	Мелкие	0,4±0,55#	2±0,7#*
	Общее количество	10,8±1,5	2±0,7*
4 группа	Крупные	2,8±0,83$	1,4±0,55$
	Мелкие	1,2±0,45	2±0,7
	Общее количество	4±0,7	3,4±0,89$
5 группа	Крупные	7±0,7#$	1,6±0,83*$
	Мелкие	0,8±0,83#	1,8±0,84
	Общее количество	7,8±1,3	3,4±1,3*

Примечание: # – отличие количества везикул разного типа внутри группы в соответствующие сроки ($p<0,05$);

* – отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p<0,05$);

$ – отличие показателя от соответствующего ему у крыс с введением покрытых углеродом наночастиц железа при одинаковой дозировке ($p<0,05$).

Отсутствие наноматериала в гепатоцитах и пневмоцитах свидетельствует о достаточно низкой степени их вовлеченности в процессы фармакокинетики покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе. Отсутствие признаков повреждения гепатоцитов, пневмоцитов, а также аэро-гематического барьера может быть обусловлено как низкой токсичностью изучаемого наноматериала, так и быстрым захватом большей его части из системной циркуляции мононуклеарными фагоцитами.

Более продолжительные процессы захвата наноматериала у крыс 4-й и 5-й экспериментальной группы можно объяснить наличием молекул ПЭГ во внешнем слое магнитомицеллы. Модификация наночастиц ПЭГ повышает их гидрофильность и нивелирует опсонизацию наноматериала биомолекулами, в результате чего магнитомицеллы меньше подвержены захвату и накоплению мононуклеарными фагоцитами и способны дольше находиться в циркуляции [1]. Снижение к 40-м суткам исследования количества клеток, содержащих электроно-плотный материал, может указывать на наличие механизмов его элиминации и/или метаболизирования. В статьях [3, 9] авторы выявляли скопления клеток, содержащих наночастицы, в области печеночных триад крыс, а также их присутствие в просветах альвеол и бронхов. Возможно, процессы эвакуации наноматериала в печени осуществляются путем миграции клеток Купфера, накопивших наноматериал, в просвет желчных протоков с последующим выведением в ЖКТ, а в легких – путем миграции макрофагов в просвет альвеол, бронхиол и бронхов с последующим выведением из легких путем мукоцилиарного транспорта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Однократное внутривенное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа сопровождается их накоплением в органеллах аппарата внутриклеточного переваривания фагоцитов печени и легких. Трансмиссионная электронная микроскопия изученных органов крыс после внутривенного введения магнитомицелл показала отсутствие ультраструктурных повреждений гепатоцитов, пневмоцитов и мононуклеарных фагоцитов органа, а также аэрогематического барьера, что может указывать на достаточно низкую токсичность введенных наноструктур.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Электронная и оптическая микроскопия», ФГБНУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, г. Новосибирск, и ЦКП «Нанотех», Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г.Ю. Васюков, И.В. Митрофанова, В.В. Иванова, В.Д. Прокопьева. Поверхностно модифицированные магнитные наночастицы для медико-биологического применения // Бюллетень сибирской медицины. 2014. № 13(6). С. 33–40.
2. Г.Ю. Васюков, И.В. Мильто, И.В. Суходоло, И.В. Митрофанова. Влияние магнитомицелл на основе наночастиц железа, покрытых углеродом, на структуру печени крыс // Бюллетень сибирской медицины. 2015. № 14(2). С. 5–11.
3. С.П. Губин, Ю.А. Кокшаров, Г.Б. Хомутов, Г.Ю. Юрков. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства // Успехи химии. 2005. № 74(6). С. 539–574.
4. С.А. Антипов. Противоопухолевые эффекты *in vitro* и *in vivo* липидных композитов цисплатина и наночастиц ферромагнетика в углеродной оболочке // Бюллетень сибирской медицины. 2010. № 1. С. 9–17.
5. V.N. Nikiforov, E.Yu. Filinova. Biomedical applications of the magnetic nanoparticles // Wiley. 2009. № 8. P. 393–454.
6. A.A. Kuznetsov, O.A. Shlyakhtin, N.A. Brusnetov, O.A. Kuznetsov. «Smart» mediators for self-controlled inductive heating // Eur. Cells Mater. 2002. № 3(2). P. 75–77.
7. M. Dan, D. Scott, P. Hardy, R. Wydra, J. Hilt, R. Yokel, Y. Bae. Block copolymer cross-linked nanoassemblies improve particle stability and biocompatibility of superparamagnetic iron oxide nanoparticles // Pharm Res. 2013. № 30(2). P. 552–561.
8. C. Berry, A. Curtis. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine // J. Phys. D: Appl. Phys. 2003. № 36(13). P. 30–38.
9. L. Shen, P. Laibinis, T. Hatton. Bilayer surfactant stabilized magnetic fluids: synthesis and interactions at interfaces // Langmuir. 1999. № 15(2). P. 447–453.
10. P. Borm, D. Robbins, S. Haubold, T. Kuhlbusch, H. Fissan, K. Donaldson. The potential risks of nanomaterials // Particle and fibre toxicology. 2006. № 3. P. 1–36.
11. H. Gleiter. Nanocrystalline Materials // Adv. Struct. and Func. Mat. 1991. V. 4. P. 1–37.
12. T.M. Fahmy, P.M. Fong, J. Park, T. Constable, W.M. Saltzman. Nanosystems for simultaneous imaging and drug delivery to T cells // AAPS J. 2007. № 9(4). P. E171–E180.
13. И.В. Мильто, И.В. Суходоло. Структура печени, легкого, почек, сердца и селезенки крыс после многократного внутривенного введения суспензии наноразмерных частиц магнетита // Вестник РАМН. 2012. № 3. С. 75–79.

12–14 ОКТЯБРЯ 2016

БИОИНДУСТРИЯ

КОНГРЕССНО-ВЫСТАВОЧНЫЙ ЦЕНТР **ЭКСПОФОРУМ**

МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА-КОНКУРС

ИННОВАЦИОННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ

ПМФЗ Выставка-конкурс проходит в рамках Петербургского международного форума здоровья

РАЗДЕЛЫ ВЫСТАВКИ

1. **БИОТЕХНОЛОГИИ В СФЕРЕ ИНДУСТРИИ ЗДОРОВЬЯ**
2. **СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ И ПИЩЕВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ**
3. **БИОТЕХНОЛОГИИ В СФЕРЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ**
4. **ЛАБОРАТОРНОЕ И АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

ДЕЛОВАЯ ПРОГРАММА

- КОНКУРС ИННОВАЦИОННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ
- КОНФЕРЕНЦИЯ-ПРЕЗЕНТАЦИЯ ИННОВАЦИОННЫХ РАЗРАБОТОК «БИОИНДУСТРИЯ НА ПУТИ К ТЕХНОЛОГИЯМ БУДУЩЕГО»
- КРУГЛЫЙ СТОЛ ПО ВОПРОСАМ КОММЕРЦИАЛИЗАЦИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ РАЗРАБОТОК

ОРГАНИЗАТОР

EXPOFORUM

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ МЕДИАПАРТНЕР

Телеканал Санкт-Петербург topspb.tv

0+

ПЕТЕРБУРГСКОЕ ШОССЕ, 64/1
ТЕЛ. 8 (812) 240 40 40, ДОБ. 225
BIO@EXPOFORUM.RU
YU.VOLODARSKAYA@EXPORORUM.RU
WWW.BIO.EXPOFORUM.RU

УДК 615.252

1 – Независимый испытательный центр ООО «ОЛФАРМ», 117105, Россия, г. Москва, ул. Нагатинская, 3А

1 – Independent Testing Center «OLPHARM», 3A, Nagatinskaya str., Moscow, 117105, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: juravleva@olpharm.ru

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «ГИОСКАПИН» ПРОИЗВОДСТВА ООО «В-МИН» (РОССИЯ) И ЕГО МОНОКОМПОНЕНТОВ НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ФОРМАЛИНОВОГО АРТРИТА У КРЫС

М.С. Журавлева[1]*, Т.Я. Померанцева[1], Е.Д. Борисова[1], Н.В. Шадрина[1], Т.Н. Смирнова[1]

Резюме. В статье приведены результаты изучения специфической активности комбинированного лекарственного средства «Гиоскапин» на модели экспериментального формалинового артрита коленного сустава у крыс. Целью исследования являлся сравнительный анализ преимущества комбинированного состава перед монокомпонентами (мелоксикам, дексаметазон, эхинацеи экстракт сухой). Была установлена высокая эффективность жаропонижающего и противовоспалительного действия «Гиоскапина» по сравнению с отдельными лекарственными компонентами. Макроскопический и гистологический анализ выявил благоприятное воздействие исследуемого средства на компоненты сустава.

Ключевые слова: «Гиоскапин», капсулы, дексаметазон, мелоксикам, экстракт эхинацеи, формалиновый артрит.

DRUG «GEOSCAPE» PRODUCED BY «B-MIN» (RUSSIA) AND ITS MONOCOMPONENTS ON THE MODEL OF EXPERIMENTAL FORMALIN ARTHRITIS IN RATS

M.S. Zhuravleva[1]*, T.Y. Pomerantseva[1], E.D. Borisova[1], N.V. Shadrina[1], T.N. Smirnova[1]

Abstract. The article presents the results of studying of specific activity of the combined drug «Geoscape» on the model of experimental formalin arthritis of the knee joint in rats. The aim of the study was the comparative analysis of the benefits of the combined composition on monocomponents (meloxicam, dexamethasone, Echinacea dry extract). Was installed high efficiency antipyretic and anti-inflammatory action «Geoscape» compared to the individual drug components. Macroscopic and histological analysis revealed a beneficial effect of the investigated tools to components of the joint.

Keywords: Geoscape, capsules, dexamethasone, meloxicam, Echinacea extract, formalin arthritis.

ВВЕДЕНИЕ

Артриты объединяют группу воспалительных поражений суставов различного генеза, в которые вовлекаются синовиальные оболочки, капсула, хрящ и другие суставные элементы. Главным симптомом заболевания является артралгия – болевые ощущения от незначительных до крайне сильных, не проходящих длительное время. Клиническая картина артрита также дополняется локальным повышением температуры тела и покраснением, припухлостью суставной области, ощущениями скованности и ограничением подвижности [1].

Основной задачей при лечении артрита в первую очередь является уменьшение боли и воспаления, что позволит восстановить функциональную способность больного. Для достижения этой цели чаще используют группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВП) и глюкокортикостероиды [2].

Риск развития побочных явлений данных фармакологических групп значителен, что послужило поводом для поисков нового комбинированного препарата противовоспалительного и анальгезирующего действия при острой фазе артропатий с минимизацией нежелательных реакций.

В связи с вышеизложенным было проведено доклиническое изучение специфической активности нового комбинированного лекарственного средства «Гиоскапин» производства ООО «В-МИН» (Россия) на модели экспериментального формалинового артрита у крыс с целью сравнительного исследования преимущества комбинации над монокомпонентами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали конвенциональных белых аутбредных крыс-самцов массой 210,4±4,3 г. Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России (Московская область).

Работа была выполнена с соблюдением требований Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» № 61-ФЗ от 12.04.2010, приказа Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики», международного стандарта ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Эксперименты на животных проводились с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Животных содержали по 6 особей в клетках в контролируемых условиях окружающей среды: при температуре воздуха 20-26 °С и относительной влажности 30–70% (СП 2.2.1.3218-14). Освещение в комнатах – естественно-искусственное (12 ч – день, 12 ч – ночь).

Крысам давали стандартный комбикорм ПК-120, гранулированный полнорационный (экструдированный), производства ООО «Лабораторкорм» (Россия). Корм давали *ad libitum* в кормовое углубление клетки или в кормушку. Водопроводную воду давали *ad libitum* в стандартных поилках.

Оценку специфической активности изучали на модели формалинового артрита у крыс. Модель экспериментального формалинового артрита коленного сустава вызывали введением 0,1 мл 20% раствора формалина (Panreac, CAS-No. 50-00-0, Испания) в суставную полость правой лапы на основании «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (главы 12, 48) под редакцией А.Н. Миронова, а также литературных источников [3–5] в нашей модификации.

Через 24 ч получали модель острого артрита, сопровождавшуюся выраженным болевым синдромом (вокализация при пальпации) и отеком области сустава.

Введение исследуемых лекарственных средств (ЛС) крысам проводили внутрижелудочно с использованием игл для кормления № 10 («Аналитик-лаб», Россия).

Лечение животных начинали на следующие сутки после внутрисуставного введения раствора формалина и продолжали в течение 10 дней.

Животных разделили на 16 групп по 6 особей в каждой. Исследуемое ЛС изучали в комбинации активных веществ и в монокомпонентном составе. Взятые для изучения дозы были эквивалентны 0,5, 1 и 10 терапевтическим дозам (ТД) для крысы [6]. В качестве эталонного препарата использовали современный и эффективный НПВП – «Диклофенак», таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг, производства ООО «Хемофарм», Россия (серия 010475, срок годности до 10.2017), в аналогичных дозах.

Для анализа противовоспалительной активности изучаемого ЛС и его монокомпонентов оценивали массу тела животных, ректальную температуру, динамику изменения объема конечностей, общее состояние и поведение животных.

Измерение ректальной температуры у крыс проводили электронным цифровым термометром GT-131 (Германия) согласно инструкции производителя с точностью 0,1 °С. Взвешивание осуществляли на электронных весах (ПВм-3/6-ЖКИ, Россия). С помощью штангенциркуля (тип 1, диапазон измерений 0–150 мм, погрешность 0,2 мм) проводили измерение отека (диаметр) суставов опытной и контрольной лап у крыс.

При проведении патологоанатомического вскрытия экспериментальных животных макроскопически оценивали состояние слизистой оболочки желудка и тонкого отдела кишечника, а также осуществляли гистологический анализ суставной полости коленного сустава.

Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Статистический анализ данных был выполнен с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (Stat Soft, США). Результаты измерения исследованных показателей были усреднены по экспериментальным группам и представлены в виде M±m, где M – среднее по группе, m – стандартное отклонение. Достоверность различий между группами определяли с помощью параметрического t-критерия Стьюдента при $p \leq 0,05$ при нормальном распределении выборки и непараметрического U-критерия Манна – Уитни при $p \leq 0,05$ при ненормальном распределении.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Внешний осмотр крыс, проведенный в течение периода формирования патологии, показал, что у животных была несколько снижена двигательная активность, отмечалось изменение походки – животные оберегали поврежденную конечность, избегая наступать на нее. Аппетит животных в группах с максимальными дозами комбинированного ЛС «Гиоскапин», ЛС с монокомпонентом дексаметазон и препарата сравнения «Диклофенак» был снижен, наблюдали размягчение болюсов и диарею.

В данных экспериментальных группах отмечали гибель по одному животному в период 6-9 дней эксперимента.

Таблица 1.

Дизайн исследования

Группа №	Вид, пол животных	Кол-во животных	Лекарственное средство	Доза мг/кг	Режим введения
1	Крысы (♂)	6	«Гиоскапин» в комбинации	25	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
2	Крысы (♂)	6		50	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
3	Крысы (♂)	5*		500	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
4	Крысы (♂)	6	«Гиоскапин» (с мелоксикамом)	25	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
5	Крысы (♂)	6		50	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
6	Крысы (♂)	6		500	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
7	Крысы (♂)	6	«Гиоскапин» (с дексаметазоном)	25	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
8	Крысы (♂)	6		50	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
9	Крысы (♂)	5*		500	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
10	Крысы (♂)	6	«Гиоскапин» (с экстрактом эхинацеи сухим)	25	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
11	Крысы (♂)	6		50	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
12	Крысы (♂)	6		500	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
13	Крысы (♂)	6	«Диклофенак»	6,5	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
14	Крысы (♂)	6		13	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
15	Крысы (♂)	5*		130	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней
16	Крысы (♂)	6	Контроль (1% крахмальный гель)	–	Внутрижелудочно 1 раз в день в течение 10 дней

Примечание: *уменьшение количества животных обусловлено их гибелью в группах максимальной дозы.

Динамика массы тела экспериментальных животных в период формирования патологии и лечения приведена в таблице 2.

Таблица 2.

Динамика массы тела животных

Препарат, доза	Изменение массы тела животных (в % от исходной) через:					
	Исходная (г)		4 дня		10 дней	
	M	m	M	m	M	m
Контроль	209,3	3,6	108,8	1,0	114,6	2,6
Исследуемое ЛС «Гиоскапин»						
0,5 ТД	211,2	5,3	106,9	0,6	114,3	2,1
1 ТД	215,7	4,8	105,1	3,9	108,8	4,6
10 ТД	208,8	1,6	95,8*	1,4	92,2*	1,2
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – мелоксикам)						
0,5 ТД	207,2	2,8	106,5	2,6	115,2	4,0
1 ТД	209,7	3,3	107,3	2,5	115,1	3,3
10 ТД	207,8	3,2	108,6	2,4	116,3	3,5
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – дексаметазон)						
0,5 ТД	207,8	4,6	108,3	2,4	115,2	4,7
1 ТД	208,5	4,2	105,6	2,0	111,6	3,9
10 ТД	208,0	4,5	94,7*	2,8	91,0*	2,9
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – эхинацеи экстракт сухой)						
0,5 ТД	207,8	4,3	105,4	1,8	116,5	4,4
1 ТД	206,8	2,8	106,0	2,3	115,7	5,4
10 ТД	208,2	3,5	105,0	0,9	113,1	2,8
Препарат сравнения «Диклофенак»						
0,5 ТД	206,3	3,4	104,9	1,1	111,4	1,4
1 ТД	211,3	2,7	105,8	3,2	111,4	1,2
10 ТД	209,7	3,1	98,8*	4,5	103,0*	4,1

Примечание: *статистически значимое отличие по сравнению со значениями терапевтической дозы (расчеты были произведены с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна – Уитни при $p<0,05$).

Согласно полученным данным (таблица 2) животные, которых лечили исследуемым ЛС как в комбинации компонентов, так и в виде моновеществ в дозах 0,5 ТД и 1 ТД, сохраняли положительную динамику массы тела на протяжении всего периода исследования [7].

В группах максимального введения комбинированного ЛС «Гиоскапин», монокомпонента дексаметазон и препарата сравнения «Диклофенак» (10 ТД) отмечали достоверное снижение прироста массы тела крыс через 4 и 10 дней эксперимента в пределах 20%.

Динамика массы тела крыс-самцов при внутрижелудочном введении в терапевтических дозах испытуемых образцов оставалась положительной.

В период формирования формалинового артрита и лечения у всех опытных животных измеряли ректальную температуру. Результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Динамика ректальной температуры животных

Препарат, доза	Изменение ректальной температуры (°С) тела животных после внутрисуставного введения формалина через:							
	Исходная		1 день		4 дня		10 дней	
	M	m	M	m	M	m	M	m
Контроль	37,2	0,3	38,1*	0,4	38,6*	0,4	38,9*	0,5
Исследуемое ЛС «Гиоскапин»								
0,5 ТД	37,4	0,4	38,5*	0,3	38,4*	0,5	38,2*	0,3
1 ТД	37,4	0,4	38,9*	0,5	38,1*	0,3	37,6**	0,3
10 ТД	37,5	0,2	38,7*	0,3	39,3*	0,3	39,1*	0,5
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – мелоксикам)								
0,5 ТД	37,4	0,4	38,1*	0,3	38,0*	0,3	38,0*	0,5
1 ТД	37,1	0,3	38,3*	0,4	38,1*	0,2	37,9**	0,4
10 ТД	37,3	0,3	38,5*	0,4	37,8**	0,3	37,6**	0,4
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – дексаметазон)								
0,5 ТД	37,4	0,4	38,6*	0,4	38,5*	0,6	38,6*	0,3
1 ТД	37,2	0,3	38,7*	0,5	38,2*	0,6	38,0*	0,3
10 ТД	37,1	0,3	38,7*	0,5	38,3*	0,3	38,2*	0,3
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – эхинацеи экстракт сухой)								
0,5 ТД	37,4	0,3	38,7*	0,8	38,1*	0,5	38,0*	0,3
1 ТД	37,4	0,5	38,9*	0,8	38,6*	0,4	38,4*	0,5
10 ТД	37,3	0,3	38,7*	0,3	38,2*	0,6	38,1*	0,5
Препарат сравнения «Диклофенак»								
0,5 ТД	37,2	0,5	38,4*	0,3	37,9**	0,4	37,9**	0,4
1 ТД	37,4	0,3	38,2*	0,4	37,7**	0,5	37,5**	0,4
10 ТД	37,5	0,2	38,8*	0,5	38,5*	1,0	39,0*	0,6

Примечания: *статистически значимое отличие по сравнению с исходной температурой; **статистически значимое отличие по сравнению с температурой тела крыс через 24 ч после внутрисуставного введения формалина (расчеты были произведены с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна – Уитни при $p<0,05$).

Из данных таблицы 3 видно, что через 24 ч после внутрисуставного введения 0,1 мл 20% формалина у животных всех экспериментальных групп отмечено достоверное повышение ректальной температуры. В контрольной группе без лечения через 4 и 10 дней температура оставалась значимо выше исходного показателя.

В группе комбинированного ЛС «Гиоскапин» в дозах 0,5 ТД и 10 ТД достоверного снижения температуры не выявлено. При внутрижелудочном введении изучаемого ЛС в терапевтической дозе на 4-й день лечения отмечен жаропонижающий эффект. К 10-му дню эксперимента ректальная температура крыс была статистически ниже показателя острой фазы артрита и сопоставима с исходной.

Применение монокомпонента мелоксикам в дозе 1 ТД вызвало значимое снижение температуры на 10-й день исследования. Увеличение дозы до 10 ТД способствовало развитию жаропонижающего эффекта с 4-го дня лечения.

Изучение монокомпонентов дексаметазон и эхинацеи экстракт сухой не выявило достоверных отличий от контроля.

Препарат сравнения «Диклофенак» проявил достоверное жаропонижающее действие в дозах 0,5 ТД и 1 ТД. Показатели жаропонижающего эффекта приведены в таблице 3. За наличие жаропонижающего действия принимали достоверное снижение температуры либо по сравнению с исходной температурой, либо после формирования патологии.

Таким образом, комбинация компонентов ЛС «Гиоскапин» в ТД имела преимущество по сравнению с монокомпонентами аналогичной дозы по характеру снижения ректальной температуры у крыс при моделировании экспериментального формалинового артрита.

В период формирования и лечения формалинового артрита у крыс вычисляли длину окружности коленного сустава опытной и контрольной лап. Результаты приведены в таблице 4.

Согласно данным таблицы 4 обхват правой (опытной) конечности у крыс всех экспериментальных групп был достоверно выше через 24 ч после внутрисуставного введения раздражающего агента при моделировании формалинового артрита. В контрольной группе (без лечения) отек конечности оставался выраженным через 4 и 10 дней эксперимента.

Внутрижелудочное введение комплексного ЛС «Гиоскапин» в дозе 0,5 ТД вызвало достоверное снижение отека конечности на 4-й и 10-й дни исследования. Введение ЛС в терапевтической дозе способствовало уменьшению обхвата воспаленного сустава конечности, показатели которого уже на 4-й день исследования не имели достоверных отличий от исходного. Увеличение дозы в 10 раз снижало отек, но общее состояние животных и результаты патологоанатомического вскрытия показали отрицательное влияние максимальной дозы на организм животных.

Монокомпоненты мелоксикам и дексаметазон в терапевтических дозах вызывали достоверное снижение отека на 10-й день эксперимента. Максимальн-

Таблица 4.

Динамика изменения длины окружности коленных суставов у крыс

Препарат, доза	Изменение обхвата конечностей крыс (см) после внутрисуставного введения формалина через:															
	Исходный				1 день				4 дня				10 дней			
	Левая лапка (контроль)		Правая лапка (опыт)		Левая лапка (контроль)		Правая лапка (опыт)		Левая лапка (контроль)		Правая лапка (опыт)		Левая лапка (контроль)		Правая лапка (опыт)	
	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m
Контроль	4,9	0,2	4,9	0,1	4,9	0,1	6,5*	0,4	4,9	0,1	6,5*	0,6	5,0	0,1	6,7*	0,6
Исследуемое ЛС «Гиоскапин»																
0,5 ТД	5,0	0,1	5,0	0,1	5,0	0,1	6,9*	0,3	5,0	0,1	5,5**	0,2	5,0	0,1	5,4**	0,2
1 ТД	4,8	0,1	4,8	0,1	4,8	0,1	6,4*	0,5	4,7	0,2	5,1**	0,3	4,8	0,1	4,9**	0,2
10 ТД	4,7	0,2	4,8	0,2	6,0	0,2	6,0*	0,3	4,7	0,2	5,0**	0,2	4,7	0,2	4,9**	0,2
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – мелоксикам)																
0,5 ТД	4,8	0,3	4,8	0,3	4,8	0,2	6,4*	0,7	4,8	0,2	6,1	0,6	4,9	0,1	6,0	0,6
1 ТД	4,7	0,2	4,7	0,2	4,8	0,3	6,5*	0,5	4,7	0,3	6,0	0,5	4,7	0,2	5,6**	0,6
10 ТД	4,8	0,2	4,8	0,3	4,8	0,3	6,6*	0,5	4,8	0,2	5,5**	0,7	4,8	0,2	5,2**	0,6
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – дексаметазон)																
0,5 ТД	4,8	0,3	4,8	0,2	4,8	0,3	6,5*	0,5	4,8	0,3	6,2	0,4	4,8	0,2	5,6	0,4
1 ТД	4,8	0,2	4,8	0,2	4,9	0,2	6,4*	0,6	4,8	0,2	5,8	0,6	4,9	0,2	5,2**	0,4
10 ТД	4,8	0,3	4,8	0,2	4,8	0,2	6,6*	0,4	4,8	0,2	5,9	0,4	4,7	0,3	5,0**	0,3
Исследуемое ЛС «Гиоскапин» (монокомпонент – эхинацеи экстракт сухой)																
0,5 ТД	4,9	0,2	4,8	0,2	4,9	0,1	6,7*	0,5	4,8	0,1	6,4	0,6	4,8	0,2	6,2	0,7
1 ТД	4,7	0,2	4,7	0,2	4,7	0,2	6,5*	0,6	4,8	0,2	6,1	0,6	4,8	0,2	5,9	0,7
10 ТД	4,7	0,2	4,8	0,2	4,7	0,2	6,3*	0,5	4,7	0,2	6,0	0,6	4,7	0,2	5,7	0,5
Препарат сравнения «Диклофенак»																
0,5 ТД	4,7	0,1	4,7	0,2	4,8	0,1	6,2*	0,6	4,7	0,1	5,1**	0,2	4,7	0,1	5,0**	0,1
1 ТД	4,6	0,2	4,6	0,3	4,7	0,3	6,1*	0,4	4,6	0,2	5,1**	0,2	4,6	0,2	4,7**	0,2
10 ТД	4,7	0,1	4,8	0,1	4,7	0,1	6,0*	0,4	4,7	0,1	5,3**	0,2	4,7	0,1	4,8**	0,1

Примечания: *статистически значимое отличие по сравнению с исходным обхватом конечности; **статистически значимое отличие по сравнению с обхватом конечностей крыс через 24 ч после внутрисуставного введения формалина (расчеты были произведены с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна – Уитни при $p<0,05$).

ная доза 10 ТД сопровождалась снижением обхвата пораженной конечности, патологоанатомическое вскрытие животных данных экспериментальных групп выявило отрицательное воздействие максимальной дозы.

Внутрижелудочное введение монокомпонента эхинацеи экстракт сухой не оказало достоверного противовоспалительного эффекта во всех исследуемых дозах, но тенденция к снижению обхвата пораженной конечности была выражена.

Препарат сравнения «Диклофенак» во всех исследуемых дозах оказал положительное влияние на отек воспаленного сустава уже с 4-го дня лечения. Доза 10 ТД вызвала изменения во внутренних органах животных.

Установлено, что в исследовании динамики величины отека пораженной конечности комбинация ЛС «Гиоскапин» показала преимущество противовоспалительного действия по сравнению с монокомпонентами.

Макроскопическое исследование

После эвтаназии проводили патологоанатомическое вскрытие опытных и контрольных животных.

При вскрытии установлено, что во всех экспериментальных группах введения монокомпонентов и комбинированного ЛС в дозах 0,5 ТД и 1 ТД расположение внутренних органов оставалось правильным. Свободной жидкости в плевральной и брюшной полостях не обнаружено.

У контрольной группы наблюдали сглаженность контуров сустава правой (опытной) конечности, отечность околосуставных тканей и мутность синовиальной жидкости. Схожая картина была в группах введения монокомпонентов и комбинированного ЛС в дозах 0,5 ТД. Слизистая оболочка желудка и тонкого отдела кишечника оставалась без изменений.

Применение терапевтической дозы мелоксикама и дексаметазона показало уменьшение степени отечности тканей и размера суставной щели (за счет уменьшения выпота). Слизистая оболочка желудка блестящая, складчатая, бледно-розовая. Просвет кишок тонкого отдела равномерный, слизистая блестящая, гладкая.

Введение комбинированного ЛС «Гиоскапин» в дозе 1 ТД способствовало устранению признаков воспаления сустава на 10-й день лечения. Отек околосуставных поверхностей не выявлен, контуры сустава в норме, синовия прозрачная.

Лечение формалинового артрита у крыс препаратом «Диклофенак» во всех исследуемых дозах показало положительный эффект без макроскопических изменений суставных поверхностей.

Отмечено, что при десятикратной дозе применения монокомпонентов мелоксикам и дексаметазон, а также комбинированного ЛС «Гиоскапин» выявлена гиперемия слизистой оболочки желудка и тонкого отдела кишечника.

Применение «Диклофенака» в дозе 10 ТД вызвало осветление печени и селезенки, мозаичность их окраски, изъязвление и анемичность слизистой оболочки желудка, спайки кишок тонкого отдела.

Гистологическое исследование

При гистологическом исследовании воспаленных суставов крыс контрольной группы (без лечения) наблюдали полнокровие и отек околосуставных тканей, лимфоидную инфильтрацию рыхлой соединительной ткани и полнокровие ворсинок синовиальной оболочки.

Гистологическая картина пораженных суставов у крыс в группах применения дексаметазона и мелоксикама в дозах 0,5 ТД, а также во всех экспериментальных группах применения экстракта эхинацеи сухого имела схожий характер.

В опытных группах применения комбинированного ЛС «Гиоскапин» и препарата «Диклофенака» в дозах 1 ТД суставные поверхности были покрыты слоем нормального гиалинового хряща. Граница между хрящом и костью четко выражена. Внутренняя зона хряща была однородна и содержала полости с хрящевыми клетками. Наблюдаемое количество фибрилл и их расположение в норме. Наружная поверхность хряща ровная. Внутренний синовиальный слой капсулы без изменений. Поверхность синовиальной оболочки, обращенная в полость сустава, ровная и гладкая. Отмечены выросты в виде складок и ворсинок, в основе которых жировая ткань. Поверхность образована одним слоем плотно сомкнутых плоских клеток с неправильно очерченными границами. Ядра клеток круглые или овальные. Встречались многоядерные клетки большого размера. Полнокровия или лимфоидной инфильтрации не наблюдали.

Отмечено, что комбинация компонентов ЛС «Гиоскапин» в гистологическом исследовании показала более выраженный положительный эффект при лечении экспериментального формалинового артрита у крыс по сравнению с монокомпонентами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного нами эксперимента было установлено, что комбинация компонентов (дексаметазон, мелоксикам, экстракт эхинацеи сухой) в ЛС «Гиоскапин» имела преимущество по сравнению с монокомпонентами в характере жаропонижающего и противовоспалительного действия в терапевтической дозе на крысах при моделировании экспериментального формалинового артрита. Введение ЛС «Гиоскапин» не вызвало отрицательного воздействия на динамику массы тела животных, а макроскопическое и гистологическое описание пораженных суставов подтвердило благоприятное воздействие изучаемого ЛС на суставные компоненты после снятия болевого синдрома и отека.

Полученные результаты являются основой для возможности дальнейшего изучения взаимодействия «Гиоскапина» с организмом человека в клинических испытаниях.

ЛИТЕРАТУРА

1. В.Ф. Гладенин, В.Н. Шилов, Т.В. Гитун, А.Г. Елисеев. Большая медицинская энциклопедия. – М.: Эксмо, 2009. 864 с.
2. Р.М. Балабанова. Диклофенак – оптимальный выбор нестероидного противовоспалительного препарата для семейного врача // Русский медицинский журнал. 2002. № 15. С. 654–656.
3. А.В. Рыдловская, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, С.В. Тесакова, В.А. Иванова, О.Н. Пожарицкая, В.П. Тихонов. Противовоспалительная активность и механизм действия препарата «Артро-Актив» // Фармация. 2007. № 1. С. 38–41.
4. Н.Н. Каркищенко. Основы биомоделирования. – М.: Изд-во ВПК, 2004. 607 с.
5. Патент №2266748 РФ. Средство, обладающее противовоспалительной активностью / В.П. Тихонов, В.Г. Макаров, Л.К. Гавровская. 2005.
6. Т.А. Гуськова. Токсикология лекарственных средств. – М.: МДВ, 2008. 196 с.
7. А.П. Линева. Физиологические показатели нормы животных. – М.: Аквариум; ФГУИППВ, 2003. 256 с.

УДК 615.1

1 – ООО «Центр клинических исследований», 191014, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Чехова, 14Б, лит. А

1 – Centre of Clinical Trials. Co Ltd., 14B, bd. A, Chekhova str., Saint-Petersburg, 191014, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: contact@centre-ct.ru
Тел.: 8 (800) 555 26 29

СТРАТЕГИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ КОПИЙ РАНЕЕ ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ. ЧАСТЬ 3. ПРОТОКОЛ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

К.А. Яценко[1], Е.А. Кузнецов[1], А.В. Аркадьева[1], В.С. Березина[1]

Резюме. Приведенные в данной статье рекомендации, основанные на действующих в настоящее время нормативных документах и указаниях регуляторных органов по проведению клинических исследований биоэквивалентности и на профессиональном опыте авторов, помогут «медицинскому писателю» правильно спланировать клиническое исследование. В статье представлена информация о критериях выбора субъекта исследования, референтного препарата, оцениваемых доз и дизайна исследования, указаны ключевые характеристики биоаналитического метода, а также описаны параметры оценки биоэквивалентности и критерии оценки итогового протокола.

Ключевые слова: клинические исследования, биоэквивалентность, протокол, дизайн исследования.

CLINICAL DEVELOPMENT STRATEGY FOR COPIES OF PREVIOUSLY REGISTERED DRUGS. PART 3. PROTOCOL OF CLINICAL TRIAL OF BIOEQUIVALENCE

K.A. Yatsenko[1], E.A.Kuznetsov[1], A.V. Arkadjeva[1], V.S. Berezina[1]

Abstract. Recommendations presented in the article are based on current regulations and guidelines of regulatory authorities on clinical trials of bioequivalence and professional experience of authors and will be useful for medical writers to plan clinical trial lege artis. Article gives information about choice of inclusion / exclusion criteria, reference, dosages evaluated, study design, bioanalytical method validation, outcome measures and acceptance criteria for resulting protocol.

Keywords: clinical trials, bioequivalence, protocol, study design.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с федеральной целевой программой «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» доля рынка отечественных лекарств в России должна существенно вырасти [1]. Увеличение числа отечественных воспроизведенных препаратов позволит снизить зависимость от импорта жизненно важных и необходимых лекарственных средств, что увеличит доступность общепринятых схем лечения в рамках медицинской помощи.

Социальная и экономическая целесообразность увеличения числа используемых дженериков во всем мире потребовала унификации требований к их качеству, безопасности и эффективности. В результате была сформулирована концепция биоэквивалентности дженерика оригинальному препарату, детально отраженная в многочисленных правилах, созданных регуляторными органами различных стран [2, 3]. Клиническая оценка биоэквивалентности, или фармакокинетической эквивалентности, воспроизведенного лекарственного средства обоснованно выбранному препарату сравнения (в идеале – оригинальному лекарственному средству) является основным видом медико-биологического контроля его качества и позволяет сделать обоснованное заключение о качестве сравниваемых лекарственных средств по относительно меньшему объему первичной информации и в более сжатые сроки, чем при проведении сравнительных клинических исследований эффективности и безопасности [3, 4]. Это снижает затраты на разработку и регистрацию препарата-дженерика и в конечном итоге способствует достижению экономической целесообразности его разработки [2–4].

Основным документом, регламентирующим проведение клинического исследования биоэквивалентности (КИ БЭ), является протокол. В данной статье сформулированы рекомендации по его разработке, основанные на общих правилах проведения КИ БЭ и профессиональном опыте специалистов ООО «ЦКИ», которые помогут «медицинскому писателю» правильно спланировать будущее исследование.

1. ИСХОДНЫЕ ДАННЫЕ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРОТОКОЛА КИ БЭ

Для подготовки протокола «медицинский писатель» должен обладать достаточной информацией как минимум двух видов:

а) требования и рекомендации официальных нормативных и методических документов, перечисленные в изданиях, в содержании и требованиях которых медицинский писатель должен хорошо ориентироваться для планирования КИ БЭ в РФ [5–13];

б) информация об исследуемом препарате: фармакодинамические и биофармацевтические свойства, спектр безопасности, особенности фармакокинетики; указанные сведения содержатся как в досье оригинального препарата, так и в мировой научной литературе, подробнее о работе с которой мы писали ранее [14].

2. ПРИМЕНИМОСТЬ ФОРМАТА КИ БЭ ДЛЯ БУДУЩЕЙ РЕГИСТРАЦИИ ПРЕПАРАТА

Объектом исследований БЭ являются воспроизведенные дозированные лекарственные средства (ЛС), предназначенные для внесосудистого, но не парентерального введения, при условии, что их действие опосредовано появлением лекарственного вещества в системном кровотоке. Оценка биоэквивалентности проводится для всех регистрируемых лекарственных форм, обеспечивающих немедленное или постепенное высвобождение лекарственного вещества или лекарственных веществ (в случае комбинированных препаратов).

Формат КИ БЭ как единственного предрегистрационного клинического исследования неприменим в следующих случаях:

а) если биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов невозможно подтвердить с помощью исследования биодоступности (препарат не попадает в системный кровоток, либо его действие не коррелирует с изменением концентрации в системном кровотоке);

б) для лекарственных препаратов биологического происхождения (вакцины, сыворотки, препараты человеческой крови и плазмы, биотехнологические препараты и проч.): клиническая разработка таких препаратов намного сложнее и, как правило, состоит из нескольких этапов, в том числе оценки сравнительной фармакокинетики (но не биоэквивалентности!);

в) для растительных[1] лекарственных препаратов, действующие вещества которых не в полной мере охарактеризованы (т.е. их точный состав и количественное содержание всех действующих компонентов неизвестны).

3. КЛЮЧЕВЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПРОТОКОЛА КИ БЭ

Планирование КИ БЭ следует начинать с разработки ключевых положений протокола; собранные воедино, они представляют собой синопсис протокола клинического исследования. Рассмотрим их подробнее.

3.1. Характеристика популяции, планируемой для включения в КИ БЭ

Как и в любом другом клиническом исследовании, характеристика включаемых в КИ БЭ субъектов дается с помощью критериев включения/невключения. Исследования биоэквивалентности проводятся при назначении исследуемых препаратов здоровым добровольцам, за исключением случаев, когда препараты несут очевидную угрозу здоровью испытуемых, что делает такие исследования неэтичными. На практике в профильной популяции проводят исследования только высокотоксичных препаратов, в первую очередь препаратов с необратимой токсичностью (таких, как многие противоопухолевые препараты).

Все критерии, определяющие популяцию, можно условно разделить на две категории – стандартные (оговоренные нормами и правилами проведения КИ БЭ, содержащимися в соответствующих руководствах) и специфичные для исследуемых препаратов.

Стандартные критерии включения и невключения описывают состояние добровольца «здоров» и включают рамочные количественные показатели состояния различных органов и систем, которым должен удовлетворять доброволец до включения в исследования. Примерный перечень таких критериев представлен в таблице 1.

Специфичные критерии включения/невключения определяются действием конкретных исследуемых препаратов, например:

– при наличии данных о тератогенной активности препарата включение добровольцев женского пола недопустимо;

– если метаболизм препарата зависит от конкретной изоформы цитохрома Р-450, для снижения вариабельности фармакокинетических параметров желательно исключение участия в исследовании лиц с «быстрым» или «медленным» метаболизмом по результатам генотипирования по конкретной изоформе (критерий невключения при наличии анамнестических данных о результатах генотипирования либо

[1]Принципиально понятие биоэквивалентности может рассматриваться в отношении лекарственных препаратов растительного происхождения, но только в том случае, если препарат представляет собой / содержит в качестве единственного действующего вещества соединение растительной природы с известной структурой, а фармакодинамика препарата определяется его концентрацией в системном кровотоке.

Таблица 1.

Стандартные критерии включения/невключения здоровых добровольцев для разработки протокола клинического исследования биоэквивалентности

Стандартные критерии включения добровольцев	Стандартные критерии невключения добровольцев
– мужчина/женщина в возрасте не менее 18 лет; – верифицированный диагноз «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования; – индекс массы тела не менее 18,5 и не более 30 кг/м^2; – для женщин – отрицательный тест на беременность и согласие придерживаться адекватных методов контрацепции; в случае использования гормональных контрацептивов они должны быть отменены не менее чем за 2 мес. до начала исследования.	– отягощенный аллергологический анамнез; – лекарственная непереносимость; – хронические заболевания сердечно-сосудистой, бронхолегочной, нейроэндокринной системы, а также заболевания желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови; – хирургические вмешательства на желудочно-кишечном тракте (за исключением аппендэктомии); – острые инфекционные заболевания менее чем за 4 недели до начала исследования; – регулярный прием лекарственных средств менее чем за 2 недели до начала исследования; – прием лекарственных средств, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику, функцию печени и др. (барбитураты, омепразол, циметидин и т.д.), менее чем за 30 дней до начала исследования; – донорство (450 мл крови или плазмы и более) менее чем за 2 мес. до начала исследования; – прием более чем 10 ед. алкоголя в неделю (1 ед. алкоголя эквивалентна ½ л пива, 200 мл вина или 50 мл спирта) или анамнестические сведения об алкоголизме, наркомании, злоупотреблении лекарственными средствами; – курение более 10 сигарет в день; – участие в I фазе клинического испытания / клиническом исследовании биоэквивалентности / сравнительной фармакокинетики лекарственных средств менее чем за 3 мес. до начала исследования.

критерий исключения при отсутствии таких данных и генотипировании в рамках исследования);

– исключение добровольцев, имеющих операторские профессии, при исследовании препарата с ярко выраженным седативным эффектом.

3.2. Выбор препарата сравнения

Согласно GCP планирование клинического исследования (а значит, и выбор референтного препарата) необходимо осуществлять в соответствии с принципами доказательной медицины и в рамках, установленных локальным законодательством.

По требованиям EMA выбор референтного препарата подчиняется исключительно логике использования для сравнения препарата с доказательной базой наибольшей ценности; таким образом, приоритет отдается оригинальному препарату [5]. При отсутствии такого препарата на мировом рынке в качестве референтного выбирается воспроизведенный препарат, биоэквивалентность которого оригинальному доказана. В иных случаях выбирают доступный воспроизведенный препарат с наилучшей доказательной базой.

В Российской Федерации эта логика вступает в противоречие с приоритетом регистрации препарата на территории нашей страны, установленным 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», согласно которому в качестве референтного может быть использован только зарегистрированный в РФ препарат [6]. Таким образом, сравнение в предрегистрационном клиническом исследовании биоэквивалентности дженерика с незарегистрированным оригинальным препаратом с целью последующей регистрации дженерика становится невозможным.

Эта логика понятна, если впервые зарегистрированный на территории РФ воспроизведенный препарат не вызывает вопросов с точки зрения имеющейся у него доказательной базы и сходства с оригинатором.

Однако, если «медицинский писатель» сталкивается с так называемыми нетипичными случаями, у него возникает масса вопросов. Какой препарат сравнения следует выбирать, если оригинальный препарат зарегистрирован в РФ позднее своего дженерика и их инструкции по медицинскому применению различаются? Как относиться к данным, полученным в клиническом испытании биоэквивалентности, где в качестве препарата сравнения пришлось выбрать зарегистрированный в РФ дженерик, собственные доклинические и клинические исследования которого отсутствуют, однако имеются указания на клинические исследования биоэквивалентности, проведенные за рубежом, но эти данные недоступны для широкой общественности? Как поступить разработчику, если в РФ зарегистрирован только дженерик, качество, эффективность и безопасность которого никогда не сравнивались с оригинальным препаратом или отличаются от него?

Так же как и многие другие, наши специалисты периодически задаются этими вопросами. Их типичность вынуждает нас следовать следующему алгоритму:

– по умолчанию в качестве референтного мы выбираем оригинальный лекарственный препарат, зарегистрированный на территории Российской Федерации и располагающий доказательной базой эф-

фективности и безопасности (вне зависимости от даты регистрации его дженериков);

– при отсутствии такого препарата выбираем впервые зарегистрированный в РФ воспроизведенный препарат из числа тех, качество, эффективность и безопасность которых доказаны в соответствии с оригинальным препаратом;

– при его отсутствии выбираем впервые зарегистрированный в РФ воспроизведенный препарат, качество, эффективность и безопасность которого доказана, но не в сравнении с оригинальным препаратом;

– в остальных случаях (например, если в РФ зарегистрирован только дженерик без какой-либо вменяемой доказательной базы) до выбора референтного препарата мы предпочитаем сделать письменный запрос регулятору и далее действуем в соответствии с полученным от него официальным ответом, ссылку на который приводим в пояснительной записке к протоколу клинического исследования.

Отметим другие немаловажные аспекты выбора препарата сравнения.

С точки зрения логики EMA [5] все препараты с немедленным высвобождением следует рассматривать как одну лекарственную форму. Это означает, что с точки зрения фармакокинетических особенностей таблетки и капсулы могут считаться сравнимыми лекарственными формами. И в качестве препарата сравнения необходимо выбирать ту лекарственную форму препарата-оригинатора, для которой были проведены доклинические и клинические исследования эффективности/безопасности. Например, если оригинальный препарат X фирмы Y выпускается в таблетках и капсулах и капсулы были зарегистрированы как биоэквивалентные таблетированной форме этого препарата, а таблетки регистрировались как оригинальный препарат, то для регистрации в РФ воспроизведенного препарата в капсулах в качестве препарата сравнения корректнее выбрать оригинальный препарат X в таблетках.

Также стоит обратить внимание на то, что при планировании клинического исследования биоэквивалентности допустимо использование в качестве референтного препарата, содержащего соли, простые и сложные эфиры, изомеры и их смеси, комплексы или производные изучаемого действующего вещества. В случае доказательства биоэквивалентности результаты такого клинического исследования могут быть также использованы в комплексе доказательной базы возможности взаимозаменяемости препаратов [6].

3.3. Определение исследуемых доз

Ниже перечислены общие принципы, которыми следует руководствоваться при выборе дозировки исследуемого препарата с линейной фармакокинетикой:

– если препарат нетоксичен/малотоксичен, рекомендуется назначать максимальную терапевтическую дозу;

– если препарат токсичен, возможно обоснованное назначение средней терапевтической дозы. Использование минимальной дозы не рекомендуется из-за эффекта прецизионности, она может быть использована только при подтверждённой высокой растворимости фармацевтической субстанции. При этом психотропные и антиВИЧ-препараты рекомендуется назначать в небольших/наименьших терапевтических дозах;

– если планируемый к применению аналитический метод малочувствителен, возможно обоснованное назначение препарата в сверхтерапевтических дозах, если препарат хорошо переносится здоровыми добровольцами и отсутствуют ограничения по степени абсорбции/растворимости действующего вещества в этой дозе.

Общие принципы, которыми следует руководствоваться при выборе дозировки *исследуемого препарата с нелинейной фармакокинетикой*:

– если в терапевтическом диапазоне степень увеличения AUC больше степени увеличения дозы, исследование биоэквивалентности обычно проводится с использованием наибольшей дозировки;

– для лекарственных препаратов, чья AUC в терапевтическом диапазоне увеличивается меньше, чем соответствующее увеличение дозы, исследование биоэквивалентности в большинстве случаев требуется проводить для наибольшей и для наименьшей дозировок (или для дозировки, фармакокинетика которой находится в линейном диапазоне), то есть в этом случае проводится два исследования биоэквивалентности;

– если нелинейность не обусловлена низкой растворимостью, а объясняется, например, насыщением переносчиков и соблюдаются условия применимости процедуры «биовейвер», а сравниваемые препараты не содержат вспомогательных веществ, влияющих на моторику желудочно-кишечного тракта или белки-переносчики, достаточно проведения исследования биоэквивалентности с наименьшей дозировкой (или дозировкой, фармакокинетика которой находится в линейном диапазоне).

Выбор других дозировок может быть обоснован низкой чувствительностью аналитического метода, когда проведение исследования с наименьшей дозировкой невозможно, или связан с соображениями безопасности или переносимости, когда применение наибольшей дозировки у здоровых добровольцев неприемлемо.

Для воспроизведенных препаратов, выпускаемых в нескольких дозировках, возможно упрощение клинической разработки. В частности, используется схема «биовейвер», согласно которой исследование биоэквивалентности проходит только с одной из дозировок, а остальные проходят только тест сравни-

тельной кинетики растворения (ТСКР) без клинической части [6, 7]. Схема «биовейвер» на территории РФ может использоваться только для регистрации дополнительных дозировок лекарственного препарата при условии, что для основной дозировки обязательно проводится исследование *in vivo*, тогда как мировая практика предполагает аргументированную возможность принципиальной замены исследования фармакокинетики *in vivo* на исследование ТСКР, по результатам которого возможна регистрация как основной, так и дополнительных дозировок препарата-дженерика [15].

Кроме того, для случаев, когда отличия по составу всех прочих доз укладываются в разность форм выпуска с минимальным и максимальным содержанием действующего вещества, достаточно данных, полученных в исследовании этих двух наиболее резко различающихся по составу дозировок. Указанный подход получил название «исследование крайних вариантов» или «bracketing».

В связи с тем, что возможность выбора сокращения числа исследуемых доз определяется не только характером фармакокинетики исследуемого препарата, но также рядом технологических критериев (сходство составов либо технологических процессов), для принятия такого решения «медицинскому писателю» требуется консультация специалиста по регистрации.

3.4. Выбор дизайна исследования

Дизайн КИ БЭ должен быть спланирован таким образом, чтобы влияние лекарственной формы и состава лекарственного препарата на фармакокинетические параметры можно было отличить от влияния других факторов. В связи с этим «медицинскому писателю» необходимо обратить внимание на следующие характеристики:

– *период полувыведения препарата* $T_{1/2}$: для всех препаратов с длительным периодом полувыведения (более 24 ч) лучше выбирать параллельный дизайн; для всех препаратов с $T_{1/2}$ менее 24 ч перекрестный дизайн применим, если препарат не является высокотоксичным;

– *внутрииндивидуальный коэффициент вариации (CV)*: если он превышает 30%, препарат считается высоковариабельным и для его исследования должен использоваться повторный дизайн (3- или 4-этапная перекрестная схема исследования);

– *токсичность препарата*: для высокотоксичных препаратов может быть неприменим стандартный дизайн с повторным назначением;

– *популяция, на которой проводится исследование*: во многих случаях исследование, проводимое в профильной популяции (с участием пациентов), неэтично делать с назначением однократной дозы; в таком случае возможны дизайны с оценкой фармакокинетики равновесной концентрации или с назначением повторных доз;

– *чувствительность аналитического метода*: в случае, если метод малочувствителен, а назначение сверхтерапевтических доз невозможно / не решает проблемы, возможен дизайн с многократным введением препарата и определением равновесной концентрации.

3.5. Временной диапазон отбора образцов крови

В общем случае необходимо не менее 3 точек для фазы первоначального возрастания кривой, не менее 3 точек вокруг предполагаемой C_{max} и не менее 5 точек на линейной фазе снижения.

Для препаратов с немедленным высвобождением (таблетки, капсулы, то есть все лекарственные формы с немодифицированным и непролонгированным высвобождением), фаза абсорбции которых не превышает 72 ч, вне зависимости от $T_{1/2}$ отбор образцов в течение более 72 ч не требуется и для оценки биодоступности используется показатель AUC_{0-72}.

Для всех прочих препаратов отбор проб должен проводиться до тех пор, пока AUC_{0-t} не составит более 80% от $AUC_{0-\infty}$. Обычно для этого достаточно 4 периодов полувыведения.

3.6. Размер выборки для проведения КИ БЭ

В исследование должны быть включены испытуемые в количестве, достаточном для обеспечения статистической значимости исследования. При этом мощность статистического теста для проверки биоэквивалентности должна поддерживаться на уровне не меньше 80% для выявления 20%-х различий между показателями сравнения. Число испытуемых определяется в первую очередь вариабельностью фармакокинетических параметров AUC и C_{max}. Основные данные, необходимые для расчета выборки, а именно вариабельность фармакокинетических параметров и объем выборок в предшествующих исследованиях, могут быть получены в ходе анализа литературы с результатами предшествующих исследований биоэквивалентности или фармакокинетических свойств изучаемых препаратов. Минимально возможное число субъектов для КИ БЭ, данные которых должны быть включены в итоговый анализ, составляет 12 человек [7], для большинства препаратов с коротким периодом полувыведения и небольшой вариабельностью фармакокинетических параметров это количество равно 18. С увеличением вариабельности минимально достаточный объем выборки значительно возрастает и может достигать 40 субъектов и более.

Одной из наиболее частых ошибок «медицинского писателя», из-за которой могут быть поставлены под угрозу сроки, бюджет и конечные итоги исследования, является ограничение числа включаемых в исследование субъектов минимально необходимым расчетным количеством. Для включения в протокол необходимо учесть риски преждевременного выбывания субъектов:

– не прошедших скрининговые обследования;

– прошедших скрининговые обследования, но исключенных из исследования после получения первой дозы препарата по разным причинам: развитие НЯ, нежелание или невозможность принять участие в очередном этапе, несоответствие показателей крови/мочи лабораторным нормам накануне следующего этапа и проч.

В анамнестически здоровой популяции количество лиц, не прошедших скрининг, с учетом имеющейся медицинской практики и узких критериев включения/невключения может составлять до 50%. Как правило, на последующих этапах число выбывающих здоровых добровольцев невелико и редко достигает 20%. В профильной популяции уровень выбывания на последующих этапах (при возможности использования перекрестного дизайна) может быть более значительным – до половины всех рандомизированных субъектов. «Медицинский писатель» должен учесть эти и другие «потери» субъектов и соответствующим образом увеличить предельный объем набора субъектов, отображаемый в протоколе, страховых документах и разрешении регулятора на проведение КИ БЭ. Кроме того, для обеспечения качества результатов при условии неравномерного набора добровольцев рекомендуется вводить в план дисперсионного анализа дополнительный фактор «группа», учитывающий принадлежность добровольца к той или иной группе одновременного дозирования в клиническом центре.

3.7. Параметры оценки биоэквивалентности исследуемых препаратов.

Для КИ БЭ с *однократным введением исследуемого препарата* определяют следующие фармакокинетические параметры:

– площадь под ФК-кривой от 0 до t AUC_{0-t};

– площадь под ФК-кривой от 0 до ∞ $AUC_{0-\infty}$;

– остаточную площадь;

– максимальную концентрацию C_{max};

– время достижения максимальной концентрации T_{max};

– скорость терминальной элиминации λz;

– время полувыведения препарата $T_{1/2}$;

– дополнительно определяются объем распределения лекарственного вещества (Vd), клиренс (Cl), среднее время пребывания в организме молекулы лекарственного вещества (MRT), константа скорости элиминации лекарственного вещества (k_{el}).

При этом, если отбор образцов продолжается в течение 72 ч и в 72 ч концентрация препарата все ещё определяется, описывать $AUC_{0-\infty}$ и остаточную площадь не обязательно, достаточно описать только AUC_{0-72}. При этом анализируют площадь под ФК-кривой от 0 до t AUC_{0-t} или площадь под ФК-кривой от 0 до 72 ч AUC_{0-72} соответственно и максимальную концентрацию C_{max}. Отношение данных параметров исследуемого препарата к референтному препарату должно лежать в интервале 80,00–125,00% при 90%-м доверительном интервале.

В исследовании *равновесной концентрации для ЛП с немедленным высвобождением* определяются следующие фармакокинетические параметры:

$AUC_{0-\tau}$ – равновесная AUC в интервале между очередным применением препарата;

C_{max}, ss – равновесная концентрация;

t_{max}, ss – время достижения равновесной концентрации.

При этом анализируемые параметры и допустимые границы признания БЭ следующие: анализируют равновесную AUC в интервале между очередным применением препарата $AUC_{0-\tau}$ и равновесную концентрацию C_{max},ss; отношение данных параметров исследуемого препарата к параметрам референтного препарата должно лежать в интервале 80,00–125,00% при 90%-м доверительном интервале. Статистическая оценка времени достижения максимальной концентрации T_{max} не требуется, достаточно приведения описательной статистики и сравнения средних дисперсионным или иными способами анализа.

Приведенные критерии применимы не во всех случаях. В частности, для препаратов, у которых терапевтическая и токсическая дозы достаточно близки, из соображения безопасности допустимый интервал для AUC принято сужать до 90,00–111,11%. Для препаратов, у которых различие AUC при многократном введении одному и тому же пациенту превышает 30% или характерна высокая вариабельность по C_{max}, в определенных случаях границы признания биоэквивалентности могут быть расширены (максимум до 69,84–143,19%) в зависимости от размера коэффициента вариации (CV) [7].

3.8. Описание биоаналитического метода

В протоколе клинического исследования необходимо привести ключевые параметры валидированного биоаналитического метода определения анализируемого вещества в биологических пробах, полученных у добровольцев. Следует указать название биоаналитического метода, наименование оборудования, описать метод детектирования исследуемого вещества и упомянуть ключевые экспериментальные условия, также необходимо охарактеризовать метод извлечения исследуемого вещества из биологических проб и оценить степень экстракции с использованием стандартных образцов. Кроме того, рекомендуется обосновать выбор внутреннего стандарта. Ключевыми характеристиками биоаналитического метода являются его специфичность, нижний предел количественного определения (он должен обеспечивать определение концентрации ≤5% от C_{max}), калибровочная кривая в исследуемом диапазоне концентраций, точ-

ность, воспроизводимость и стабильность [7]. В рамках описания биоаналитического метода в составе протокола допустимым является приведение данных только о краткосрочной стабильности, тогда как сведения о долгосрочной стабильности могут быть приведены в рамках итогового отчета об исследовании.

4. ДОРАБОТКА ПРОТОКОЛА И ОЦЕНКА ИТОГОВОГО ДОКУМЕНТА

Каждая компания разрабатывает свои методы оценки протоколов клинических исследований. По нашему мнению, качественный протокол КИ БЭ должен иметь следующие характеристики:

– структура протокола соответствует имеющимся стандартам (GCP, 61-ФЗ, стандартам организации);

– выбор исследуемой популяции, дизайна, препарата сравнения, режима дозирования, гипотезы и соответствующего им расчета выборки, а также итогового количества субъектов аргументированно обоснован, и это обоснование описано в протоколе;

– информация о маркировке и учете препаратов является полной и соответствует документам на исследуемый продукт;

– график отбора проб идентичен описанию визитов;

– критерии невключения, описанные риски и информация о препарате соответствуют друг другу;

– описание биоаналитического метода и предварительной пробоподготовки приведены полностью и соответствуют друг другу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка биоэквивалентности позволяет сделать обоснованное заключение о качестве дженерикового препарата и относится к ключевым составляющим процесса его вывода на рынок. Профессионально, грамотно и со знанием действующего законодательства спланированное КИ БЭ – необходимая составляющая его успешного проведения.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Н. Миронов. Основные направления деятельности и перспективы развития федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации // Ведомости НЦЭСМП. 2011. № 1. С. 4–10.
2. K.K. Midha, G. McKay. Bioequivalence; its history, practice, and future // AAPS J. 2009. № 11(4). P. 664–670.
3. D. Carpenter, D. Tobbell. Bioequivalence: the regulatory career of a pharmaceutical concept // Bull Hist Med. 2011. № 85(1). P. 93–131.
4. С.Ю. Марцевич, С.Н. Толпыгина. Оригинальные лекарственные препараты и их копии: проблема выбора // Артериальная гипертензия. Лекция для врачей. 2009. № 2(15). С. 48–51.
5. Guideline on the investigation of bioequivalence / EMA. 2010.
6. Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» с изменениями на 29 декабря 2015 года.
7. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. / ФГБУ НЦЭСМП. – М.: Гриф и К, 2014. С. 186–215.
8. Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза. Версия 2.0 от 02.02.2015.
9. ГОСТ Р 52379-2005. Надлежащая клиническая практика. – М.: Стандартинформ, 2006. 34 с.
10. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств. Методические рекомендации. – М. 2008.
11. Руководство по исследованию биоэквивалентности № CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr, утв. 20.01.2010 Комитетом по лекарственным препаратам для медицинского применения Европейского агентства по лекарственным средствам. [EMA. Guideline on the investigation of bioequivalence. 2010.]
12. Исследования биодоступности и биоэквивалентности лекарственных препаратов для внутреннего применения – общее рассмотрение (март 2003). [Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Considerations. FDA. 2003.]
13. Рекомендации по проведению исследований биоэквивалентности отдельных лекарственных препаратов (641 препарат). Июнь 2010. [Bioequivalence Recommendations for Specific Products, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, June 2010.]
14. А.В. Аркадьева, К.А. Яценко, В.С. Березина. Стратегия клинической разработки копий ранее зарегистрированных лекарственных препаратов. Часть 2. Качественный обзор литературных данных // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 3(12). С. 166–169.
15. Proposal to Waive in Vivo Bioequivalence Requirements for WHO Model List of Essential Medicines Immediate-release, Solid Oral Dosage Forms // WHO Technical Report Series. 2006. № 937. Annex 8.
16. А.В. Соколов, Ю.Б. Белоусов, С.К. Зырянов, Е.Б. Нечаева, С.Е. Милкина. Пути обеспечения качества и безопасности генерических лекарственных препаратов // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2012. № 1. С. 43–49.

БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ И ВЗАИМОЗАМЕНЯЕМОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Постановление Правительства Российской Федерации от 28.10.2015 № 1154

Дополнительным вариантом подтверждения биоэквивалентности лекарственных препаратов является проведение сравнительных исследований высвобождения действующего вещества из лекарственной формы *in vitro*.
Для проведения таких исследований широко применяются тестеры растворения.
Примером систем растворения являются оффлайн и онлайн тестеры

ERWEKA

Оффлайн система растворения

Полуавтоматические оффлайн системы ERWEKA в зависимости от комплектации позволяют проводить тест «Растворение», отбирать пробы, пополнять объем среды растворения, проводить автоматическое разведение образцов для их последующего анализа на спектрофотометре или жидкостном хроматографе

Онлайн система растворения

Автоматические онлайн системы ERWEKA поддерживают работу с УФ-Вид спектрофотометрами компании Perkin Elmer, SHIMADZU и Agilent Technologies.

Проба отбирается из тестирующего сосуда с помощью перистальтического насоса и направляется в проточную ячейку спектрофотометра для измерения в режиме онлайн. После анализа образец транспортируется обратно в тестирующий сосуд. Специализированное ПО Disso.net обрабатывает полученные данные и формирует подробные отчеты о тесте (ПО соответствует FDA 21 CFR Часть 11)

+7 (495) 252-00-98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)
8 800 333-42-24
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК ПО РОССИИ 24 ЧАСА)
www.erweka-rus.ru
info@erweka-rus.ru
Pharmcontract group of companies

УДК 615.038

1 – ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2

1 – Siberian State Medical University, 2, Moskovskiy tract, Tomsk, 634050, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail:
evgeny.s.kulikov@gmail.com
Тел.: 8 (3822) 901 101 доб. 1528

«МЕДИЦИНСКИЕ ПИСАТЕЛИ»: ВОЗРАСТАЮЩАЯ ПОТРЕБНОСТЬ ОТРАСЛИ

О.С. Кобякова[1], Е.С. Куликов[1]*, И.А. Деев[1], А.А. Дмитриев[1], Д.С. Тюфилин[1], И.Д. Пименов[1], Н.А. Табакаев[1]

Резюме. В условиях возрастающей потребности отечественной фармацевтической и медицинской отрасли в качественной разработке и апробации новых лекарственных средств и изделий медицинского назначения подготовка специалистов в области комплексного проектирования клинических исследований и испытаний является крайне актуальной задачей. В этой связи в данном исследовании был проведен анализ трудовых функций таких специалистов при помощи анкетирования потенциальных работодателей. На основании полученных в ходе анализа данных сформирован перечень задач профессиональной деятельности и/или трудовых функций «медицинских писателей», соответствующий потребностями компаний-работодателей.

Ключевые слова: «медицинские писатели», проектирование клинических исследований, образовательная программа, клинические исследования.

MEDICAL WRITERS: INCREASING NEED OF INDUSTRY

O.S. Kobyakova[1], E.S. Kulikov[1]*, I.A. Deev[1], A.A. Dmitriev[1], D.S. Tyufilin[1], I.D. Pimenov[1], N.A. Tabakaev[1]

Abstract. Due to increasing needs in new domestic medical drugs and devices, it's becoming very topical to train complex design specialists of clinical trials and medical devices tests. Because of it in this research we surveyed main skills and required competence for such specialists by questioning potential companies-employers. All data we obtained allowed us to make a list of professional activity tasks and/or job functions for «medical writers» that correlates with the needs of companies-employers.

Keywords: «medical writers», clinical trials design, educating program, clinical trials.

ВВЕДЕНИЕ

Целью программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» является переход фармацевтической и медицинской промышленности на инновационную модель развития, и для достижения цели и решения поставленных задач данного мероприятия в настоящее время ведется активная разработка отечественных лекарственных средств и изделий медицинского назначения [1]. Так, в 2014 г. российским компаниям-разработчикам Министерством здравоохранения Российской Федерации было выдано 142 разрешения на проведение клинических исследований лекарственных средств для медицинского применения и 141 разрешение на проведение исследований биоэквивалентности [2, 3].

Перед выдачей подобных разрешений комплект документов исследования проходит оценку со стороны экспертных организаций, при этом, согласно аналитическим данным, лишь 42,6% подаваемых компаниями заявок получают одобрение, что в подавляющем большинстве случаев связано с несоблюдением методологических аспектов планирования исследования либо низким качеством комплекта документов [4].

Сложившаяся ситуация объясняется острым дефицитом на отечественном рынке труда специалистов в области комплексного проектирования клинических исследований лекарственных средств и испытаний изделий медицинского назначения, что является существенным барьером для разработки и выхода на рынок новых отечественных лекарственных средств и изделий медицинского назначения.

Стоит отметить, что такие специалисты (за рубежом их называют «медицинские писатели») широко представлены на международном рынке труда: их наличие в штате обеспечивает крупным компаниям повышение эффективности реализации проектов, сокращение сроков проведения, получение качественных данных, максимальное соблюдение прав субъектов исследования, снижение объема требуемого финансирования для исследований и испытаний, а также более эффективное расходование средств.

Доказательством развитости данного вида услуг за рубежом является существо-

вание целых ассоциаций, работающих в данном направлении: EMWA (European Medical Writers Association, Европейская ассоциация медицинских писателей) и AMWA (American Medical Writers Association, Американская ассоциация медицинских писателей). Их основная цель – повышение качества услуг через обмен опытом, а также стандартизация деятельности специалистов в области комплексного проектирования клинических исследований лекарственных средств, испытаний изделий медицинского назначения [5, 6].

Аудит образовательных услуг в Российской Федерации продемонстрировал отсутствие программ по подготовке «медицинских писателей»: данная сфера представлена только тематическими семинарами, проводимыми ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и Росздравнадзором. При этом зарубежные программы по подготовке специалистов в области проектирования клинических исследований лекарственных средств и испытаний изделий медицинского назначения успешно реализуются на глобальном образовательном рынке: Гарвардская медицинская школа (Harvard Medical School), например, предлагает одну из ведущих программ в данном направлении – «Принципы и практика клинических исследований» (Principles and Practice of Clinical Research). Однако данный курс имеет высокую стоимость (полный курс стоит $5250), ограниченное количество слушателей в год и не учитывает регуляторных особенностей Российской Федерации при регистрации лекарственных средств для медицинского применения и изделий медицинского назначения [7].

Учитывая возрастающую потребность отрасли в таких специалистах, создание специализированной образовательной программы по их подготовке является крайне актуальной задачей, однако для разработки подобной программы, соответствующей потребностям отрасли, необходимо провести анализ требований, предъявляемых компаниями-работодателями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведен систематический анализ международных требований к проектированию клинических исследований лекарственных средств и испытаний изделий медицинского назначения с целью определения компетентностных характеристик «медицинских писателей», обязательных с позиции работодателей.

Для проведения опроса работодателей в медицинской и фармацевтической отрасли на предмет выявления предъявляемых ими требований к «медицинским писателям» была специально разработана анкета, содержащая обращение к респондентам и описание назначения опроса. В рамках блока «Информация о респонденте» респондент должен был указать место работы, должность, базовое образование, общий стаж и стаж работы в области клинических исследований, а также наличие в компании штатных специалистов по проектированию клинических исследований/испытаний.

В разделе «Требования к специалистам по комплексному проектированию клинических исследований лекарственных средств, испытаний изделий медицинского назначения и проведения клинических исследований и испытаний» респонденту было предложено оценить важность навыков (задач профессиональной деятельности и/или трудовых функций) «медицинских писателей» по шкале: от «абсолютно не важно» (0 баллов) до «исключительно важно» (10 баллов). Раздел содержал 14 сформированных навыков и 6 свободных навыков, не входящих в структуру анкеты, которые респондент мог предложить.

Навыки в анкете были сформированы и обоснованы на основании анализа международных требований (таблица 1) [8–10].

В заключительном разделе «Дополнительная информация» респонденту было предложено оценить потребность в специализированных образовательных программах по подготовке «медицинских писателей».

Разработанная анкета была размещена в сети Интернет по адресу: http://golosaonline.ru/specreqs; приглашение к заполнению анкеты было разослано по адресам потенциальных компаний-работодателей.

Для выявления дополнительных компетенций «медицинских писателей» и валидации данных нами был также проведен анализ вакансий на интернет-ресурсах рекрутинговых агентств и сайтах размещения вакансий. В ходе исследования были проанализированы вакансии со следующих сайтов:

- http://www.hh.ru
- http://www.superjob.ru
- http://www.sciencefiles.ru/vacancy/5
- http://career.ru
- https://career5.successfactors.eu/
- http://www.nextpharmajob.com
- http://www.costellomedical.com
- https://jobs.theguardian.com
- http://chk.tbe.taleo.net
- http://www.cwjobs.co.uk/
- http://www.pharmiweb.com
- http://www.novonordisk-jobs.com
- https://wct.silkroad.com
- https://abbvie.taleo.net
- http://evolutionmedicalcommunications.applytojob.com
- https://quintiles.taleo.net
- http://jobview.monster.com

Таблица 1.

Обоснование предлагаемых работодателю навыков на основании регламентирующих документов

Предлагаемый навык	Регламентирующий документ
Умение обосновать проведение и сформулировать гипотезу исследования/испытания	ICH*: E2A – E2F ICH: E8; FDA**: Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers Exploratory IND Studies
Умение сформировать статистический план исследования с расчетом размера выборки исследования	ICH: E9
Умение применять необходимые, адекватные и комплексные методологические решения (сравнительные курсы, технологии контроля погрешностей, параметры оценки эффективности и безопасности) в соответствии с задачами исследования/испытания	GCP***, п. 5.12.1; ICH: E10,17; FDA: Guidance for Industry Information Program on Clinical Trials for Serious or Life-Threatening Diseases and Conditions; FDA: Guidance for Industry Collection of Race and Ethnicity Data in Clinical Trials; FDA: Guidance for Industry Investigator esponsibilities – Protecting the Rights, Safety, and Welfare of Study Subjects
Способность разработать комплект документов для клинических исследований лекарственных средств для медицинского применения (I, II, III и IV фаз)	GCP, п. 6; 5.23.4; 5.23.2; 5.4.1; 5.5.1
Способность разработать комплект документов для клинических испытаний изделий медицинского назначения	GCP, п. 6; 5.23.4; 5.23.2; 5.4.1; 5.5.1
Умение провести статистический анализ результатов исследования	ICH: E3
Умение сформировать отчет по исследованию	GCP, п. 4.13; 5.22; ICH: E3; FDA: Guideline for Industry Structure and Content of Clinical Study Reports
Умение рассчитать стоимость проведения клинического исследования/испытания и провести анализ страховых рисков	GCP, п. 5.1.1; 5.8.1
Умение выполнять клиническое исследование/испытания в соответствии с основополагающими международными требованиями	GCP, п. 4.1.1; 4.1.2; 4.1.3
Умение применять проектный подход к организации клинического исследования/испытания в медицинской организации	GCP, п. 4.2.2; 4.2.3
Способность управлять качеством клинического исследования	GCP, п. 4.3.1; 4.5.1; 4.9.1; 4.9.1; 4.10.1; 5.1.3
Умение эффективно использовать ресурсы медицинской организации для проведения исследований/испытаний	GCP, п. 4.2.1
Умение формировать команду для проведения исследования/испытания	GCP, п. 4.2.3; 5.3
Умение управлять конфликтами	GCP, п. 4.2.3

Примечание: *ICH – International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Международная конференция по гармонизации технических требований для регистрации фармацевтических препаратов для использования человеком);

**FDA – Food and Drug Administration (Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств);

***GCP – Good Clinical Practice (надлежащая клиническая практика).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном нами опросе приняли участие 46 респондентов, представляющих различные компании отрасли: 10 российских фармацевтических компаний; 22 международные фармацевтические компании; 7 контрактно-исследовательских организаций; 3 организации-разработчика изделий медицинского назначения; 1 экспертная организация, а также 3 компании, не попадающие в данные категории. Необходимо отметить, что 37% респондентов занимают административные должности и, как следствие, принимают кадровые решения в рамках компании. Большинство респондентов имели базовое медицинское образование – 62%. Средний стаж работы в области клинических исследований составил 7,7±4,2 лет, при этом общий стаж респондентов в среднем составил 15,3±7,4 лет.

На вопрос: «Имеются ли в Вашей компании штатные специалисты по проектированию клинических исследований/испытаний?» – только 16 респондентов (34,8%) ответили отрицательно.

Результаты оценки работодателями важности предложенных навыков для специалистов по проектированию клинических исследований лекарственных средств, испытаний изделий медицинского назначения и проведения клинических исследований и испытаний представлены на рисунке 1. Как видно из рисунка, абсолютно все предлагаемые навыки были очень высоко оценены респондентами: 13 из 14 навыков были оценены на 8 и более баллов.

Рисунок 1. Оценка работодателями важности навыков в баллах

Также в рамках опроса респондентам было предложено сформулировать дополнительные рекомендации по навыкам, необходимым для «медицинских писателей». Дополнительные компетенции включали: умение контролировать параметры безопасности; осуществлять мониторинг данных; управлять скоростью набора пациентов/добровольцев; управлять бюджетом проекта в рамках утвержденной суммы; управлять регуляторными рисками при проведении клинических исследований; разработать стратегию регистрации лекарственного препарата на основе проводимого/проведенного клинического исследования; применять методы математического моделирования и фармакометрики; грамотно работать с научной информацией; работать в команде; умение работать в условиях стресса и недостатка времени и ресурсов, а также знание основ клинической фармакологии, особенно в области фармакокинетики, фармакодинамики, и особенностей проведения исследований в разных терапевтических областях.

Анализ предложений респондентов продемонстрировал, что сформулированные ими навы-

ки входят в состав навыков, предложенных к оценке. Однако с позиции необходимости знаний основ клинической фармакологии для выбора адекватного методологического решения при планировании исследования в отдельную компетенцию может быть вынесено «Владение знаниями в области фармакокинетики и фармакодинамики основных групп лекарственных препаратов».

В целях получения информации о требованиях к компетенциям на интернет-ресурсах рекрутинговых агентств и сайтах размещения вакансий было проанализировано 50 объявлений, из них 40 (80%) составили вакансии международных сайтов и агентств. Мы исключили из поиска критерии, совпадающие с предложенными нами в анкете, а также дополнительные критерии, обозначенные работодателями при ее заполнении. По результатам данного анализа, работодатели указывают на сайте следующие требования: осуществление подготовки научных материалов и презентаций – 48% объявлений; сбор и анализ информации медицинского характера – 38% объявлений; выступление на научных конференциях – 18% объявлений; знание иностранного (английского) языка Intermediate и выше – 80% (8 из 10 вакансий) в российских организациях; высшее медицинское образование – 76% объявлений; хороший навык написания научных статей, навык научного редактирования и коррекции – 74% объявлений; наличие ученой степени – 60% объявлений; компьютерная грамотность (MS Office; MS Project; Power Point, Statistica и т.д.) – 60% объявлений; внимательность к деталям – 60% объявлений; аналитический склад ума – 10% объявлений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках данного исследования был проведен анализ предметной области и задач профессиональной деятельности в области комплексного проектирования клинических исследований лекарственных средств, испытаний изделий медицинского назначения и проведения клинических исследований и испытаний. На основании полученных в ходе анализа данных сформирован перечень задач профессиональной деятельности и/или трудовых функций «медицинских писателей», соответствующий потребностям компаний-работодателей.

Стоит отметить, что в предложенной анкете на вопрос: «Существует ли в России, на Ваш взгляд, потребность в специализированных образовательных программах по подготовке специалистов по комплексному проектированию клинических исследований лекарственных средств и испытаний изделий медицинского назначения?» – отрицательно ответил («Такой потребности нет») только один респондент, в то время как 97,8% (n=45) респондентов отметили потребность в программе, из них 82,2% (n=37) отметили отсутствие аналогичных программ на рынке образования. Данный результат подтверждает указанную ранее актуальность разработки образовательной программы, а полученные в ходе анализа данные будут использованы для формирования профессиональных компетенций её выпускника, что обеспечит разработку образовательной программы, максимально отвечающей потребностям отрасли. Общий анализ информации о требованиях к компетенциям на интернет-ресурсах рекрутинговых агентств и сайтах размещения вакансий подтвердил актуальность сформированных и оцененных в ходе опроса работодателями навыков, а учитывая требования работодателей (в 76% объявлений) о наличии высшего медицинского или фармацевтического образования, подобная программа должна быть разработана в рамках дополнительного последипломного образования и включать элементы практико-ориентированного обучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральная целевая программа «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу». Постановление Правительства Российской Федерации от 17 февраля 2011 г. № 91.
2. Информационно-аналитический бюллетень № 10. – М.: Ассоциация организаций по клиническим исследованиям, 2015. 36 с.
3. Clinical Trials In Russia Orange Paper. Year 2014. – Synergy Research Gtoup, 2015. 12 с.
4. Информационно-аналитический бюллетень № 11. – М.: Ассоциация организаций по клиническим исследованиям, 2015. 37 с.
5. European Medical Writers Association: About Us. URL: http://www.emwa.org/EMWA/About_Us/About_EMWA/ (дата обращения 10.03.2016).
6. Americal Medical Writers Association: About Us. URL: http://www.amwa.org/About_Us/ (дата обращения 10.03.2016).
7. Principles and Practice of Clinical Research. Harvard Medical School. URL: http://ppcr.org/ (дата обращения 10.03.2016).
8. ГОСТ Р 52379-2005. Надлежащая клиническая практика (GCP). – М.: Стандартинформ, 2006. 34 с.
9. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. 2010. Guidance Documents. URL: http://www.fda.gov/regulatoryinformation/guidances/default.htm (дата обращения 10.03.2016).
10. The International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guidance for Industry – Consolidated Guidance. ICH. 2006. 63 с.

15–16 июня 2016г., Москва,
гостиница «Холидей Инн Москва Сокольники»

ЛекПомощь
Лекарственная Помощь

II КОНФЕРЕНЦИЯ

«СОВРЕМЕННОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ» ЛЕКПОМОЩЬ 2016

В ПРОГРАММЕ КОНФЕРЕНЦИИ

Пленарное заседание

Секционные заседания

- Проблемы обеспечения пациентов дорогостоящими и инновационными лекарственными средствами
- Региональные программы лекарственного обеспечения
- Лекарственное обеспечение отдельных нозологий
- Референтное ценообразование на лекарственные средства
- Совершенствование требований к представлению фармакоэкономических данных для включения лекарственных средств в перечни

Панельная дискуссия

- Возможность внедрения новых моделей лекарственного страхования

НА КОНФЕРЕНЦИИ ПЛАНИРУЮТСЯ ВЫСТУПЛЕНИЯ

Руководителей профильных департаментов Минздрава России, представителей ГД РФ, ФФОМС, ведущих экспертов отраслевых НИИ и ВУЗов и пр.

К УЧАСТИЮ В РАБОТЕ КОНФЕРЕНЦИИ ПРИГЛАШЕНЫ

Руководители профильных департаментов МЗ РФ, руководители и ведущие специалисты органов исполнительной власти в сфере охраны здоровья субъектов РФ, главные внештатные специалисты, руководители и ведущие специалисты ФФОМС и ТФОМС, сотрудники предприятий производителей лекарственных средств, представители профильных профессиональных ассоциаций, представители пациентских сообществ и др.

Дополнительная информация на сайте www.fru.ru
и по тел.: (495) 359-06-42, 359-53-38; E-mail: fru@fru.ru; Skype: fru2012

Обращаем Ваше внимание, что Оргкомитет конференции оставляет за собой право вносить изменения в программу и состав докладчиков

УДК 615.11, 615.03

1 – ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2

1 – Siberian State Medical University, 2, Moskovskiy tract, Tomsk, 634050, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail:
evgeny.s.kulikov@gmail.com
Тел.: 8 (3822) 901 101 доб. 1528

АНАЛИЗ МЕЖДУНАРОДНЫХ ТРЕБОВАНИЙ К КОМПЛЕКСНОМУ ПРОЕКТИРОВАНИЮ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

О.С. Кобякова[1], Е.С. Куликов[1]*, И.А. Деев[1], А.А. Дмитриев[1], Н.А. Табакаев[1], И.Д. Пименов[1], Д.С. Тюфилин[1]

Резюме. При проведении анализа международных требований к комплексному проектированию клинических исследований лекарственных средств было установлено, что глобальным документом являются стандарты ICH; на национальном уровне в Российской Федерации данным стандартом является ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», текст которого идентичен руководству по надлежащей клинической практике (Consolidated Guideline for Good Clinical Practice). Детализированные международные требования, регламентирующие различные аспекты проведения клинических исследований, разрабатываются глобальными регуляторами: FDA и EMA. В настоящее время в Российской Федерации отсутствуют локальные нормативные документы, регламентирующие проектирование клинических исследований лекарственных средств, в этой связи с большой долей вероятности можно говорить о необходимости разработки национальных документов, регламентирующих различные аспекты планирования клинических исследований, и синхронизации данной нормативной базы с международными документами с целью обеспечения эффективного выхода отечественных лекарственных средств на зарубежные рынки.

Ключевые слова: проектирование клинических исследований, гармонизация, нормативные требования, ICH, FDA, EMA.

ANALYSIS OF INTERNATIONAL REQUIREMENTS FOR DESIGNING OF CLINICAL TRIALS

O.S. Kobyakova[1], E.S. Kulikov[1]*, I.A. Deev[1], A.A. Dmitriev[1], N.A. Tabakaev[1], I.D. Pimenov[1], D.S. Tyufilin[1]

Abstract. During the analysis of international requirements for designing of clinical trials we found that principal documents are provided by ICH. The main standard in Russian Federation is the National State Standard "Good Clinical Practice", that is similar to ICH GCP. Thorough industrial standards are issued by global regulators: FDA and EMA. Currently there is absence of local regulatory documents on designing clinical trials in Russia, thus there might be a distinct need in development of national regulatory documents and its harmonization with international standards for pharmaceutical industry.

Keywords: clinical trials design, harmonization, regulatory requirements, ICH, FDA, EMA.

ВВЕДЕНИЕ

Медицина является стремительно развивающейся отраслью науки, за последние два десятилетия концепции патогенеза и терапии многих заболеваний были кардинально пересмотрены международным сообществом. Подобные факты свидетельствуют об острой необходимости разработки новых методов диагностики и лечения заболеваний, следовательно, в первую очередь необходимо качественное проектирование и проведение клинических исследований. Так, в период с 2005 по 2015 годы количество клинических исследований, начатых по всему миру, по данным портала ClinicalTrials.gov, увеличилось почти в пятнадцать раз в сравнении с предшествующей декадой: с начала 1995 до начала 2005 года было запущено 12000 клинических исследований, а в период с 2005 по 2015 годы – уже более 170000 [1, 2].

Наряду с этим наблюдается устойчивая тенденция к усложнению клинических исследований, ужесточению требований заказчиков и, как следствие, падению эффективности проведения клинического исследования / испытания как проекта. В период с 1999 по 2005 год количество процедур в рамках одного клинического исследования выросло с 96 до 158 (+65%), средняя длительность проекта выросла с 460 до 680 дней (+70%), при этом уровень набора пациентов в исследование упал с 75 до 59% (–21%), а число участников, завершивших исследование, снизилось с 69 до 48% (–30%) [3].

С целью внесения ясности в вопрос локального и международного регулирования проектирования и проведения клинических исследований лекарственных средств мы провели анализ существующих в Российской Федерации и мире документов, регламентирующих данный вид деятельности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведен комплексный анализ 40 международных и региональных официальных руководств и документов, регламентирующих планирование и проведение клинических исследований безопасности и эффективности лекарственных средств, размещенных в открытых источниках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В Российской Федерации основным документом, регламентирующим принципы организации и проведения клинических исследований с участием человека в качестве субъекта, является национальный стандарт ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» [4], который идентичен руководству по надлежащей клинической практике (Consolidated Guideline for Good Clinical Practice, GCP) Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических продуктов, предназначенных для применения человеком (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH) [5].

Данные правила являются результатом стремления стран стандартизировать процесс клинических исследований с целью увеличения уровня их безопасности, повышения качества, сокращения сроков проведения, получения качественных данных и обеспечения максимального соблюдения прав субъектов исследования.

Необходимо отметить, что GCP является одним из разделов части, посвященной безопасности (Efficacy), руководств ICH.

В других разделах руководств ICH также содержатся требования к проектированию и проведению клинических исследований лекарственных средств (таблица 1).

Таким образом, в рамках руководств ICH описываются общие подходы к планированию и организации клинических исследований. Более детализированные руководства, обеспечивающие стандартизацию методологии планирования и проведения клинических исследований, а также взаимное признание результатов таких проектов, разрабатываются регуляторными органами.

Основными глобальными регуляторными органами в области проектирования и проведения клинических исследований в мире являются: Food and Drug Administration (Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, FDA, США, основано в 1906 г.) и European Medicines Agency (Европейское агентство по лекарственным средствам, EMA, Европа, основано в 1995 г.). Данные ведомства постоянно работают в направлении повышения качества проведения клинических исследований и стандартизации подходов к их проведению, а также контролю качества клинических исследований. Так, в июле 2009 года двумя регуляторами был утвержден документ «EMA-FDA GCP initiative», целью которого является проведение периодических проверок и обмен информацией. В рамках проекта в период между сентябрем 2009 г. и мартом 2011 г. совместно были проведены 13 инспекций и обмен 250 документами по 54 различным лекарственным препаратам.

Этот проект подтверждает тенденцию к глобализации и стандартизации подходов в области проектирования и организации клинических исследований.

Европейское агентство по лекарственным средствам (EMA) и Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) разрабатывают и публикуют на своем сайте в открытом доступе руководства для индустрии (Guidance for Industry), регламентирующие различные аспекты проведения клинических исследований, которые являются стандартом для отрасли. В рамках данной работы мы проанализировали руководства для индустрии применительно к планированию и проведению клинических исследований (таблица 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при проведении анализа международных требований к комплексному проектированию клинических исследований лекарственных средств очевидно, что глобальными документами являются стандарты ICH (Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических продуктов, предназначенных для применения человеком; International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use), преимущественно раздел Efficacy: E6 Good Clinical Practice (надлежащая клиническая практика, GCP).

На национальном уровне в Российской Федерации данным стандартом является ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», текст которого идентичен ICH GCP, в то время как детализированные международные требования, регламентирующие различные аспекты проведения клинических исследований, разрабатываются глобальными регуляторами (FDA, EMA) и являются стандартом для отрасли.

Таблица 1.

Руководства ICH, содержащие требования к проектированию и проведению клинических исследований лекарственных средств

Руководство	Краткое описание, содержание
Efficacy Guidelines	
Pharmacovigilance. Clinical safety data management: Definitions and standards for expedited reporting E2A [6]	Описание определений и стандартов управления клинической безопасностью в рамках исследований
Clinical Study Reports. Structure and content of clinical study reports E3 [7]	Требования к структуре и содержанию отчета по исследованию
Dose-Response Studies. Dose-response information to support drug registration E4 [8]	Описание особенностей проведения и регистрации исследований, оценивающих соотношение «доза – ответ»
Clinical Trials in Geriatric Population. Studies in support of special populations: geriatrics E7 [9]	Особенности проведения исследований с участием гериатрической популяции в качестве субъекта
General considerations for clinical trials E8 [10]	Основные подходы к организации клинического исследования
Statistical Principles for Clinical Trials E9 [11]	Принципы и подходы к статистическому планированию и обработке результатов клинического исследования
Choice of Control Group in Clinical Trials E10 [12]	Описание требований к выбору контрольной группы при планировании и проведении клинического исследования
Clinical Trials in Pediatric Population Clinical investigation of medicinal products in the pediatric population E11 [13]	Особенности проведения исследований с участием педиатрической популяции в качестве субъекта
Clinical Evaluation by Therapeutic Category Principles for clinical evaluation of new antihypertensive drugs E12A [14]	Оценка клинической эффективности в зависимости от терапевтической категории исследуемого препарата
Definitions in Pharmacogenetics / Pharmacogenomics. Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories E15 [15]	Содержит определения генетических биомаркеров, фармакогеномики, фармакогенетики, генетических данных и категории кодирования образцов
General principle on planning/designing Multi-Regional Clinical Trials E17 [16]	Требования к планированию и проведению многоцентровых клинических исследований
Multidisciplinary Guidelines	
M1 MedDRA Terminology. Medical Dictionary for Regulatory Activities MedDRA [17]	Содержит описание MedDRA – словаря кодов побочных реакций для обозначения в отчетах по безопасности лекарственных средств
Guidance on nonclinical safety studies for the Conduct of human clinical trials and marketing authorization For pharmaceuticals M3(R2) [18]	Содержит требования к доклиническим исследованиям безопасности для проведения клинических исследований с участием человека в качестве субъекта

Необходимо отметить, что в настоящее время в Российской Федерации отсутствуют локальные нормативные документы, регламентирующие проектирование клинических исследований лекарственных средств. При проектировании исследовательских проектов рекомендованы к применению руководства, разрабатываемые ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России: «Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств» (две части), «Руководство по экспертизе лекарственных средств» (том I и том II) и другие [44-49].

В этой связи с большой долей вероятности можно говорить о необходимости разработки национальных документов, регламентирующих различные аспекты планирования клинических исследований, и синхронизации данной нормативной базы с международными документами с целью обеспечения эффективного выхода отечественных лекарственных средств на зарубежные рынки.

ЛИТЕРАТУРА

1. ClinicalTrials.gov database / U.S. National Institute of Health, National Library of Medicine, 2016. URL: https://clinicaltrials.gov/ct2/results/details?rcv_s=01%2F01%2F1995&rcv_e=01%2F01%2F2005 (дата обращения 30.03.2016).

Таблица 2.

**Руководства для индустрии FDA и EMA,
содержащие требования к проектированию и проведению клинических исследований лекарственных средств**

Руководство	Краткое описание, содержание
Guideline for Industry: Structure and Content of Clinical Study Reports [19]	Содержит описание требований к структуре и содержанию отчета по исследованию
Guidance for Industry: Part 11, Electronic Records; Electronic Signatures — Scope and Application Guidance for Industry Electronic Source Data in Clinical Investigations [20]	Руководство по применению компьютерных электронных индивидуальных регистрационных карт, записей и подписей в клинических исследованиях
Guidance for Industry: Computerized Systems Used in Clinical Investigations [21]	Применение компьютерных инструментов в клинических исследованиях
Guidance for Industry: Development and Use of Risk Minimization Action Plans [22]	Руководство по разработке плана действий и алгоритмов снижения рисков при проведении клинических исследований и испытаний, что повышает качество и безопасность проектов
Guidance for Industry: Information Program on Clinical Trials for Serious or Life-Threatening Diseases and Conditions [23]	Планирование клинических исследований по жизнеугрожающим заболеваниям и состояниям
Guidance for Industry and FDA Staff: FDA Acceptance of Foreign Clinical Studies Not Conducted Under an IND Frequently Asked Questions [24]	Инструментарий содержит руководство для индустрии по признанию FDA результатов клинических исследований, выполненных на территории других стран
Guidance for Industry: Good Pharmacovigilance Practices and Pharmacoepidemiologic Assessment [25]	Руководство по надлежащей фармакологической и фармакоэпидемиологической практике
Guidance for Industry: Collection of Race and Ethnicity Data in Clinical Trials [26]	Регламентирует сбор и регистрацию данных об этнической принадлежности субъектов клинических исследований и испытаний
Guidance for Industry and Investigators: Safety Reporting Requirements for INDs and BA/BE Studies [27]	Руководство по разработке плана действий и алгоритмов снижения рисков при проведении клинических исследований и испытаний, что повышает качество и безопасность проектов
Guidance for Industry: Pharmacogenomic Data Submissions [28]	Содержит руководство по использованию данных фармакогеномики
Guidance for Industry: Oversight of Clinical Investigations – A Risk-Based Approach to Monitoring [29]	Стандарты мониторинга клинического исследования, основанного на рисках
Guidance for Clinical Investigators, Industry, and FDA Staff: Financial Disclosure by Clinical Investigators [30]	Регулирует процесс заявления и документирования финансовой незаинтересованности исследователей
Guidance for Sponsors, Clinical Investigators, and IRBs: Data Retention When Subjects Withdraw from FDA-Regulated Clinical Trials [31]	Руководство по сбору данных от субъектов исследования на этапе раннего выбывания из исследования
Guidance for Sponsors, Investigators, and Institutional Review Boards [32]	Стандарты организации и функционирования независимых экспертных советов на базе медицинских организаций
Guidance for Clinical Investigators, Sponsors, and IRBs: Adverse Event Reporting to IRBs — Improving Human Subject Protection [33]	Содержит руководство по требованиям к репортированию нежелательных явлений и реакций в рамках клинического исследования для обеспечения соблюдения прав субъектов исследования
Guidance for Clinical Trial Sponsors – Establishment and Operation of Clinical Trial Data Monitoring Committees [34]	Руководство по созданию и функционированию комитетов по мониторингу данных
Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers: Exploratory IND Studies [35]	Стандарты организации поисковых исследований
Guidance on Informed Consent for In Vitro Diagnostic Device Studies Using Leftover Human Specimens that are Not Individually Identifiable [36]	Регулирует формирование информированного согласия для исследований *in vitro* диагностикумов с использованием неидентифицированных остаточных образцов крови

Продолжение таблицы 2

Руководство	Краткое описание, содержание
Guidance for Industry: Food-Effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies [37]	Руководство по проведению исследований биодоступности и биоэквивалентности
Guidance for Industry: Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims [38]	Стандарт применения параметров исходов, репортируемых со стороны пациентов
Guidance for Industry: Investigator Responsibilities – Protecting the Rights, Safety, and Welfare of Study Subjects [39]	Описывает ответственность исследователей за обеспечение защиты прав, безопасности и благополучия субъектов исследования
Guidance for Industry: Premarketing Risk Assessment [40]	Содержит руководство по оценке рисков на этапе, предшествующем выходу на рынок
EMA: Clinical efficacy and safety guidelines [41]	Обеспечивает основу для гармонизации требований к эффективности и безопасности в странах ЕС
EMA: Good pharmacovigilance practices [42]	Документ представляет собой набор мер, обеспечивающих надлежащее проведение фармаконадзора в Европейском союзе (ЕС)
EMA: Clinical Trial Regulation [43]	Руководство направлено на создание условий, благоприятных для проведения клинических испытаний в Европейском союзе (ЕС), с высокими стандартами безопасности для участников

2. ClinicalTrials.gov database / U.S. National Institute of Health, National Library of Medicine, 2016. URL: https://clinicaltrials.gov/ct2/results/details?rcv_s=01%2F01%2F2005&rcv_e=01%2F01%2F2015 (дата обращения 30.03.2016).
3. D. Dogramatzis. Healthcare Biotechnology: A Practical Guide. – Boca Raton: CRC Press, 2011. 689 p.
4. ГОСТ Р 52379-2005. Надлежащая клиническая практика. Утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 сентября 2005 г. № 232-ст.
5. Guideline for Good Clinical Practice. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf (дата обращения 01.03.2016).
6. Pharmacovigilance. Clinical safety data management: Definitions and standards for expedited reporting E2A. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E2A/Step4/E2A_Guideline.pdf (дата обращения 01.03.2016).
7. Clinical Study Reports. Structure and content of clinical study reports E3. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E3/E3_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
8. Dose-Response Studies. Dose-response information to support drug registration E4. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E4/Step4/E4_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
9. Clinical Trials in Geriatric Population. Studies in support of special populations: geriatrics E7. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E7/Step4/E7_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
10. General Considerations for Clinical Trials E8. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E8/Step4/E8_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
11. Statistical Principles for Clinical Trials E9. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/

E9/Step4/E9_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).

12. Choice of Control Group in Clinical Trials E10. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E10/Step4/E10_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
13. Clinical Trials in Pediatric Population. Clinical investigation of medicinal products in the pediatric population E11. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E11/Step4/E11_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
14. Clinical Evaluation by Therapeutic Category Principles for clinical evaluation of new antihypertensive drugs E12A. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E12/Step4/E12_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
15. Definitions in Pharmacogenetics / Pharmacogenomics. Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories E15. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E15/Step4/E15_Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
16. General principle on planning/designing Multi-Regional Clinical Trials E17. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E17/E17_Final_Concept_Paper_July_2014.pdf (дата обращения 10.03.2016).
17. MedDRA® Term Selection:Points to Consider. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.meddra.org/sites/default/files/guidance/file/9491-1900_termselptc_r4_11_mar2016.pdf (дата обращения 10.03.2016).
18. Guidance on nonclinical safety studies for the Conduct of human clinical trials and marketing authorization For pharmaceuticals M3(R2). International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M3_R2/Step4/M3_R2__Guideline.pdf (дата обращения 10.03.2016).
19. Guideline for Industry: Structure and Content of Clinical Study Reports. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1996.
20. Guidance for Industry: Part 11, Electronic Records; Electronic Signatures – Scope and Application Guidance for Industry Electronic Source Data in Clinical Investigations. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2003.
21. Guidance for Industry: Computerized Systems Used in Clinical Investigations. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2007.
22. Guidance for Industry: Development and Use of Risk Minimization Action Plans. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2005.
23. Guidance for Industry: Information Program on Clinical Trials for Serious or Life-Threatening Diseases and Conditions. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2004.
24. Guidance for Industry and FDA Staff: FDA Acceptance of Foreign Clinical Studies Not Conducted Under an IND Frequently Asked Questions. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2012.
25. Guidance for Industry: Good Pharmacovigilance Practices and Pharmacoepidemiologic Assessment. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2005.
26. Guidance for Industry: Collection of Race and Ethnicity Data in Clinical Trials. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2005.
27. Guidance for Industry and Investigators: Safety Reporting Requirements for INDs and BA/BE Studies. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2012.

28. Guidance for Industry: Pharmacogenomic Data Submissions. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2005.
29. Guidance for Industry: Oversight of Clinical Investigations — A Risk-Based Approach to Monitoring. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2013.
30. Guidance for Clinical Investigators, Industry, and FDA Staff: Financial Disclosure by Clinical Investigators. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2013.
31. Guidance for Sponsors, Clinical Investigators, and IRBs: Data Retention When Subjects Withdraw from FDA-Regulated Clinical Trials. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2008.
32. Guidance for Sponsors, Investigators, and Institutional Review Boards. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2006.
33. Guidance for Clinical Investigators, Sponsors, and IRBs: Adverse Event Reporting to IRBs – Improving Human Subject Protection. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2009.
34. Guidance for Clinical Trial Sponsors – Establishment and Operation of Clinical Trial Data Monitoring Committees. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2006.
35. Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers: Exploratory IND Studies. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2006.
36. Guidance on Informed Consent for In Vitro Diagnostic Device Studies Using Leftover Human Specimens that are Not Individually Identifiable. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2006.
37. Guidance for Industry: Food-Effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2002.
38. Guidance for Industry: Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2009.
39. Guidance for Industry: Investigator Responsibilities – Protecting the Rights, Safety, and Welfare of Study Subjects. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2009.
40. Guidance for Industry: Premarketing Risk Assessment. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2005.
41. EMA: Clinical efficacy and safety guidelines. European Medicines Agency. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000085.jsp (дата обращения 05.04.2016).
42. EMA: Good pharmacovigilance practices. European Medicines Agency. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp#section4 (дата обращения 05.04.2016).
43. EMA: Clinical Trial Regulation. European Medicines Agency. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000629.jsp&mid=WC0b01ac05808768df (дата обращения 05.04.2016).
44. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
45. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2 / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. 536 с.
46. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. 244 с.
47. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2 / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. 212 с.
48. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. – М.: Гриф и К, 2013. 328 с.
49. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том II. – М.: Гриф и К, 2013. 280 с.

Agilent Technologies

ГХ-МСД Agilent 5977B

ИСТОЧНИК НОВЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ

Увеличение чувствительности в 10 раз

Инструментальный предел обнаружения (IDL) – 1.5 фг благодаря новому источнику ионизации

Уменьшение необходимого объема пробы в 10 раз

Экологичный безмасляный (сухой) вакуумный насос IDP-3

Интеллектуальная технология оптимизирует совместную работу ГХ и МС

Средства интегрированного программного обеспечения упрощают разработку методов

+7 (495) 252–00–98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)

8 800 333–42–24
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК ПО РОССИИ 24 ЧАСА)

www.phct.ru

info@phct.ru

Pharmcontract group of companies

Agilent Technologies
Authorised Distributor

УДК 612.07

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАПЕЦИТАБИНА И ЕГО АКТИВНОГО МЕТАБОЛИТА 5-ФТОРУРАЦИЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

Е.С. Мельников[1], И.Е. Шохин[2]*, А.А. Аксёнов[1], Г.В. Адамов[1], А.Н. Конюшкова[3]

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

2 – ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, 143442, Россия, Московская обл., Красногорский район, п/о Отрадное, пос. Светлые горы, владение 1

3 – ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, 8

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – FSBIS SCBMT FMBA, 1, pos. Svetlye gory, p/o Otradnoe, Krasnogorskiy r-n, Moscow region, 143442, Russia

3 – Scientific Center for Expertise of Medicinal Products, 8, Petrovsky blv., Moscow, 127051, Russia

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

Резюме. Разработана методика количественного определения капецитабина и 5-фторурацила в плазме крови человека. Пробоподготовка проводилась методом осаждения белков метанолом. Количественное определение проводилось методом ВЭЖХ с использованием масс-селективного детектора с тройным квадруполем. Разработанная методика была валидирована по следующим параметрам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность, предел количественного определения, перенос пробы, стабильность образцов. Аналитический диапазон методики составил 10,0–20000,0 нг/мл для капецитабина и 10,0–400,0 нг/мл для 5-фторурацила. Разработанная методика может быть использована для исследований биоэквивалентности препаратов капецитабина.

Ключевые слова: капецитабин, 5-фторурацил, ВЭЖХ-МС/МС.

DETERMINATION OF CAPECITABINE AND ITS ACTIVE METABOLITE 5-FLUOROURACIL IN BLOOD PLASMA BY HPLC-MS/MS

E.S. Melnikov[1], I.E. Shohin[2]* A.A. Aksenov[1], G.V. Adamov[1], A.N. Konyushkova[3]

Abstract. A method for quantification of capecitabine and 5-fluorouracil in human plasma was developed. The sample preparation was carried out by protein precipitation with methanol. The quantitative determination was performed by HPLC with a triple quadrupole mass-detector. The method was validated in terms of selectivity, calibration curve, accuracy, precision, lower limit of quantification, and stability. The analytical range was 10.0–20000.0 ng/mL for capecitabine and 10.0–400.0 ng/ml for 5-fluorouracil. The developed method may be used for bioequivalence studies of capecitabine drug products.

Keywords: capecitabine, 5-fluorouracil, HPLC-MS/MS.

ВВЕДЕНИЕ

Капецитабин – противоопухолевое лекарственное средство из группы антиметаболитов, являющееся производным фторпиримидина карбамата. Препараты капецитабина применяется для лечения рака молочной железы, ободочной кишки и других видов рака.

Капецитабин включен в перечень ЖНВЛП [1], и, учитывая курс на импортозамещение для важнейших препаратов [2], актуальной задачей является разработка биоаналитических методик, применимых для проведения исследований биоэквивалентности (БЭ) воспроизведённых лекарственных препаратов капецитабина.

Капецитабин является пролекарством, его активный метаболит 5-фторурацил образуется в ходе нескольких ферментативных реакций (рисунок 1). Ферменты, участвующие в метаболизме капецитабина, представлены как в печени, так и в опухолевых тканях [3], что приводит к значительным различиям в концентрациях капецитабина и 5-фторурацила у здоровых добровольцев и у онкобольных. Помимо этого, имеет место полиморфизм ферментов, задействованных в метаболизме капецитабина [4], определяя значительную вариабельность фармакокинетических параметров у отдельных субъектов.

Таким образом, при определении концентраций капецитабина и 5-фторурацила в плазме крови требуется учитывать особенности фармакокинетики и разрабатывать методики, имеющие широкий аналитический диапазон.

Являясь по своей химической структуре уретаном и N-гликозидом, капецитабин неустойчив в кислой среде и может гидролизоваться до 5-фторурацила *in vitro*, что необходимо учитывать при выборе метода пробоподготовки образцов плазмы крови.

Разработано множество методик определения капецитабина и 5-фторурацила в плазме крови человека (таблица 1). Основным аналитическим методом является высокоэффективная жидкостная

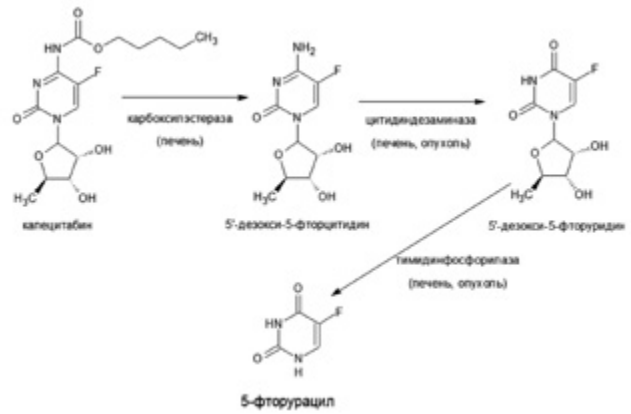


Рисунок 1. **Метаболизм капецитабина**

хроматография (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым (УФ) одноквадрупольным масс-спектрометрическим (МС) и тандемным масс-спектрометрическим детектированием (МС/МС). Применяются такие методы пробоподготовки, как жидкость-жидкостная (ЖЖЭ) и твердофазная экстракция (ТФЭ), а также осаждение белков плазмы органическими растворителями.

Таблица 1.

Биоаналитические методики определения капецитабина и 5-фторурацила

Аналитический метод	Пробоподготовка	Аналитический диапазон, мкг/мл		Ссылка
		Капецитабин	5-фторурацил	
ВЭЖХ-УФ	ЖЖЭ	0,025–10	0,025–10	[5]
ВЭЖХ-УФ	ЖЖЭ	0,05–4,39	0,05–4,39	[6]
ВЭЖХ-УФ	ЖЖЭ	0,1–10	0,05–5	[7]
ВЭЖХ-МС	ТФЭ	0,05–10,0	0,05–25,0	[8]
ВЭЖХ-МС/МС	Осаждение белков, метанол/ ацетонитрил (1:1)	0,05–6,0	0,05–6,0	[9]
ВЭЖХ-МС/МС	Осаждение белков ацетонитрилом	0,01–0,5	0,1–5,0	[10]
ВЭЖХ-МС	Осаждение белков ацетонитрилом	0,1–10	0,05–5	[11]

Целью настоящего исследования является разработка методики определения капецитабина и его активного метаболита 5-фторурацила в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС, которая была бы пригодна не только для терапевтического мониторинга и ФК-исследований на пациентах, но и для исследований БЭ на добровольцах. Исследования БЭ капецитабина на добровольцах обычно проводятся на минимальных дозировках (например, 150 мг) при однократном приеме с целью минимизации нежелательных лекарственных реакций, в связи с этим ожидаемые концентрации капецитабина и 5-фторурацила в биообразцах значительно ниже, чем при проведении курсовой терапии пациентам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование

Хроматографическое разделение проводили с использованием системы ВЭЖХ-МС/МС LCMS-8040 с тандемным масс-селективным детектором (тройной квадруполь, Shimadzu Corporation, Япония) с программным обеспечением LabSolutions (Ver. 5.3).

Для приготовления растворов и пробоподготовки применяли вортекс-шейкер Reax top (Heidolph, Германия), центрифугу SL 16 (Thermo Scientific, США), аналитические весы OHAUS DV 214C (Китай), дозаторы переменного объема «Ленпипет Дигитал» 10–100 мкл и 100–1000 мкл (Россия).

Реактивы и растворы

В работе были использованы капецитабин, субстанция-порошок (годен до 05.2015, стандарт фирмы, содержание 98,6%); 5-фторурацил, субстанция-порошок (ACROS ORGANICS, содержание 99%); ацетонитрил (gradient grade, Scharlau, Испания); метанол (gradient grade for liquid chromatography LiChrosolv®, Merck Millipore, США); кислота муравьиная (for LC-MS, Merck, США); формиат аммония (for LC-MS, Merck, США); вода Milli-Q.

Образцы интактной и исследуемой плазмы крови хранили в морозильнике для плазмы (морозильник медицинский Pozis, ММ-180/20/35, Россия) при температуре от –45 °С до –50 °С. Стандартные растворы хранили в морозильнике при температуре от –20 °С до –25 °С.

С учетом содержания капецитабина и 5-фторурацила в субстанциях вносили 10,1 мг и 5,1 мг субстанции капецитабина и 5-фторурацила соответственно, что эквивалентно 10 мг и 5 мг анализируемых веществ соответственно, в мерные колбы вместимостью 50 мл, прибавляли 25 мл метанола, перемешивали до полного растворения, доводили объем растворов тем же растворителем до метки. Полученные растворы имели концентрацию капецитабина 200 мкг/мл (раствор А) и 5-фторурацила 100 мкг/мл (раствор Б). Стандартные растворы готовили путем разведения растворов А и Б метанолом (таблицы 2–3).

Таблица 2.

Приготовление стандартных растворов капецитабина

Концентрация приготовленного раствора капецитабина, нг/мл	Количество компонента, мл	
	Стандартный раствор капецитабина, С=200 мкг/мл	Метанол
100000,0	5,000	До 10,0
50000,0	5,000	До 20,0
20000,0	1,000	До 10,0
10000,0	1,000	До 20,0
5000,0	0,500	До 20,0
1000,0	0,250	До 50,0
500,0	0,250	До 100,0
200,0	0,100	До 100,0
100,0	0,050	До 100,0

Таблица 3.

Приготовление стандартных растворов 5-фторурацила

Концентрация приготовленного раствора 5-фторурацила, нг/мл	Количество компонента, мл	
	Стандартный раствор 5-фторурацила, С=100 мкг/мл	Метанол
4000,0	2,000	До 50,0
2000,0	1,000	До 50,0
1000,0	0,500	До 50,0
400,0	0,400	До 100,0
200,0	0,200	До 100,0

Исходные стандартные растворы для проведения валидации хранили в морозильнике при температуре от –20 °С до –25 °С. Разведения использовались свежеприготовленными.

Пробоподготовка

К 200 мкл плазмы крови (либо к 180 мкл плазмы с прибавлением 20 мкл раствора стандартного образца), помещённым в центрифужные микропробирки вместимостью 1,5 мл, прибавляли 400 мкл метанола, встряхивали на шейкере типа «вортекс» в течение 10 с, далее центрифугировали в течение 15 мин при 15000 об/мин и отбирали 200 мкл надосадочной жидкости, которую переносили в виалы для хроматографа.

Условия хроматографирования

Количественное определение проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе LCMS-8040, оснащенном градиентным насосом, термостатом колонок и образцов, дегазатором, автосамплером, фотодиодно-матричным и тандемным масс-спектрометрическим детектором. Обработку данных проводили при помощи программного обеспечения LabSolutions (Ver. 5.3), Shimadzu Corporation, Япония.

Подвижная фаза: вода, 0,1% муравьиной кислоты, 1 ммоль/л формиата аммония (А) / вода, 0,1% муравьиной кислоты, 1 ммоль/л формиата аммония (В). *Градиент состава подвижной фазы*: 0-1 мин – 0% В; 1-1,1 мин – от 0% до 37% В; 1,1–2,5 мин – 37% В; 2,5–3,5 мин – от 37% до 100% В; 3,5–4,5 мин – 100% В; 4,5–4,8 мин – от 100% до 0% В; 4,8–6,5 мин – 0% В.

В качестве *неподвижной фазы использовалась* хроматографическая колонка Zorbax Eclipse XDB-C18 75×4,6 мм, 3,5 мкм, при температуре 37 °С.

Скорость потока подвижной фазы составляла 1,2 мл/мин. Объем вводимой пробы – 10 мкл. Время хроматографирования – 6,5 мин.

Детектирование

Для 5-фторурацила применяли отрицательный режим ионизации электрораспылением, детектирование в SIM-режиме по фрагменту 129,15 m/z, напряжение на капилляре – 5 кВ, распыляющий газ – 2 л/мин, осушающий газ – 20 л/мин, блок нагрева – 400 °С, линия десольватации – 300 °С.

Для капецитабина применяли положительный режим ионизации электрораспылением, детектирование в режиме мониторинга множественных реакций по переходам 360,1→244,1, 360,1→130,0, напряжение на капилляре – 3,5 кВ, распыляющий газ – 2 л/мин, осушающий газ – 20 л/мин, блок нагрева – 400 °С, линия десольватации – 300 °С.

Время удерживания 5-фторурацила составляло около 0,9 мин, капецитабина – около 2,8 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Валидация методики

Валидацию биоаналитической методики проводили на основе руководств FDA [12] и EMA [13], а также «Руководства по экспертизе лекарственных средств» [14] по следующим характеристикам: селективность, линейность, правильность и прецизионность (на уровне *intra-run* и *inter-run*), перенос пробы, предел количественного определения, стабильность растворов.

Селективность

Проводили анализ 7 образцов интактной плазмы, образцов интактной плазмы с прибавлением стандартного раствора капецитабина в диапазоне концентраций 10–20000,0 нг/мл и 5-фторурацила в диапазоне концентраций 10–400,0 нг/мл. На хроматограммах образцов интактной плазмы не наблюдалось пиков со временем удерживания, соответствующим времени удерживания капецитабина или 5-фторурацила. Соответствующие хроматограммы приведены на рисунках 2–4.

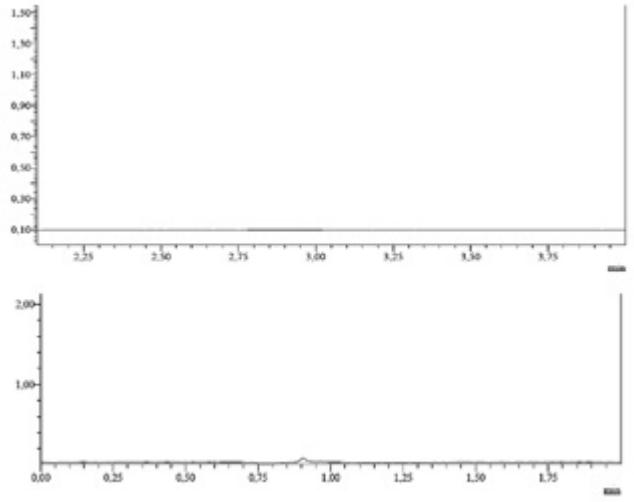


Рисунок 2. **Хроматограммы интактной плазмы**

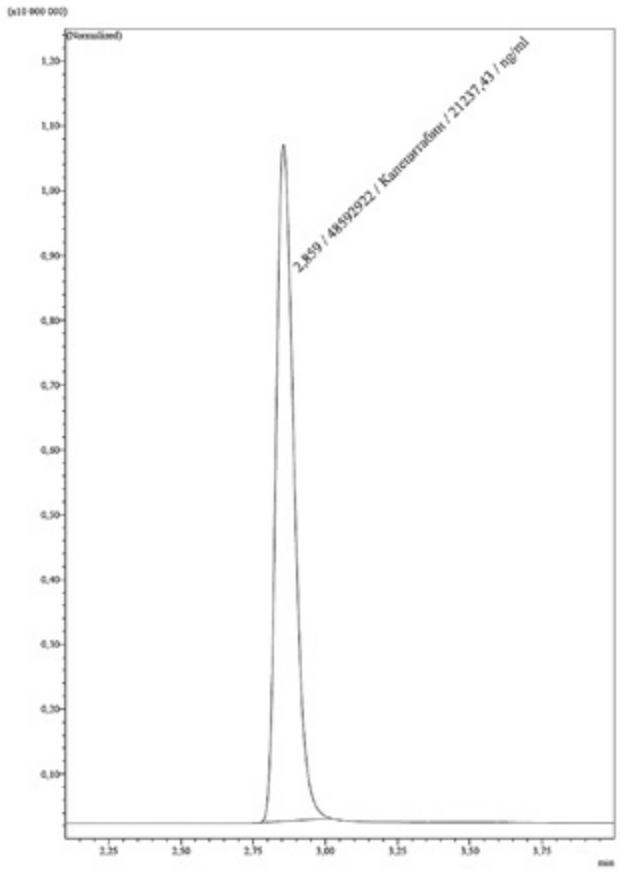


Рисунок 3. **Хроматограмма интактной плазмы с прибавлением стандартного раствора капецитабина (20000,0 нг/мл)**

Линейность

Проводили анализ 10 образцов интактной плазмы с прибавлением стандартного раствора капецитабина до получения концентраций: 10 нг/мл, 20 нг/мл, 50 нг/мл, 100 нг/мл, 500 нг/мл, 1000 нг/мл, 2000 нг/мл, 5000 нг/мл, 10000 нг/мл, 20000 нг/мл и 6 образцов интактной плазмы с прибавлением стандартного раствора 5-фторурацила до получения концентраций 10 нг/мл, 20 нг/мл, 40 нг/мл, 100 нг/мл, 200 нг/мл, 400 нг/мл. По полученным значениям были построены калибровочные графики, приведенные на рисунках 5–6, совместно с уравнением калибровочной кривой.

Отклонения концентраций калибровочных растворов, рассчитанных по уравнению линейной зависимости, от фактических значений приведены в таблицах 4–5.

Правильность и прецизионность

Проводили анализ 4 образцов чистой плазмы с прибавлением стандартного раствора капецитабина до получения концентраций: 10 нг/мл, 50 нг/мл, 10000 нг/мл, 20000 нг/мл.

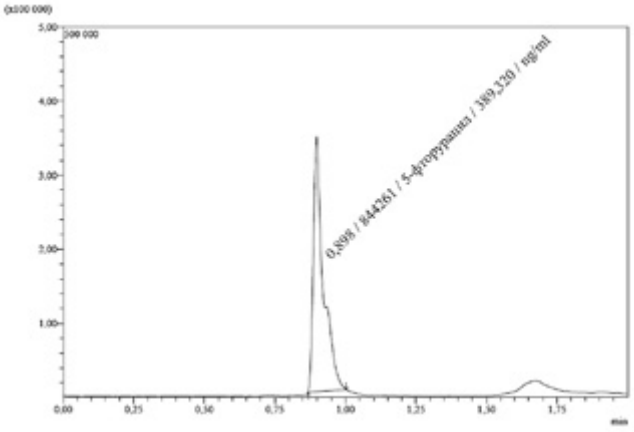


Рисунок 4. **Хроматограмма интактной плазмы с прибавлением стандартного раствора 5-фторурацила (400,0 нг/мл)**

Проводили анализ 4 образцов чистой плазмы с прибавлением стандартного раствора 5-фторурацила до получения концентраций: 10 нг/мл, 20 нг/мл, 200 нг/мл, 400 нг/мл.

Каждый раствор хроматографировали 5 раз. Исследование проводили в течение 1-й последовательности (*intra-run*) и 2-й последовательности (*inter-run*). Для полученных значений концентраций были рас-

Таблица 4.

Отклонения концентраций калибровочных растворов капецитабина от фактических значений

$C_{факт}$, нг/мл	10,00	20,00	50,00	100,00	500,00	1000,00	2000,00	5000,00	10000,00	20000,00
$C_{рассч}$, нг/мл	9,68	21,56	48,40	101,52	468,05	875,80	1889,65	5555,73	10408,00	21237,43
ε, %	3,20	7,80	3,20	1,52	6,39	12,42	5,52	11,11	4,08	6,19

считаны величины относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительной погрешности (ε, %), приведенные в таблицах 6–9.

Таблица 5.

Отклонения концентраций калибровочных растворов 5-фторурацила от фактических значений

$C_{факт}$, нг/мл	10,00	20,00	40,00	100,00	200,00	400,00
$C_{рассч}$, нг/мл	10,33	19,16	37,21	101,96	217,24	389,32
ε, %	3,29	4,21	6,98	1,96	8,62	2,67

Для расчета относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительной погрешности (ε, %) на уровне *inter-day* использовались данные (n=10), полученные в течение 1-й последовательности (*intra-run*) и 2-й последовательности (*inter-run*).

Полученные величины относительного стандартного отклонения (прецизионность) и относительной погрешности (правильность) соответствуют нормам (не более 20% для нижнего диапазона линейности, не более 15% для остальных точек).

Предел количественного определения

Предел количественного определения (ПКО) методики определяли на основании данных линейности, правильности и прецизионности. За ПКО методики принималась минимальная концентрация капецитабина и 5-фторурацила в плазме, для которой возможно определение капецитабина и 5-фторурацила со значениями RSD и ε не более 20% в диапазоне линейной зависимости. Предел количественного определения методики составил 10,0 нг/мл для обоих веществ.

Стабильность

Была подтверждена стабильность для стандартных растворов капецитабина и 5-фторурацила (при хранении раствора в течение 14 дней при температуре от –20 °С до –25 °С), кратковременная стабильность (для приготовленных проб в течение 48 ч при анализе на следующий день при температуре 20 °С) на уровне концентрации 50 и 20000,0 нг/мл для капецитабина, 20 и 400,0 нг/мл для фторурацила. Образцы выдерживали 3 цикла заморозки-разморозки. Площадь пика при повторных анализах не менялась более чем на 10%.

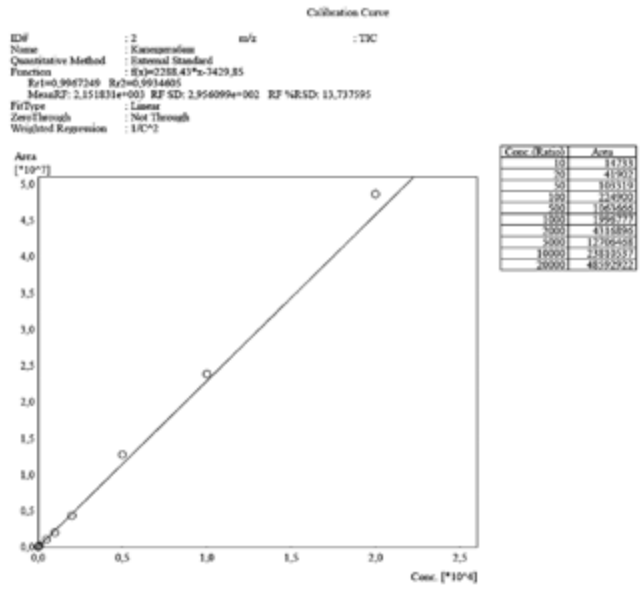


Рисунок 5. Калибровочный график зависимости площади пика капецитабина от концентрации в плазме

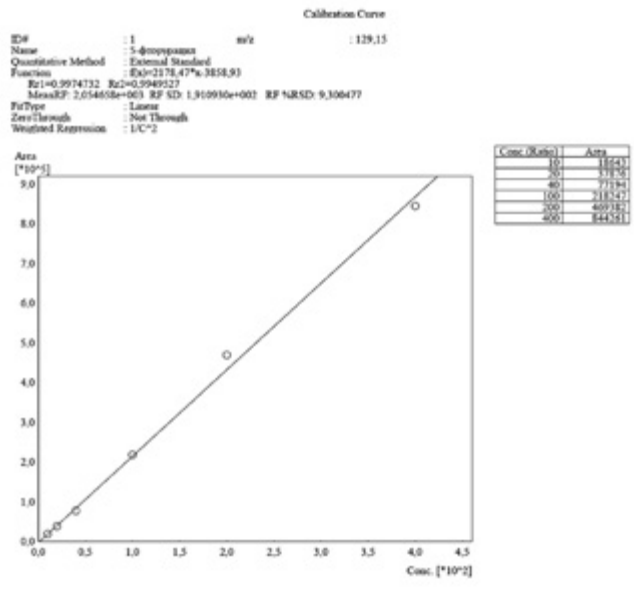


Рисунок 6. Калибровочный график зависимости площади пика 5-фторурацила от концентрации в плазме

Таблица 6.

Правильность и прецизионность методики (*intra-run*) для капецитабина

Введено (нг/мл)	Найдено (нг/мл)	Найдено (нг/мл), среднее значение (n=5)	S.D. (n=5)	RSD, % (n=5)	ε, %
10,00	9,68	10,72	0,86	8,06	7,22
	11,34				
	10,01				
	11,72				
	10,86				
50,00	48,40	49,24	3,16	6,43	1,53
	53,93				
	50,03				
	45,20				
	48,62				
10000,00	10408,00	10239,54	167,24	1,63	2,40
	10259,71				
	9959,16				
	10297,07				
	10273,76				
20000,00	21237,43	21153,38	186,98	0,88	5,77
	21014,07				
	21246,17				
	21362,73				
	20906,52				

Таблица 7.

Правильность и прецизионность методики (*inter-run*) для капецитабина

Введено (нг/мл)	Найдено (нг/мл)	Найдено (нг/мл), среднее значение (n=10)	S.D. (n=10)	RSD, % (n=10)	ε, %
10,00	9,45	10,12	0,99	9,75	1,22
	9,22				
	10,74				
	8,76				
	9,44				
50,00	47,89	48,92	2,50	5,10	2,15
	49,32				
	46,28				
	51,49				
	48,08				
10000,00	10385,96	10476,59	381,17	3,64	4,77
	10853,21				
	11236,83				
	10843,69				
	10248,51				
20000,00	20773,01	21152,95	512,09	2,42	5,76
	21583,17				
	20458,63				
	20698,41				
	22249,37				

Таблица 8.

Правильность и прецизионность методики (*intra-run*) для 5-фторурацила

Введено (нг/мл)	Найдено (нг/мл)	Найдено (нг/мл), среднее значение (n=5)	S.D. (n=5)	RSD, % (n=5)	ε, %
10,00	10,33	9,15	0,70	7,67	8,50
	8,63				
	8,75				
	8,78				
	9,26				
20,00	19,16	19,89	0,97	4,86	0,53
	21,18				
	20,69				
	19,28				
	19,16				
200,00	217,27	198,99	17,10	8,59	0,50
	206,96				
	183,86				
	208,96				
	177,92				
400,00	389,32	397,48	12,83	3,23	0,63
	408,70				
	402,49				
	407,74				
	379,17				

Таблица 9.

Правильность и прецизионность методики (*inter-run*) для 5-фторурацила

Введено (нг/мл)	Найдено (нг/мл)	Найдено (нг/мл), среднее значение (n=10)	S.D. (n=10)	RSD, % (n=10)	ε, %
10,00	9,95	9,40	0,59	6,31	5,97
	9,58				
	9,11				
	10,06				
	9,58				
20,00	20,58	19,73	0,87	4,39	1,35
	18,91				
	19,03				
	20,36				
	18,95				
200,00	205,82	197,37	15,72	7,96	1,31
	180,91				
	178,07				
	198,58				
	215,39				
400,00	401,16	391,81	16,22	4,14	2,05
	405,81				
	358,80				
	381,78				
	383,16				

Перенос пробы

При последовательном вводе пробы с концентрацией капецитабина 20000,0 нг/мл и 5-фторурацила 400,0 нг/мл и чистой плазмы на хроматограмме чистой плазмы отсутствовали пики, соответствующие капецитабину и 5-фторурацилу. Перенос пробы отсутствовал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика количественного определения капецитабина и его активного метаболита 5-фторурацила в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. По результатам валидации методики был установлен ее аналитический диапазон, который составил 10,0–20000,0 нг/мл для капецитабина и 10,0–400,0 нг/мл для 5-фторурацила. Данный аналитический диапазон был признан пригодным для проведения исследований биоэквивалентности препаратов капецитабина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Распоряжение Правительства РФ № 2724-р «Об утверждении перечней жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2016 год».
2. Приказ Минпромторга РФ от 23.10.2009 № 965 «Об утверждении стратегии развития фармацевтической промышленности на период до 2020 г».
3. B. Reigner, K. Blesch, E. Weidekamm. Clinical pharmacokinetics of capecitabine // Clin Pharmacokinet. 2001. V. 40(2). P. 85–104.
4. D. Caronia, M. Martin, J. Sastre, J. de la Torre, J.A. García-Sáenz, M.R. Alonso, L.T. Moreno, G. Pita, E. Díaz-Rubio, J. Benítez, A. González-Neira. A polymorphism in the cytidine deaminase promoter predicts severe capecitabine-induced hand-foot syndrome // Clin Cancer Res. 2011. V. 17(7). P. 2006–2013.
5. L. Zufıa, A. Aldaz, J. Giráldez. Simple determination of capecitabine and its metabolites by liquid chromatography with ultraviolet detection in a single injection // Journal of Chromatography B. 2004. V. 809. P. 51–58.
6. И.Е. Шохин, А.Ю. Савченко, Ю.В. Медведев, Л.Л. Шамаль. Разработка и валидация методики определения противоопухолевого препарата капецитабина и его метаболита 5-фторурацила в плазме крови // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2012. № 1. С. 53–56.
7. Т.Н. Комаров, Ю.В. Медведев, Г.В. Раменская, И.Е. Шохин, Т.А. Ярушок, Е.Ю. Мидруев. Разработка и валидация методики определения противоопухолевого препарата капецитабина и его активного метаболита 5-фторурацила в плазме крови с целью проведения фармакокинетических исследований // Биофармацевтический журнал. 2014. Т. 6. № 5. С. 62–67.
8. Y. Xu, J.L. Grem. Liquid chromatography – mass spectrometry method for the analysis of the anticancer agent capecitabine and its nucleoside metabolites in human plasma // Journal of Chromatography B. 2003. V. 783. P. 273–285.
9. M.J. Deenen, H. Rosing, M.J. Hillebrand. Quantitative determination of capecitabine and its six metabolites in human plasma using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry // Journal of Chromatography B. 2013. V. 913–914. P. 30–40.
10. S.M. Guichard, I. Mayer, D.I. Jodrell. Simultaneous determination of capecitabine and its metabolites by HPLC and mass spectrometry for preclinical and clinical studies // Journal of Chromatography B. 2005. V. 826. P. 232–237.
11. Т.Н. Комаров, Г.В. Раменская, И.Е. Шохин, Ю.В. Медведев, Е.Ю. Мидруев, А.А. Львова, Ю.Е. Болдина. Определение некоторых противоопухолевых препаратов из списка жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов в плазме крови с помощью сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-детектированием // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. Вып. 6. С. 724–730.
12. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation (draft guidance). U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evolution and Research (CDER). – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2013.
13. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. – London. 2011.
14. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. – М.: Гриф и К, 2013. 328 с.

УДК 615.1

РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, НУЖДАЮЩИМСЯ В ПРОВЕДЕНИИ ДИАЛИЗА

Г.Т. Абдрашитова[1]*, Р.С. Скулкова[2]

1 – Лаборатория фармакоэкономических исследований Научно-исследовательского института фармации Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 117418, Россия, г. Москва, Нахимовский проспект, 45

2 – Российский центр «Фармединфо» Минздрава России, 101497, Россия, г. Москва, ул. Большая Дмитровка, 7.

1 – Laboratory of pharmacoeconomic researches Scientific Research Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 45, Nakhimovsky prospect, Moscow, 117418, Russia

2 – Russian center «Farmedinfo» of the Russian Federation Ministry of Health, 7, B. Dmitrovka str., Moscow, 101497, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: guzel_mirkasim@mail.ru
Тел.: 8 (964) 572 74 32

Резюме. На основе разработанной аналитической модели принятия решений произведен фармакоэкономический анализ показателей «влияние на бюджет» и «затраты – полезность» терапии терминальной почечной недостаточности методами перитонеального диализа и гемодиализа. Определен эффект влияния на бюджет, который может быть получен при расширении программы перитонеального диализа. Анализ «влияния на бюджет» показал, что использование перитонеального диализа в качестве первой линии терапии больных терминальной почечной недостаточностью сопровождается экономией федерального бюджета. Также было установлено, что перитонеальный диализ в сравнении с гемодиализом характеризуется как доминантный с позиции анализа «затраты – полезность», обладая меньшим значением коэффициента «затраты – полезность».

Ключевые слова: терминальная почечная недостаточность, перитонеальный диализ, гемодиализ, фармакоэкономический анализ, качество жизни.

RESULTS OF THE PHARMACOECONOMIC STUDY OF MEDICAL CARE FOR END-STAGE RENAL FAILURE PATIENTS IN NEED OF DIALYSIS

G.T. Abdrashitova[1]*, R.S. Skulkova[2]

Abstract. Budget impact analysis and cost-utility analysis for the therapy of end-stage renal failure by methods of peritoneal dialysis and hemodialysis were performed by means of a developed analytical model of decision making. Effect of impact on the budget of extension of the peritoneal dialysis program was defined. Budget impact analysis has shown that the use of peritoneal dialysis as first-line therapy for patients with end-stage renal failure is accompanied by savings of the federal budget. It has also been found that peritoneal dialysis as compared to hemodialysis is characterized as a dominant point of view of the analysis «cost-utility», having a smaller value of the coefficient «cost-utility».

Keywords: end-stage renal failure, peritoneal dialysis, hemodialysis, pharmacoeconomic analysis, quality of life.

ВВЕДЕНИЕ

Терминальная почечная недостаточность (ТПН) является нарушением гомеостаза, вызванным полной потерей функции почек вследствие необратимого снижения массы действующих нефронов почек [1]. Согласно современной классификации хронической болезни почек (ХБП) ТПН рассматривается как последняя стадия ХБП, при которой для сохранения жизни пациентов требуется применение заместительной почечной терапии (ЗПТ) [1]. ЗПТ включает в себя три вида технологий здравоохранения: перитонеальный диализ (ПД), гемодиализ (ГД) и трансплантацию почки (ТП). ПД и ГД представляют собой методы очистки крови и являются самыми распространёнными видами ЗПТ как в Российской Федерации (РФ), так и во всем мире [3]. Очистка крови от токсинов при ПД происходит через перитонеальную мембрану постоянно и равномерно, что физиологически ближе к нормальной функции почек. В свою очередь, ГД представляет собой процедуру очищения крови через полупроницаемую пористую мембрану с помощью аппарата «искусственная почка», которая проводится в специализированных диализных центрах или на базе отделений многопрофильных больниц. ТП является радикальным методом, заключающимся в пересадке пациенту донорской почки. Следует отметить, что в связи с дефицитом донорских органов и возникающими вследствие этого длинными очередями на операцию, а также высокой стоимостью технологии данный метод ЗПТ является наименее доступным как в РФ, так и во всем мире.

Распространенность ТПН неуклонно растет с каждым годом. В исследовании Liyanage et al. (2015 г.) установлено, что

во всем мире 2,6 млн человек находятся на ЗПТ [2]. По прогнозам Liyanage к 2030 году число людей, получающих ЗПТ по всему миру, увеличится до 5,4 млн [2]. Согласно отчету Российского диализного общества (РДО) в РФ ежегодный прирост числа больных, страдающих ТПН, соответствует общемировым тенденциям и составляет в среднем около 9,2% [3]. По данным статистики, в РФ в 1998 году количество больных, находящихся на ЗПТ, составляло 8228 человек. К концу 2013 года оно увеличилось в четыре раза и достигло 35305 пациентов, что показывает рост заболеваемости и распространенности ТПН [3].

Соотношение частоты использования методов ПД к ГД может сильно отличатся от страны к стране. Так, например, в Мексике и Гонконге при ТПН ПД используется в 75–78% случаев, в Южной Корее и Великобритании – в 22–25%, в Канаде – в 30%. В свою очередь, в США, Японии, Германии, Франции и Италии доля ПД в общей диализной популяции не превышает 10% [4]. Такая разница в доле использования ПД и ГД связана как с исторически сложившейся практикой, так и с финансированием системы здравоохранения. В РФ, по данным отчетов РДО, в общей структуре диализной терапии преобладает ГД, удельный вес которого находится на уровне 92,7%, в то время как доля ПД составляет только 7,3% [3].

ЗПТ относится к высокозатратным и высокотехнологическим видам медицинской помощи, тарифы на которую в РФ формируются на региональном уровне. Вследствие этого тарифы значительно различаются по стоимости, набору и объему входящих в них услуг. Кроме того, стоимость диализа не включает профилактику и лечение осложнений, как вызванных ХБП, так и возникших вследствие проведения ЗПТ, являющихся частью лечебного процесса. Помимо этого, в России средний возраст больных, получающих ЗПТ, составляет 47 лет, т.е. в значительной мере страдает трудоспособная часть населения.

Таким образом, представленные данные об увеличении числа больных, нуждающихся в проведении ЗПТ, частоты встречаемости ТПН и росте социально-экономического бремени обуславливают актуальность проведенного фармакоэкономического исследования оказания лекарственной помощи больным с ТПН, нуждающимся в проведении диализа в Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении описываемого ФЭКИ была разработана аналитическая модель принятия решений (АМПР). Для построения модели были использованы ретроспективные данные о популяции пациентов с ТПН, структуре и эффективности оказываемой помощи. В качестве объектов исследования были выбраны методы ПД и ГД, как наиболее часто предоставляемые в РФ виды терапии. ФЭК-анализ в рамках АМПР может проводиться с позиции бюджета системы здравоохранения в целом, включая прямые и непрямые затраты, или с точки зрения бюджета лечебного учреждения с диализным центром, где учитываются лишь прямые затраты. В настоящей статье представлены результаты моделирования с позиции бюджета системы здравоохранения в целом. Исследование было выполнено с использованием следующих методов: анализа эффективности, анализа затрат, моделирования, анализа «затраты – полезность», анализа «влияния на бюджет» и анализа чувствительности.

На первом этапе данного ФЭКИ был проведен ретроспективный анализ клинической эффективности, который включал в себя выбор критерия эффективности и поиск соответствующих значений эффективности для изучаемых методов ЗПТ. Информационный поиск проводился по следующим ключевым словам: «chronic kidney disease», «effectiveness of treatment», «renal replacement therapy», «hemodialysis», «peritoneal dialysis» – в базах данных «Pubmed» и «Российская медицина» Центральной научной медицинской библиотеки Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Предпочтение отдавалось метаанализам, обзорам и РКИ. Далее проводили исключение одинаковых исследований, публикаций, не относящихся к проблеме лечения ТПН с применением изучаемых видов диализа.

На следующем этапе был проведен анализ затрат, являющийся одной из важнейших составляющих ФЭКИ. В рамках настоящего исследования были учтены как прямые, так и непрямые затраты. Прямые затраты включали расходы на подготовку пациента к ЗПТ, а также затраты на собственно проведение ЗПТ. Помимо этого, учитывались затраты как на лечение инфекционных осложнений ЗПТ, так и на терапию осложнений, вызванных ХБП, с учетом частоты их возникновения. К непрямым затратам относили единовременные выплаты по инвалидности, пенсии по инвалидности (с учетом группы инвалидности) и потери ВВП вследствие утраты трудоспособности пациентов экономически активного возраста (рисунок 1).

Расчеты затрат проводили при помощи программы Microsoft Office Excel 2013. Источниками цен на медицинские услуги и фармакотерапию служили тарифы ФОМС, зарегистрированные цены на жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты (ЖНВЛП) и портал aptechka.ru для препаратов, не входящих в перечень ЖНВЛП [5, 6].

Далее в ходе проведения ФЭКИ был выполнен анализ «затраты – полезность» (CUA) из расчета лечения одного пациента с ТПН. Данный вид анализа явля-

Рисунок 1. Структура затрат, учитываемых в настоящем исследовании

ется частным случаем анализа «затраты – полезность» (CEA), а мера эффективности оцениваются в единицах «полезности» с точки зрения потребителя медицинской помощи. Анализ «затраты – полезность» позволяет сопоставить количество лет жизни с уровнем ее качества на данный срок [7]. Результаты анализа «затраты – полезность» выражаются в виде соответствующих коэффициентов, которые рассчитываются по следующей формуле:

$$CUR= Cost/QALY,$$

где: CUR – коэффициент «затраты – полезность»; Cost – общие затраты на сравниваемую схему терапии (руб.); QALY (Quality Adjusted Life Years) – показатель полезности, отображающий число добавленных лет качественной жизни.

На следующем этапе был проведен анализ «влияния на бюджет», который в отличие от анализа «затраты – полезность» решает задачу выбора оптимальной технологии здравоохранения не с позиции удельного показателя стоимости единицы эффективности, а позволяет определить объем средств, требуемый на реализацию технологии здравоохранения, и соотнести его с доступным бюджетом системы здравоохранения [8]. Анализ «влияния на бюджет» производится с использованием формулы:

$$BIA=(S(1))/(S(2))–1,$$

где: BIA – результат анализа «влияния на бюджет»; S(1) – суммарный экономический эффект технологии здравоохранения 1; S(2) – суммарный экономический эффект технологии здравоохранения 2.

На последнем этапе ФЭКИ был проведен анализ чувствительности, который оценивает степень достоверности полученных результатов.

Следует отметить, что в настоящем исследовании в качестве когорты пациентов выступила гипотетическая группа больных с ТПН, в которой отсутствовали противопоказания как для ПД, так и для ГД и диализ был назначен впервые. Временной горизонт исследования был равен одному году. В связи с небольшим горизонтом исследования и недостатком релевантной доказательной базы переходы между видами ЗПТ не учитывались. Риски наступления осложнений в модели считались постоянными на протяжении всего временного горизонта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ эффективности

В ходе информационного поиска в базе данных ЦНМБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова нами была обнаружена 531 русскоязычная публикация и 3 англоязычные публикации, посвященные вопросам терапии ТПН; в медицинской электронной базе данных PubMed на момент проведения исследования было обнаружено значительное число работ – 8207 публикаций.

Далее дублирующиеся публикации и исследования, не относящиеся к проблеме лечения ТПН методами ГД и ПД, были исключены; а также не вошли в дальнейший анализ исследования с низким уровнем доказательности и с недоступными в свободном доступе результатами. Таким образом, после скрининга для детального анализа были выбраны 19 публикаций.

В ходе подробного анализа найденных публикаций нами были выявлены и сопоставлены различные критерии эффективности, используемые при оценке видов диализа в рамках клинических исследований. К таким критериям относились частота развития осложнений ЗПТ, частота развития осложнений ХБП, частота сохранения трудоспособности, риск нарушения доступа с последующей реимплантацией, качество жизни.

В ходе информационного поиска нами было обнаружено 12 исследований, в которых были представлены результаты оценки качества жизни пациентов, находящихся на ПД и ГД. Однако впоследствии исключили восемь исследований, в которых не были представлены результаты сравнения показателя качества жизни для рассматриваемых нами стратегий лечения, и 3 публикации, имевшие только качественное описание. Так, только в работе K. Sennfält et al., 2002 [9], были результаты по всем параметрам, соответствующие цели настоящего исследования. В указанном исследовании принимали участие 136 пациентов с ТПН старше 18 лет, которым тот или иной вид диализа был назначен впервые. Для определения качества жизни диализных пациентов был использован международный валидированный опросник для оценки качества жиз-

ни EuroQol. В результате проведенного исследования были получены данные, согласно которым показатель полезности при использовании ПД равнялся 0,65, а при ГД – 0,44 [9].

В свою очередь, данные по частоте сохранения трудоспособности у диализных пациентов были найдены в исследовании M. Julius et al. Целью данной работы было сравнительное определение сохранения трудоспособности пациентов на ПД и ГД. В ходе данного исследования было определено, что частота сохранения трудоспособности пациентов на ПД составляет 27,4%, тогда как только 9,6% из всех пациентов на ГД могут работать [10].

После изучения таких литературных данных, как национальное руководство по ХБП, клинические исследования, а также интервьюирования экспертов был определен включенный в проводимый нами анализ перечень осложнений, развивающихся вследствие самой ХБП и проводимой при ней ЗПТ [1]. Как видно из данных, приведенных в таблице 1, осложнения ХБП были представлены анемией, вторичным гиперпаратиреозом (ВГПТ) и сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ). К осложнениям терапии ЗПТ были отнесены затраты на лечение перитонитов на фоне проведения ПД и затраты на лечение сепсиса при назначении пациентам как ГД, так и ПД.

Информация о частотах возникновения анемии и ВГПТ на терминальной стадии ХБП была взята из отчетов РДО [3], в то время как данные о частоте госпитализаций по причине ССЗ в отечественных источниках обнаружены не были, в связи с чем указанная информация была взята из Атласа по терминальной стадии ХБП (система сбора и анализа нефрологической базы данных США) [11].

Данные о частоте развития осложнений ЗПТ (перитонит, сепсис) были обнаружены в зарубежных работах L.A. Orlando et al., A.H. Zhang et al. и L.S. Hooi et al. [12, 13]. Сведения о риске нарушения доступа с последующей реимплантацией у пациентов на ГД были найдены в отчетах РДО, при этом по причине отсутствия информации для ПД была взята средняя частота реимплантаций из нескольких найденных зарубежных исследований [3, 14–18].

В результате проведенного анализа критериев эффективности было выделено восемь показателей, по которым сравнивали изучаемые схемы лечения. Значения показателей эффективности для каждой из схем приведены в таблице 1.

В ходе проведенного нами исследования в качестве основного критерия эффективности была использована конечная точка – QALY. На сегодняшний день индекс QALY является широко используемым суммарным показателем полезности, учитывающим как качественную, так и количественную оценку жизни с точки зрения пациента. Оценка QALY имеет важное значение как для исследователей, оценивающих эффективность и стоимость различных медицинских вмешательств, так и для лиц, принимающих решения в сфере здравоохранения. Такие критерии эффективности, как частота развития осложнений ХБП и ЗПТ и риск нарушения доступа с последующей реимплантацией, были учтены в анализе прямых затрат, а частота сохранения трудоспособности была использована в расчете непрямых затрат.

Таблица 1.

Результаты анализа эффективности

Критерий эффективности	ПД	ГД	Источник
QALY	0,65	0,44	[9]
Частота сохранения трудоспособности, %	27,4	9,6	[10]
Частота развития осложнений ХБП – ВГПТ – анемия – ССЗ	0,89 0,875 0,432	0,95 0,915 0,532	[3] [3] [11]
Частота развития осложнений ЗПТ, % – сепсис – перитонит	3,3 14	13,3 –	[12] [13]
Риск нарушения доступа с последующей реимплантацией, %	14	40,2	[3, 14–18]

Анализ затрат

На следующем этапе исследования была проведена оценка прямых затрат на лечение ТПН. Расчет затрат на подготовку пациентов с ТПН к ГД или ПД производился на основании «Стандарта оказания специализированной медицинской помощи при ХБП терминальной стадии в преддиализном периоде, при госпитализации с целью подготовки к ЗПТ» с учетом вероятности необходимости реимплантации при ПД и ГД [19]. В данный стандарт входят диагностика, прием и наблюдение у различных врачей-специалистов, лабораторные и инструментальные методы исследования, хирургические методы лечения, немедикаментозные методы профилактики, а также фармакотерапия. Как видно на рисунке 2, затраты на подготовку пациента к терапии с использованием ПД ниже по сравнению с ГД. Это объясняется тем, что при ГД стоимость формирования артериовенозной фистулы составляет

10300 руб., тогда как стоимость имплантации катетера для ПД – 2400 руб. Также следует отметить, что реимплантация на ГД происходит чаще по сравнению с ПД – в 40,2% и в 14% случаях соответственно, что существенно увеличивает расходы на подготовку пациента к ГД.

Статья расходов на проведение ЗПТ включала в себя только стоимости самих процедур ГД и ПД и рассчитывалась на основании тарифов ФОМС и данных международных клинических рекомендаций (Европейские рекомендации по оптимальной практике гемодиализа 2002, NHS-NICE 2011, KDOQI 2009) и инструкций по применению растворов для диализа и режимах ЗПТ, согласно которым пациенты на ГД проходили процедуру 3 раза в неделю, а пациенты на ПД проводили в среднем 4 обмена ежедневно, то есть 28 обменов в неделю. Средняя стоимость процедуры ГД для РФ составляет 5000 руб., тогда как средняя стоимость одного обмена ПД – 620 руб.

Далее была оценена стоимость осложнений, развивающихся на фоне ХБП и проводимого лечения. Затраты на коррекцию осложнений ХБП были рассчитаны по наиболее часто используемой схеме: при ПД – «пероральное железо + эпоэтин бета», при ГД – «железа(III) гидроксида сахарозный комплекс + эпоэтин бета», где средняя доза эритропоэтина у пациентов ГД и ПД были взяты из годового отчета почечного реестра Великобритании, при этом было учтено, что в среднем пациенты, находящиеся на ПД, получают дозы эритропоэтина в 3 раза меньше [35–37].

На этапе оценки непрямых затрат были рассчитаны затраты, связанные с выплатой пенсии по инвалидности и ежемесячной денежной выплатой (ЕДВ), зависящие от группы инвалидности пациентов [20]. В ходе построения модели нами было сделано допущение, что половине пациентов с ТПН была присвоена первая группа инвалидности, а другой половине – вторая группа инвалидности. На основании данных о заболеваемости ТПН среди экономически активного населения и о среднем внутреннем валовом продукте (ВВП) на душу населения была проведена оценка потерь ВВП вследствие утраты трудоспособности среди пациентов с терминальной стадией ХБП. Так как средний возраст пациентов ТПН, находящихся на диализе, по данным РДО, составлял 47 лет, каждый второй пациент считался пациентом экономически активного возраста. Источником значения ВВП на душу населения являлась информация Федеральной службы государственной статистики за 2015 год [21].

После суммирования прямых и непрямых затрат было установлено, что общие затраты на терапию одного среднестатистического пациента в год с использованием ПД в среднем ниже на 14% по сравнению с терапией ГД. Это обусловлено более низкими затратами на терапию осложнений ХБП и ЗПТ, а также более низкими непрямыми затратами за счет большего сохранения трудоспособности населения (рисунок 2).

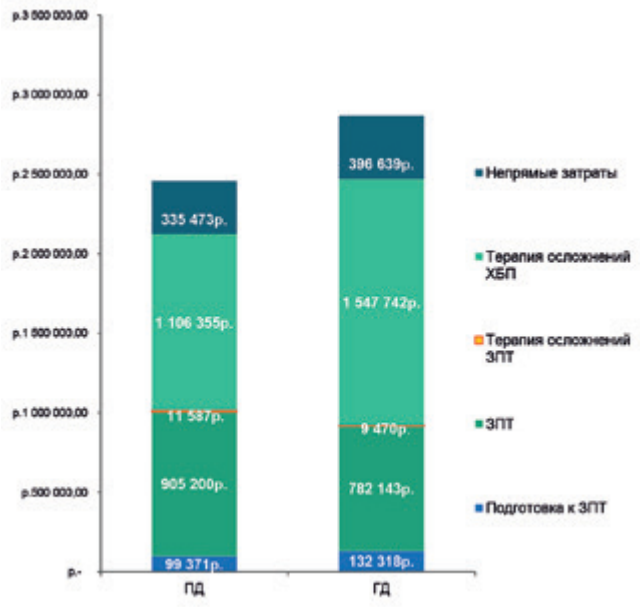


Рисунок 2. Результаты анализа затрат на одного среднестатистического пациента в год

Анализ «затраты – полезность»

Согласно имеющимся данным о полезности применяемых технологий было проведено моделирование с временным горизонтом, равным одному году. В ходе проведения настоящего исследования были определены значения коэффициентов «затраты – полезность» для сравниваемых схем лечения ТПН (рисунок 3).

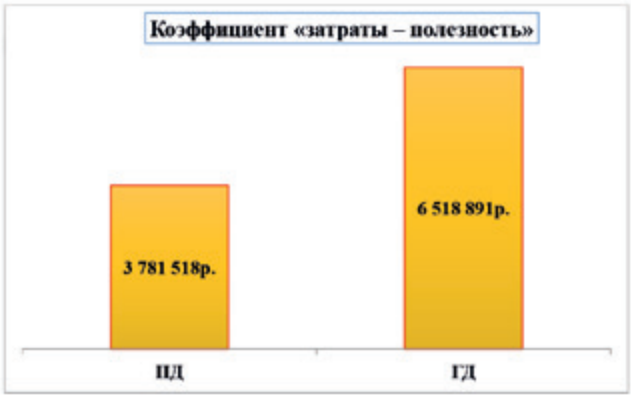


Рисунок 3. Значения коэффициентов «затраты – полезность» для сравниваемых схем терапии из расчета на одного пациента в год

Исходя из рассчитанных значений коэффициентов «затраты – полезность», было определено, что применение ПД при лечении ТПН характеризовалось меньшими затратами на единицу полезности (т.е. на один QALY для одного пациента) по сравнению с использованием ГД. Анализ «затраты – полезность» установил, что схема с использованием ПД является доминантной технологией.

Анализ «влияния на бюджет»

Анализ «влияния на бюджет», проведенный в рамках настоящего ФЭКИ, позволял спрогнозировать, какой эффект окажет на бюджет государства расширение программы ПД.

С помощью разработанной АМПР нами были рассмотрены два сценария:

– текущий, когда распределение пациентов на ПД и ГД соответствует текущей реальной практике ЗПТ по данным отчетов РДО;

– моделируемый, при котором соотношение применения ПД и ГД было равно один к одному.

В настоящей статье представлены результаты анализа «влияния на бюджет» для РФ в целом (таблица 2).

Таблица 2.

Сценарии анализа «влияния на бюджет»

	Тариф, руб.		Численность на диализе	Текущее распределение, %		Прогнозируемое распределение, %	
	ПД	ГД		ПД	ГД	ПД	ГД
Российская Федерация	620	5000	28440	7,3	92,7	50	50

Как видно из рисунка 4, прогнозируемый сценарий, в котором предполагалось, что использование ПД и ГД равно соотношению один к одному, сопровождается экономией бюджета РФ в целом на 5017868121 руб., что составляет 6,6%.

Анализ чувствительности

Для оценки надежности полученных результатов применения ПД и ГД в лечении ТПН провели двухфакторный анализ чувствительности, при котором происходит изменение двух переменных одновременно. Данный вид анализа используется в случаях, когда обе выбранные переменные являются ключевыми в анализе и присутствует определенно высокий риск их варьирования. В нашем исследовании в ходе анализа было установлено, что факторами, оказывающими наибольшее влияние на результат ФЭКИ, является стоимость тарифов на проведение ПД и ГД. В этой связи было изучено влияние изменения цен на результат ФЭКИ при ситуации единовременного снижения стоимости тарифа ГД и увеличения стоимости тарифа ПД.

Рисунок 4. Результаты анализа «влияния на бюджет» для Российской Федерации в целом

Изменяемый параметр	Технология	24%	0%	–24%
Стоимость тарифа	ПД	769 р.	620 р.	471р.
	ГД	6200 р.	5000 р.	3800 р.
Затраты на одного пациента в год	ПД	**2675235** р.	2457987 р.	2240739 р.
	ГД	3056026 р.	2868312 р.	**2680598** р.

Результаты анализа чувствительности продемонстрировали адекватность выполненного ФЭК-анализа и стабильность полученных данных в анализе затрат. В свою очередь, ПД сохраняет свое преимущество над ГД на всем диапазоне изменения двух факторов в интервале от +24% до –24%. (рисунок 5).

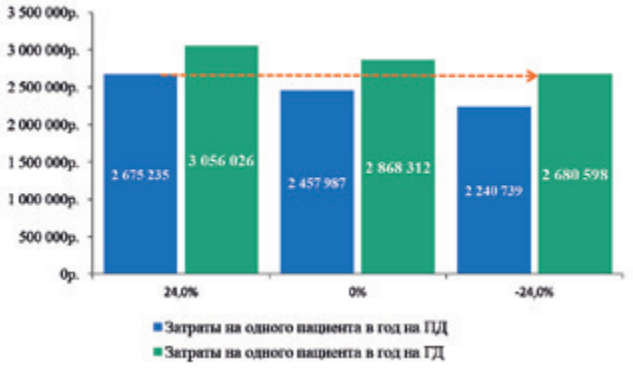


Рисунок 5. Результаты анализа чувствительности

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, терапия больных с ТПН с использованием ПД имеет преимущество в сравнении с применением ГД по коэффициенту «затраты – полезность» и является доминантной технологией здравоохранения. Анализ «влияния на бюджет» показал, что использование ПД в качестве первой линии терапии больных с ТПН сопровождается экономией федерального бюджета.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.В. Смирнов и др. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению // Нефрология. 2012. Т. 16. №. 1. С. 89–115.
2. T. Liyanage et al. Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review // The Lancet. 2015. V. 385. №. 9981. P. 1975–1982.
3. Б.Т. Бикбов, Н.А. Томилина. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998-2013 гг. // Нефрология и диализ. 2015. Т. 17. № 3. С. 5–107.
4. B. Rutkowski. Highlights of the epidemiology of renal replacement therapy in Central and Eastern Europe // Nephrol. Dial. Transplant. 2006. V. 21. P. 4–10.
5. Государственный реестр зарегистрированных цен на препараты ЖНВЛП. URL: www.grls.rosminzdrav.ru (дата обращения 24.12.2015).
6. Поиск лекарственных препаратов в России. URL: http://aptechka.ru/ (дата обращения 24.12.2015).
7. Р.И. Ягудина, В.Г. Серпик, И.В. Сороковиков. Методологические основы анализа «затраты – эффективность» // Фармакоэкономика: теория и практика. 2014. Т. 2. № 2. С. 23–26.
8. Р.И. Ягудина, В.Г. Серпик, Д.Т. Угрехелидзе. Методологические основы анализа «влияния на бюджет» // Фармакоэкономика: теория и практика. 2015. Т. 3. № 4. С. 5–8.
9. K. Sennfalt, M. Magnusson, P. Carlsson. Comparison of hemodialysis and peritoneal dialysis – a cost-utility analysis // Peritoneal Dialysis International. 2002. V. 22. №. 1. P. 39–47.
10. M. Julius et al. A comparison of employment rates of patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis vs in-center hemodialysis (Michigan End-Stage Renal Disease Study) //Archives of internal medicine. 1989. V. 149. №. 4. P. 839–842.
11. US. Renal Data System. USRDS 2011 Annual data Report: Atlas of end-stage renal disease in the Unites States. 2011.
12. L. A. Orlando et al. The chronic kidney disease model: a general purpose model of disease progression and treatment // BMC medical informatics and decision making. 2011. V. 11. №. 1. P. 41.
13. A.H. Zhang et al. Comparison of quality of life and causes of hospitalization between hemodialysis and peritoneal dialysis patients in China // Health Qual Life Outcomes. 2007. V. 5. №. 1. P. 49.
14. A.T. Hauch, P.W. Lundberg, A.S. Paramesh. Laparoscopic Techniques Enable Peritoneal Dialysis in the Difficult Abdomen // JSLS: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons. 2014. V. 18. P. 4.
15. C.A. Restrepo, C.A. Buitrago, C. Holguin. Implantation of peritoneal catheters by laparotomy: nephrologists obtained similar results to general surgeons // International journal of nephrology and renovascular disease. 2014. V. 7. P. 383.
16. A.K. Al-Hwiesh et al. Percutaneous versus laparoscopic placement of peritoneal dialysis catheters: Simplicity and favorable outcome // Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation. 2014. V. 25. №. 6. P. 1194.
17. C.J. Ouyang et al. Comparing the incidence of catheter-related complications with straight and coiled tenckhoff catheters in peritoneal dialysis patients – a single-center prospective randomized trial // Peritoneal Dialysis International. 2015. V. 35. №. 4. P. 443–449.
18. R.J. Barone et al. Peritoneal Dialysis as a First versus Second Option after Previous Haemodialysis: A Very Long-Term Assessment // International journal of nephrology. 2014.
19. Приказ от 20 декабря 2012 г. № 1268н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при хронической болезни почек 5 стадии в преддиализном периоде, при госпитализации с целью подготовки к заместительной почечной терапии».
20. Пенсионный фонд Российской Федерации. URL: www.pfrf.ru (дата обращения 24.03.2016).
21. Федеральная служба государственной статистики. URL: http://www.gks.ru/ (дата обращения 24.03.2016).

12-14 ОКТЯБРЯ 2016

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
КОНГРЕССНО-
ВЫСТАВОЧНЫЙ
ЦЕНТР
ЭКСПОФОРУМ

Петербургский международный ФОРУМ ЗДОРОВЬЯ ПМФЗ

ПЕТЕРБУРГСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ ЗДОРОВЬЯ

ЖДЁМ ВАС НА СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ВЫСТАВКАХ

МЕДИЗ Санкт-Петербург. МЕДИЦИНА И ЗДОРОВЬЕ

Международная выставка медицинской техники, оборудования, услуг и технологий для больниц, поликлиник, лабораторий и частных клиник

mediz-spb.ru

БИОИНДУСТРИЯ

Выставка-конференция биотехнологических решений для медицинской и фармакологической отраслей

bio.expoforum.ru

ФАРМАЦИЯ

Международная выставка лекарственных препаратов, пищевых и биологически активных добавок

pharmaexpo.ru

HEALTH&MEDICAL TOURISM

Международная выставка услуг в сфере медицинского и оздоровительного туризма

healthtourism-expo.ru

ЭСТЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Международная выставка косметических средств, препаратов, расходных материалов, инструментов и оборудования для эстетической медицины и косметологии

aestheticmed.ru

ОРГАНИЗАТОРЫ :

EXPOFORUM · Messe Düsseldorf Moscow · primexpo · ITE

www.pmfz.expoforum.ru
+7 (812) 240 40 40
0+

УДК 658.562

1 – ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик», 109044, Россия, г. Москва, Лавров переулок, 6

2 – Национальный фармацевтический университет, 61168, Украина, г. Харьков, ул. Валентиновская, 4

1 – The State Institution «State Institute of drugs and good practices», 6, Lavrov lane, Moscow, 109044, Russia

2 – National University of pharmacy, 4, Valentine str., Kharkiv, 61168, Ukraine

*** адресат для переписки:**
E-mail: shestakov@gilsinp.ru
Тел.: 8 (495) 676 43 60

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПОДГОТОВКИ ИНСПЕКТОРОВ GMP

В.Н. Шестаков[1]*, Ю.В. Подпружников[2]

Резюме. Рассмотрены и проанализированы основные требования к системе качества GMP-инспектората в части надлежащей подготовки инспекторов, обобщены международные рекомендации в этой сфере. Показано, что подготовку инспекторов следует организовывать и проводить на принципах системности, последовательности, профессиональности и выполнения международных рекомендаций по обучению. Разработана, утверждена и апробирована дополнительная профессиональная программа переподготовки специалистов «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств – теория и практика GMP-инспектирования/аудита». Разработанная программа может успешно использоваться как для подготовки GMP-инспекторов регуляторных органов государств-членов ЕАЭС, так и в перспективе, после некоторой адаптации – стран-членов БРИКС.

Ключевые слова: надлежащая производственная практика, программа подготовки GMP-инспекторов, контроль качества, аудит.

TOPICAL ISSUES OF TRAINING OF GMP INSPECTORS

V.N. Shestakov[1]*, Yu.V. Podpruzhnikov[2]

Abstract. The main requirements for a quality system of GMP-inspectorate in terms of inspectors' appropriate training were described and analyzed. The existing international recommendations in this area were summarized. It was shown that the training of inspectors should be organized and carried out on such principles as systemacy, consistency, professionalism and performance of the international recommendations on training. The additional professional retraining program for GMP inspectors/auditors was developed, tested, and approved. The developed program can be used successfully for training of GMP-inspectors from regulatory authorities of the states that are members of Eurasian Economic Union. The program can be used successfully for training of GMP-inspectors from regulatory authorities of the states that are members of BRICS after some adaptation also.

Keywords: Good Manufacturing Practice, GMP-training program for inspectors, quality control, audit.

ВВЕДЕНИЕ

Инспекционная деятельность является одной из основных составляющих регуляторной системы, касающейся любой надлежащей практики в сфере обращения лекарственных средств. Для построения, внедрения и эффективного функционирования регуляторной системы, касающейся фармацевтического производства, необходим инспекторат с соответствующими полномочиями, укомплектованный достаточным количеством специалистов [1]. Без такого «центра кристаллизации» осуществить предусмотренный законодательством реальный переход отрасли на требования надлежащей производственной практики (GMP) будет невозможно. Инспекторы, проверяющие соблюдение требований надлежащей производственной практики (GMP), должны иметь необходимое базовое образование, опыт работы и знания. Статья 10 соглашения «О единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза» (далее – Соглашение) предполагает ведение реестра фармацевтических инспекторов ЕАЭС [2]. Однако действующие, как нормативные, так и рекомендательные, национальные, межнациональные и международные документы не содержат конкретных требований к квалификации, опыту и подготовке GMP-инспекторов

Цель настоящей статьи – рассмотреть и обобщить основные требования к системе качества GMP-инспектората в плане подготовки инспекторов, проанализировать международные рекомендации в этой сфере, а также осветить первые значимые шаги, сделанные в России в данном направлении.

СУЩЕСТВУЮЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПОДГОТОВКЕ ИНСПЕКТОРОВ GMP

Общепризнанным является то, что функционирование GMP-инспектората в любой стране должно охватываться внутриинспекционной системой качества. Необходимость такого же рода системы качества предусмотрена Соглашением [2].

Построение и функционирование такой системы является достаточно непростой задачей, и возлагается она на сотрудников GMP-инспектората. Поэтому очень важным как для функционирования инспектората, так и для организации его работы в соответствии с внутренней системой качества является надлежащая подготовка инспекторов GMP. Основные требования к внутренней системе качества фармацевтического инспектората приведены в документах Международной организации по сотрудничеству фармацевтических инспекций PIC/S [3], ВОЗ [4], и Европейского медицинского агентства (EMA) [5]. Аналогичные требования вошли в проект документа, размещенный на официальном веб-сайте ЕЭК [6]. Исходя из требований указанных документов очевидно, что надлежащая подготовка GMP-инспекторов является неотъемлемой частью внутриинспекционной системы качества. Кроме начального обучения правилам GMP, должно проходить также последующее систематическое обучение по GMP.

В документе ВОЗ [4] указывается, что GMP-инспекторы должны иметь профильное высшее образование (как правило, химическое, фармацевтическое, микробиологическое). Отмечается, что опыт работы в производстве/контроле качества лекарственных средств (ЛС) не обязателен, но желателен. Инспектор должен знать требования GMP и инспекционные процедуры соответствующего национального регуляторного (надзорного, контрольного) органа. Перед проведением самостоятельного инспектирования каждый инспектор должен пройти соответствующее обучение в отношении действующих процедур и техники инспектирования, научиться аудиту систем менеджмента качества. Дальнейшее обучение инспекторов предполагает обучение в течение не менее 10 дней в году в форме, например тренинговых курсов, семинаров, конференций и проч. Для выполнения обязанностей инспектора GMP требуется наличие таких необходимых личностных качеств, как честность, тактичность и моральная устойчивость.

В документах PIC/S не содержится каких-либо конкретных рекомендаций по подготовке GMP-инспекторов, кроме того, что они должны проходить не менее чем 10-дневное ежегодное обучение. Отмечается, что инспекторы должны знать требования GMP соответствующего национального законодательства, а также уметь применять методологию оценки рисков. Они должны обладать знаниями современных технологий, в том числе компьютеризированных систем и информационных технологий. При этом в GMP-инспекторатах разных стран существуют различные подходы и требования к квалификации и подготовке персонала, в том числе внутриинспекционные требования к теоретическому и практическому обучению инспекторов.

Достаточно подробно излагаются требования к GMP-инспекторам в нормативных документах EMA [7]. Отмечается, что предпочтительно, чтобы инспекторы имели такой же уровень квалификации, какой указан в законодательных требованиях ЕС к уполномоченному лицу. Инспекторы должны знать систему лицензирования, государственной регистрации и государственного контроля качества ЛС. Необходимым считается обучение инспекторов, которое, в свою очередь, подразделяется на базовое (т.е. начальное), последующее (т.е. практическое обучение под руководством ведущего инспектора) и дальнейшее периодическое обучение в объеме не менее 10 дней в течение года (аналогично тому, которое упоминалось выше).

Базовое обучение при этом должно включать:

- фармацевтическое законодательство (национальное и ЕС);
- GMP и GDP;
- принципы обеспечения качества и системы менеджмента качества (ISO 9000:2000);
- технические аспекты производства готовых ЛС и фармацевтических субстанций (например, технологию производства, системы обеспечения производства, валидацию, компьютеризированные системы, аналитические приборы, микробиологию);
- организацию и систему качества надзорного органа/инспектората, практическое обучение в соответствии с СОПами по инспектированию;
- системы лицензирования и государственной регистрации ЛС, их взаимосвязь;
- взаимосвязь лицензирования, инспектирования, отбора образцов и их лабораторного контроля;
- соглашения о взаимном признании результатов инспектирования и соответствующие соглашения в рамках ЕС;
- структуру и принципы работы предприятий-производителей;
- технику инспектирования (обучение проводят путем участия в соответствующих курсах или практическом инспектировании под руководством квалифицированного GMP-инспектора);
- административные процедуры, необходимые для управления процессом инспектирования, такие как планирование, организацию, обмен информацией, обратную связь с инспектируемыми предприятиями;
- оценку полученных сведений и документальное оформление отчетов;

- фармацевтическую разработку, управление рисками для качества, фармацевтическую систему качества (включая имплементацию документов ICH Q8, Q9, Q10 [8–10]);
- деятельность и документы международных организаций (EDQM, ICH, PIC/S, WHO).

Если проанализировать опыт Украины (там правила GMP были введены первыми среди стран СНГ), то в Порядке подтверждения соответствия условий производства требованиям GMP существуют следующие требования к инспекторам. Это наличие высшего образования по одной из следующих специальностей: фармация, технология фармацевтических препаратов, химия, химическая технология, биология, биотехнология. Инспектору следует иметь опыт работы в производстве, контроле качества, управлении качеством или создании ЛС. Инспектор должен иметь подтверждение компетентности по вопросам GMP (т.е. успешно пройти такое обучение).

СИСТЕМЫ ПОДГОТОВКИ ИНСПЕКТОРОВ GMP

Как указывалось выше, в практике зарубежных GMP-инспекторатов не существует единых, т.е. унифицированных, требований к подготовке инспекторов, в основном объем и формы обучения определяются конкретными требованиями и подходами, заложенными в систему качества инспектората. На уровне PIC/S в 2013 году было принято решение организовать академию для обучения GMP-инспекторов, но этот проект будет в целом реализован только в 2019 году [11]. При PIC/S существует также комитет по организации тренингов. В 2012 году на базе GMP-инспектората Ирландии были организованы курсы для начинающих инспекторов. Затем указанные курсы изменили ориентацию: они были сориентированы на подготовку преподавателей для инспекторов, тренинг же начинающих инспекторов на этих курсах проводится примерно один раз в 2 года (тренинговый курс составляет 4–5 рабочих дней). В любом случае наличие инспекторской академии (обучение в ней предполагается исключительно в режиме вебинаров) и периодических курсов не отменяет необходимости постоянно действующей системы подготовки GMP-инспекторов на национальном уровне. В такой подготовке исключительно важным является то, что обучение должны проводить компетентные в сфере GMP преподаватели. На сегодняшний день также не существует международных рекомендаций в отношении того, каковым должен быть статус учебного заведения, на базе которого проводится подготовка инспекторов. В Дании, например, в течение ряда лет в сотрудничестве с ВОЗ работает колледж Pharmacon, который занимается подготовкой специалистов в области GMP как для инспекторатов, так и для предприятий-производителей ЛС. Типовая программа подготовки занимает 2 недели. В Украине более 10 лет существует ГП «Учебный центр по надлежащей производственной/дистрибьюторской практике», созданный в рамках программы Tacis, который также работает в вышеуказанном направлении (базовый курс GMP составляет 5 рабочих дней). Кроме того, существует ряд обучающих курсов при разного рода консалтинговых структурах как в России и странах СНГ, так и в дальнем зарубежье, претендующих на подготовку специалистов в сфере GMP. Ни одна из указанных организаций (кроме, возможно, колледжа Pharmakon) не является учебным заведением и не имеет лицензии на право ведения образовательной деятельности.

Возникает резонный вопрос: как правильно организовать систему обучения для GMP-инспекторов Российской Федерации? А то, что такая система необходима, не вызывает сомнений, учитывая последние изменения в нормативной базе в сфере обращения ЛС. В соответствии с этими изменениями в РФ будут регистрироваться только ЛС, производство которых отвечает требованиям GMP. Правила организации и проведения инспектирования производителей ЛС на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики были недавно утверждены правительством РФ [12]. Учитывая и анализируя как позитивный, так и негативный опыт подготовки инспекторов для GMP-инспекторатов разных стран, очевиден вывод о том, что подготовку инспекторов следует строить на принципах системности, последовательности, профессиональности и выполнении международных рекомендаций по обучению, указанных выше. Кроме того, безусловным приоритетом является соблюдение требований законодательства РФ к образовательной деятельности по дополнительным профессиональным программам (как повышения квалификации, так и профессиональной переподготовки) [13]. Исходя из вышеизложенного, оптимальным решением является подготовка инспекторов на базе организации, имеющей лицензию на образовательную деятельность, и проведение обучения по программе профессиональной переподготовки.

ПОДГОТОВКА ИНСПЕКТОРОВ GMP В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Учитывая приведенные международные рекомендации и придерживаясь указанных выше принципов, было принято решение о проведении подготовки GMP-инспекторов на базе одного из ведущих учреждений, которое аккредитовано Минпромторгом и уполномочено на проведение GMP-инспекций зарубежных производственных площадок. Это учреждение – ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП») – имеет достаточный организационный и кадровый по-

тенциал для решения возложенных на него задач в сфере GMP.

Для организации и проведения обучения инспекторов и аудиторов в сфере фармацевтического производства в ФБУ «ГИЛС и НП» была разработана дополнительная профессиональная программа переподготовки специалистов по испектированию и аудиту предприятий, производящих лекарственные средства (далее – Программа).

Отметим, что прообразом разработанной Программы была программа повышения квалификации специалистов, реализованная в 2013 году под эгидой МФТИ. Тогда же в рамках проведения такого обучения на кафедре инновационной фармацевтики и биотехнологии МФТИ прошли повышение квалификации и подтвердили свою компетентность 9 специалистов Минпромторга. Затем обучение было продолжено на различных семинарах и курсах (в т.ч. за рубежом). Силами этих специалистов с начала 2014 года было организовано плановое инспектирование российских предприятий на предмет их соответствия требованиям GMP.

Целью нынешней Программы является формирование компетенций, необходимых для надлежащей профессиональной деятельности в сфере инспектирования и аудита фармацевтических производств.

К освоению Программы допускаются лица, имеющие стаж работы в области производства и (или) контроля качества ЛС не менее трех лет. Требуется наличие высшего образования по одной из специальностей или одному из направлений подготовки: биология, биотехнология, ветеринария, клиническая медицина, радиационная, химическая и биологическая защита, фармация, фундаментальная медицина, химическая технология, химия. Обучаться также могут лица, завершившие образовательную программу профессиональной переподготовки специалистов по промышленной фармации.

Программа состоит из двух блоков: теоретического (18 модулей) и практического (4 модуля) курсов обучения, нормативный срок освоения программы – 252 ч (половина из которых – теория, а вторая половина – практика) с полным отрывом от производства. В теоретический курс включены модули, которые вошли в дополнительные профессиональные программы фармацевтического образования [14]. Среди этих модулей:

- государственная система регулирования обращения ЛС, обзор основных законодательных и подзаконных нормативных правовых актов РФ и международный опыт;
- основы фармакологии и биофармации;
- надлежащая дистрибьюторская практика;
- фармацевтическая разработка лекарственных препаратов;
- статистические методы, используемые в фармацевтическом производстве.

Основное содержание Программы в сфере GMP охватывает все главы части I, включает требования к производству фармацевтических субстанций, основные приложения и наиболее важные информационно-методические документы [8–10]. Теоретический материал сочетается с выполнением практических заданий и тестов по каждому пройденному модулю. Каждый этап подготовки инспекторов включает в себя детальную оценку компетентности обучаемых в процессе теоретического обучения, а также при организации и проведении учебных GMP-инспекций. В рамках программы предусмотрено получение не только глубоких теоретических знаний в сфере GMP, но и практические учебные инспекции (каждая учебная группа проводит не менее двух полномасштабных учебных инспекций) на ведущих российских фармацевтических предприятиях. Проводят обучение ведущие в области GMP специалисты из России и Украины, которые имеют международный авторитет и большой личный опыт в организации GMP-инспектората и проведении инспекций.

В результате полученного обучения инспекторы приобретают знания о принципах и детальных правилах организации производства и контроля качества ЛС, включая технические, организационные и иные требования. В результате освоения программы у слушателей формируются следующие компетенции:

- способность планировать, подготавливать, проводить GMP-инспекции (аудиты) фармацевтических производств на предмет соблюдения предприятиями установленных нормативными правовыми актами требований;
- способность оценивать выявленные несоответствия правилам организации производства и контроля качества ЛС, оформлять отчеты (акты) о проведенных проверках, оценивать эффективность корректирующих и предупреждающих действий предприятий в отношении устранения выявленных несоответствий и проч.

Разработанная Программа в 2015–2016 гг. была успешно использована для переподготовки специалистов в сфере GMP-инспектирования и аудита. В соответствии с утвержденным планом была сформирована группа из 35 специалистов. В группу входили сотрудники Департамента развития фармацевтической и медицинской промышленности Минпромторга, инспекционного отдела ФБУ «ГИЛС и НП», специалисты по производству препаратов для ветеринарии – сотрудники ФГБУ «ВГНКИ».

Завершение указанного цикла подготовки инспекторов позволит обеспечить полноценное функци-

онирование GMP-инспектората Российской Федерации, ориентированного на инспектирование как отечественных, так и зарубежных производственных площадок.

Разработанная программа может успешно использоваться как для подготовки GMP-инспекторов регуляторных органов государств-членов ЕАЭС, так и в перспективе, после некоторой адаптации – стран-членов БРИКС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Авторы провели детальный анализ международных рекомендаций, на основе которого были обобщены основные требования к подготовке GMP-инспекторов. Согласно данным проведенного исследования подготовку инспекторов следует организовывать и проводить на принципах системности, последовательности, профессиональности и выполнения международных рекомендаций по обучению. Такую подготовку следует проводить на базе организаций, имеющих лицензию на образовательную деятельность с привлечением специалистов в сфере GMP, имеющих международный авторитет.

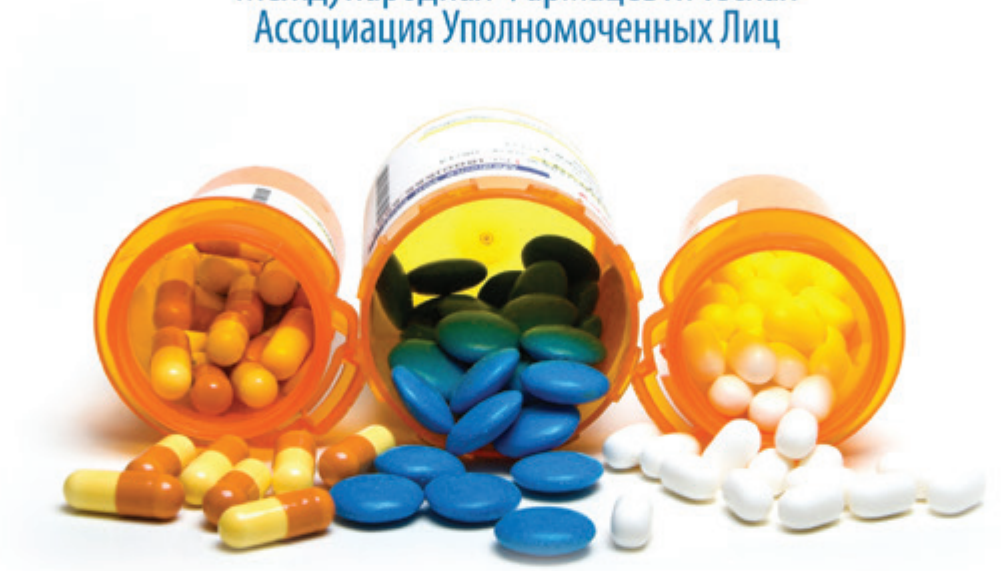
Учитывая наиболее успешные практики иностранных государств в области подготовки и переподготовки GMP-инспекторов, авторами разработана, утверждена и апробирована дополнительная профессиональная программа переподготовки специалистов по испектированию и аудиту предприятий, производящих лекарственные средства. Целью данной программы является подготовка инспекторов РФ для контроля соблюдения предприятиями-производителями требований GMP. В соответствии с утвержденной программой 35 специалистов прошли углубленный теоретический курс GMP и провели учебные инспекции на действующих фармацевтических предприятиях. Апробация разработанной программы подтверждает возможность ее применения для подготовки GMP-инспекторов регуляторных органов государств-членов ЕАЭС и в перспективе, после некоторой адаптации – стран-членов БРИКС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю.В. Подпружников. Актуальные вопросы совершенствования регуляторной системы в сфере обращения лекарственных средств // Менеджмент качества в сфере здравоохранения и социального развития. 2012. № 4. С. 88–93.
2. Соглашение о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза (заключено в г. Москве 23.12.2014).
3. Recommendation on Quality System Requirements for Pharmaceutical Inspectorates. PI 002-3, 25 September 2007. URL: http://www.picscheme.org/ (дата обращения 25.01.2016).
4. Quality systems requirements for national good manufacturing practice inspectorates WHO Technical Report Series. 2002. № 902. Annex 8. URL: http://www.who.int/ (дата обращения 25.01.2016).
5. Compilation of Community Procedures on Inspections and Exchange of Information. Quality Systems Framework for GMP Inspectorates. 2008. EMA/572454/2014. Rev 17. URL: http://www.ema.europa.eu (дата обращения 25.01.2016).
6. Общие требования к системе качества фармацевтических инспекторатов государств – членов Евразийского экономического союза (проект в ред. от 12.12.2014). Приложение к решению Совета Евразийской экономической комиссии. URL: http://www.eurasiancommission.org/ (дата обращения 25.01.2016).
7. Compilation of Community Procedures on Inspections and Exchange of Information. Guideline on Training and Qualifications of GMP Inspectors. 2008. EMA/572454/2014. Rev 17. URL: http://www.ema.europa.eu (дата обращения 25.01.2016).
8. Q8: Pharmaceutical development. URL: http://www.ich.org (дата обращения 25.01.2016).
9. Q9: Quality risk management. URL: http://www.ich.org (дата обращения 25.01.2016).
10. Q10: Pharmaceutical Quality System. URL: http://www.ich.org (дата обращения 25.01.2016).
11. Press release PIC/S meetings Geneva, Switzerland. May 2015. URL: http://www.picscheme.org/ (дата обращения 25.01.2016).
12. Правила организации и проведения инспектирования производителей лекарственных средств на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики, а также выдачи заключений о соответствии производителя лекарственных средств указанным требованиям. Утв. постановлением Правительства РФ от 3 декабря 2015 г. № 1314.
13. Порядок организации и осуществления образовательной деятельности по дополнительным профессиональным программам. Утвержден приказом Минобрнауки России от 1 июля 2013 г. № 499. Зарегистрирован в Минюсте России 20 августа 2013 г. № 29444.
14. Примерная дополнительная профессиональная программа повышения квалификации лиц, ответственных за производство, качество и маркировку лекарственных средств. Утверждена приказом Минздрава Российской Федерации от 22 января 2014 г. n 37н. Зарегистрирован в Минюсте России 18 апреля 2014 г. № 32030.

МФАУЛ

Международная Фармацевтическая Ассоциация Уполномоченных Лиц



Седьмая фармацевтическая неделя качества

Обеспечение качества лекарственных средств

2016

14-17 июня, Минск, Беларусь

www.pharm-quality.org

www.qp-association.ru

Партнер:

ВИАПЕК

Информационная поддержка:

Pharm-Med
Работа в фармацевтике и медицине

Чистые Помещения и технологические среды

Фармацевтическая отрасль

Научно-производственный журнал
Разработка и регистрация лекарственных средств

Фармацевтическая промышленность

Новости GMP

Pharmika
поиск & каталог

УДК 615.1, 615.47

1 – ОАО «Федеральный научно-технический центр метрологии систем экологического контроля «Инверсия» (ОАО ФНТЦ «Инверсия»), 107031, Россия, г. Москва, ул. Рождественка, 27

2 – Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт), 119049, Россия, г. Москва, Ленинский пр., 9

3 – ФГУП «Государственный завод медицинских препаратов» (ФГУП «ГосЗМП»), 111024, Россия, г. Москва, ш. Энтузиастов, 23

1 – Federal S&T Center «Inversiya», 27, Rozdestvenka str., Moscow, 107031, Russia

2 – Federal Agency on Technical Regulation and Metrology (Rosstandart), 9, Leninskiy pr., Moscow, 115093, Russia

3 – Federal State Unitary Enterprise State Pharmaceutical Plant (FSUE «GosZMP»), 23, Entuziastov highway, Moscow, 111024, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: andrey.sosnov@gmail.com

ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ АНАЛЬГЕТИКАХ

А.В. Соснов[1,3]*, С.С. Голубев[2], Б.С. Пункевич[1], С.В. Садовников[1], Ф.М. Семченко[3], В.Н. Тохмахчи[3], А.А. Соснова[3]

Резюме. На основе сравнительного анализа медицинского потребления сильнодействующих анальгетиков в экономически развитых странах обоснована необходимость увеличения отечественного производства субстанций сильнодействующих анальгетиков более чем на порядок, а также предложен список наиболее актуальных для производства анальгетиков как для хронических пациентов, так и для использования в чрезвычайных ситуациях. Показано, что производство субстанций сильнодействующих анальгетиков в РФ к 2020 г. должно составлять до 5–6 тонн в морфиновом эквиваленте. Данный объем учитывает необходимость расширения разнообразия лекарственных форм, удобных для пациента, включая трансдермальные, трансмукозальные, интраназальные и др. Доля природных и полусинтетических опиатных анальгетиков должна составлять не менее 50% от общего производства в морфиновом эквиваленте. Использование генно-модифицированных сортов опиумного мака позволяет получать сырье с заданным содержанием целевых алкалоидов. Предложено организовать производство контролируемых субстанций анальгетиков на одном из перепрофилируемых военных объектов, а также воссоздать биотехнологическое производство сырья на основе генно-модифицированных сортов мака. Данный подход позволит производить субстанции сильнодействующих анальгетиков в интересах всех фармпроизводителей РФ. Предложено организовать производство стандартных образцов (ГСО) состава и свойств фармацевтически значимых наркотических и психотропных веществ в интересах всех потребителей РФ – более 250 организаций в области промышленности, здравоохранения, обеспечения правопорядка и химической безопасности РФ.

Ключевые слова: наркотический анальгетик, фармацевтическая субстанция, полусинтетический анальгетик, морфиновый эквивалент, генно-модифицированный мак, стандартный образец.

ASSESSMENT OF THE RUSSIAN FEDERATION REQUIREMENT IN POTENT ANALGESICS

A.V. Sosnov[1,3]*, S.S. Golubev[2], B.S. Punkevich[1], S.V. Sadovnikov[1], F.M. Semchenko[3], V.N. Tohmahchi[3], A.A. Sosnova[3]

Abstract. According to comparative analysis of medical consumption of potent analgesics in economically developed countries was justified the need to increase production of active ingredients of potent analgesics in Russia by more than ten times. Also a list of the most relevant analgesics for production for chronic patients and for use in emergency situations was provided. It was shown that the production of substances of potent analgesics in Russia by 2020 should be increased up to 5–6 tons in morphine equivalent. This amount takes into account the need to expand diversity of dosage forms suitable for patient, including transdermal, transmucosal, intranasal, and others. The proportion of natural and semi-synthetic opioid analgesics should be at least 50% of the total production in morphine equivalent. Use of genetically modified varieties of opium poppy allows to obtain the raw material with a predetermined content of target alkaloids. It is proposed to organize production of active analgesics ingredients at one of repurposed military facilities, as well as recreate biotechnological production of raw materials on the basis of genetically modified varieties of poppy. This approach allows to produce active analgesics ingredients for all pharmaceutical manufacturers of Russian Federation. It is proposed to organize production of certified reference materials of significant pharmaceutical drugs and psychotropic substances for all Russian consumers – more than 250 licensed organizations in industry, health care, law enforcement, chemical safety and security. .

Keywords: narcotic analgesic, pharmaceutical ingredient, semi-synthetic opioid, morphine equivalent, genetically modified poppy, certified reference material.

ВВЕДЕНИЕ

Острый дефицит в РФ субстанций и препаратов анальгетиков для купирования синдрома сильной и средней боли различной природы (как по номенклатуре веществ, так и по объему производства в морфиновом эквиваленте) является хронической проблемой с выраженным социальным аспектом. Поэтому одним из наиболее актуальных направлений импортозамещения в области фармацевтики является создание отечественных производств сильнодействующих анальгетиков, а также близких к ним по ряду физиологических эффектов анестетиков и соответствующих им ветеринарных препаратов. Область сильнодействующих анальгетиков и анестетиков имеет ряд специфических особенностей, а именно: выраженные физиологические эффекты, действие в малых дозах, преимущественное фармацевтическое применение индивидуальных стереоизомеров, возможность создания разнообразных лекарственных форм (инъекционных, трансдермальных, интраназальных, ин-

галяционных и др.), побочные центральные эффекты (для действующих на ЦНС), вероятность развития различных зависимостей (при наличии наркотических или психотропных эффектов), отнесение большинства веществ к первому классу опасности, контроль и ограничение внутреннего оборота, контроль и учет импорта и экспорта субстанций и готовых форм, опасность незаконного использования в весьма разнообразных криминальных сценариях. Поэтому часть данных физиологически активных веществ находится под национальным и международным контролем, что накладывает специфику и ограничения на международную торговлю препаратами, субстанциями и их основными прекурсорами. Вещества с экстремально высокой активностью (эффективные дозы в области единиц мкг/кг, что, конечно, более характерно для ветеринарных препаратов, чем для фармацевтических) рассматриваются зарубежными авторами в качестве крайне опасных при криминальном использовании. Наркотические и психотропные компоненты лекарств и их прекурсоры подпадают под действие Конвенции ООН о борьбе с незаконным оборотом наркотических средств и психотропных веществ [1] и других соглашений [2–4]. Это не только усложняет и увеличивает стоимость закупки за рубежом (более субстанций, чем готовых препаратов), но и создает риск срыва поставок по широкому спектру форс-мажорных обстоятельств, включая возможные санкции.

За последние десятилетия во многих странах Западной Европы, в США, России и других странах с увеличивающейся долей пожилого населения отмечается неуклонный рост числа пациентов с выраженной хронической болью. Увеличение доли пациентов с хроническими болевыми синдромами связывают с ростом онкологической патологии (характерно для РФ, но не для США и ЕС); хроническими заболеваниями опорно-двигательного аппарата; бытового и производственного травматизма; травм, полученных в военных конфликтах (характерно для США) и стихийных бедствиях, а также проблемами адаптации населения к социальному стрессу [5]. Также следует отметить вероятность резкого увеличения потребности в таких препаратах при крупных чрезвычайных ситуациях, катастрофах и вооруженных конфликтах.

Поэтому создание отечественных производств субстанций сильнодействующих анальгетиков и анестетиков является не только актуальной, коммерчески и социально значимой задачей, но и необходимо для создания государственного резерва препаратов в рамках функционирования медицины катастроф и других государственных задач в области обеспечения безопасности.

С точки зрения фармакоэкономики мировой рынок препаратов для терапии боли демонстрирует устойчивый рост примерно 3,2% в год. Прогнозируется увеличение объема продаж препаратов анальгетиков и изделий на их основе в развитых странах с $37,8 млрд в 2015 г. до $40,8 млрд в 2020 г. [6]. С учетом вспомогательных препаратов и изделий, включающих средства терапии боли, глобальный рынок средств обезболивания оценивался примерно в $50 млрд в 2013 г. [7] (см. рисунок 1).

Рисунок 1. Структура рынка препаратов и изделий для терапии различных видов боли [8]

Опиаты занимают основную часть мирового рынка препаратов для терапии сильной и средней боли. На рисунке 2 представлена сравнительная динамика роста производства морфина, полусинтетических и синтетических опиатов. Понятие «статистическая условная суточная доза» (СУСД) используется в качестве условной единицы измерения для целей статистического анализа и не представляет собой рекомендуемую дозу приема. Эта единица используется в случае обобщения данных о наркотических средствах и психотропных веществах, имеющих разную силу действия и, следовательно, разную суточную дозировку, для того чтобы показать общее количество имеющихся в наличии веществ в сопоставимых единицах измерения. Из приведенных на рисунке 2 данных следует, что по количеству единичных доз препараты на основе морфина составляют примерно ¼ мирового потребления сильных анальгетиков и примерно столько же составляют полусинтетические опиаты, в основном получаемые на основе продуктов, экстрагируемых из маковой соломки и опия. Таким образом, мировой рынок опиатов в 2009 г. примерно на половину был обеспечен препаратами на основе природных веществ, получаемых из опийного мака. Общемировое производство опиатного сырья с высоким содержанием морфина оценивается до 700 тонн в морфиновом эквиваленте [9]. Наиболее заметно выросли объемы производства фентанила, который в пересчете на основе СУСД занимает первое место в мире среди синтетических опиатов по масштабам производства. По своему обезболивающему действию фентанил приблизительно в 100 раз превосходит морфин и применяется для анестезии в крайне малых дозах (0,005–0,1 мг в форме раствора для инъекций). Для снятия сильной боли в развитых странах все шире применяются пластыри с контролируемым высвобождением фентанила, которые содержат более высокие дозы этого вещества (могут использоваться до трех дней, но реально используется менее

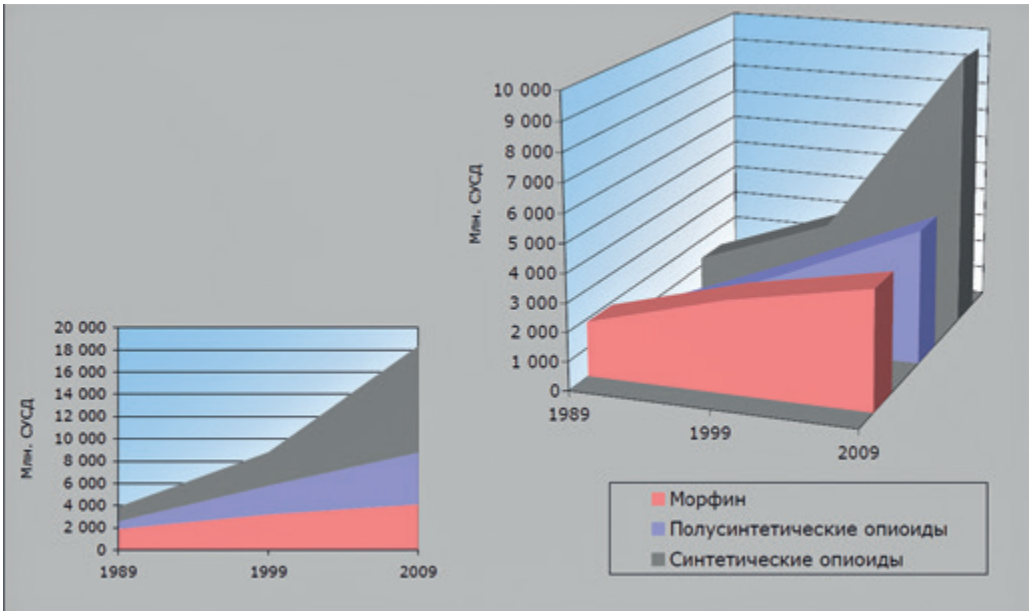


Рисунок 2. Динамика мирового производства опиатов для медицинского использования в миллионах статистических условных (поддерживающих) суточных доз (СУСД/S-DDD) за 20 лет [10]

50% вещества из состава пластыря), что также обусловливает рост производства фентанила. За 20 лет существенно выросли объемы мировой торговли наркотическими медицинскими средствами: морфином – в пять раз, фентанилом – почти в 300 раз, оксикодоном – более чем в 130 раз (рисунок 2).

В качестве альтернативы опиатам прогнозируется выход на рынок (в ближайшие 5 лет) сильнодействующих ненаркотических анальгетиков на основе природного тетродотоксина (ТТХ), которые смогут конкурировать с опиатами при купировании сильной и средней боли [11]. Это может увеличить объем продаж анальгетиков для потенциально трудоспособных пациентов и несколько изменить схемы купирования средней и сильной боли в целом.

ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ ПАЦИЕНТОВ РФ В СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ АНАЛЬГЕТИКАХ

Анализ текущей ситуации по обеспечению сильнодействующими анальгетиками в РФ можно провести на основе оценки ситуации медицинскими профессионалами РФ, а также на основе сравнения данных по объему и структуре потребления анальгетиков пациентами РФ и пациентами экономически развитых стран. Согласно мировой клинической практике к сильным анальгетикам принято относить главным образом вещества, действующие на центральную нервную систему (ЦНС), – химически разнообразные агонисты опиатных рецепторов (опиаты), а также некоторые антагонисты NMDA-рецептора и агонисты альфа-2-адренорецепторов, используемые в схемах мультимодальной анальгезии совместно с опиатами. К сильным анальгетикам также относят специфические препараты, вводимые исключительно интратекально, например зиконотид [12]. Среди сильных ненаркотических анальгетиков, действующих на периферическую систему передачи нервных импульсов (ПНС), можно выделить находящийся на заключительных стадиях клинических исследований блокатор фармакологически значимых натриевых каналов нейронов ПНС – тетродотоксин (ТТХ). Реально для терапии умеренной боли используются значительно более слабые (более чем в тысячу раз) ненаркотические местные анестетики и анальгетики – левобупивакоин и ропивакоин [11]. Дулоксетин – селективный ингибитор обратного захвата серотонина и норадреналина, в 2010–2012 гг. был одобрен в США и Канаде для терапии различных видов хронической боли средней интенсивности. В реальной клинической практике к сильнодействующим компонентам анальгетиков относят в основном опиаты и кетамин [13]. Эти вещества наиболее широко используются для купирования сильной и средней ноцицептивной и нейропатической боли. Препараты на их основе составляют более половины рынка средств терапии боли.

Для сравнения эквианальгетических доз наркотических анальгетиков и мощности анальгетического эффекта препаратов для человека широко используется (особенно в паллиативной медицине) термин «эквивалент морфина» (Morphine Equivalent Dose, MED). За единицу анальгетического действия вещества или препарата принимается пероральное действие 10 мг морфина. Для каждого вещества (с учетом его способа

введения в составе конкретного фармпрепарата) оценивается эквианальгетическая доза (мг) и относительная мощность действия в единицах MED [14]. Имеется практика оценки в MED потенциала и ненаркотических анальгетиков. Эквивалент морфина также используется в фармакоэкономических исследованиях для оценки потребности пациентов различных стран и регионов в препаратах сильных анальгетиков. Наиболее часто MED используется для оценки потребностей в препаратах для паллиативной анальгезии.

Потребность в анальгетиках для паллиативной помощи вносит основной вклад в оценку суммарной потребности РФ в сильнодействующих анальгетиках, поскольку РФ (наряду со странами Европы) является регионом с высокой потребностью в паллиативной анальгезии – 307–467 пациентов на 100000 чел. населения [14]. Наибольшую потребность в паллиативной анальгезии испытывают пациенты со злокачественными новообразованиями (ЗНО); ВИЧ-инфицированные, имеющие вторичные заболевания; пациенты с диабетом, сердечно-сосудистыми заболеваниями и хроническими обструктивными заболеваниями легких в последних стадиях. На рисунке 3 показана распространенность симптомов для различных категорий пациентов.

Согласно оценкам отечественных медицинских профессионалов в РФ в 2013 г. [16-18]:

- зарегистрировано всего 3,098 млн больных с ЗНО;
- зарегистрировано 535 887 новых случаев;
- умерло от ЗНО 288 636 взрослых и 998 детей (до 19 лет).

При этом частота развития хронической боли в зависимости от стадии развития опухоли составляет [18]: начальная стадия – 50%; распространенная стадия – 75–80%; терминальная стадия – до 90%.

Количество больных ВИЧ в РФ составляет более 1 млн человек, при этом число больных, имевших вторичные заболевания (на 2013 г.), – более 110 тыс. чел. [19]. Оценка выборки пациентов, имевших одно или несколько вторичных заболеваний (состояние тя-

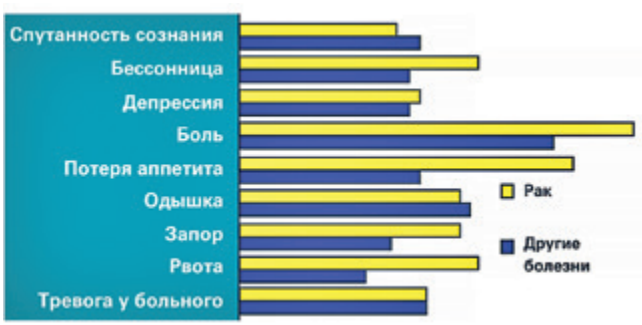


Рисунок 3. Распространенность патологических симптомов в течение финального года жизни больного [15]

желое – 14,7%, средней тяжести – 61,5%), показывает, что 69,7% имели хотя бы один вид боли, из них 44,1% страдали более чем одним видом боли. 67% пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и хроническими обструктивными заболеваниями легких в терминальной стадии нуждаются в интенсивном обезболивании [20]. Для 7–20% больных диабетом требуется купирование выраженной боли [21].

В настоящее время делаются попытки создать единый реестр номеров медицинских полисов застрахованных, которые нуждаются в наркотических и психотропных препаратах с обезболивающим действием [22].

По данным Международного комитета по контролю над наркотиками, Россия занимает 38-е место из 42 по доступности наркотического обезболивания в Европе и 82-е место в мире. В своем докладе Комитет привел сравнительные данные: в России уровень использования наркотических лекарств составил 107 статистических условных суточных доз (СУСД) на миллион человек в сутки. Показатель меньше 200 СУСД оценивается как недостаточный, а 100 СУСД – как крайне недостаточный. Иными словами, Россия относится к группе стран с недостаточным уровнем обеспечения такими препаратами. В США медицинское потребление наркотиков в 39 раз больше, чем в РФ, в Германии – в 19 раз, в Австрии – в 15 раз, во Франции – в 7 раз, в Белоруссии – в 2 раза [23].

В России, по расчётам Центра паллиативной помощи онкологическим больным, в обезболивании сильнодействующими анальгетиками нуждаются 433 тыс. человек [24]. Паллиативную анальгезию получали только 26358 больных, то есть всего 13,2% [24, 25]. Рациональный расход морфинового эквивалента на одного хронического неизлечимого пациента в терминальной стадии, по оценкам специалистов РФ, составляет примерно 6 г [25]. По оценкам специалистов США и ЕС – более 10 г [14]. По оценке ВОЗ, текущее среднее потребление морфина в РФ – от 0,1 до 1 г на одного пациента в терминальной стадии [14], общее потребление опиатов в морфиновом эквиваленте несколько выше.

Для оценки потребности пациентов РФ в препаратах сильнодействующих анальгетиков (только для паллиативной анальгезии) можно использовать две близкие по сути методики расчёта.

1. Оценку на основе общего числа нуждающихся в анальгезии (433 тыс. больных), сделанную профессионалами РФ в 2013 г. [25], без учета Крыма. При расходе 6 г морфинового эквивалента на одного пациента необходимо произвести 2598 кг морфинового эквивалента в год, при расходе 10 г на одного пациента – 4300 кг морфинового эквивалента в год.

2. Расчёт на основе оценки ВОЗ по региону Европа – Россия: нуждающимися в паллиативной помощи в конце жизни (в анальгезии нуждаются до 90%) являются от 307 до 467 пациентов на 100 тыс. населения. Согласно данным Росстата общая численность населения России на 1 января 2016 года составляет 146519759 человек (с Крымом) [26]. Таким образом, необходимо обеспечить потребность в анальгетиках от 405 до 615 тыс. больных, что составляет от 2430-4050 до 3690-5535 кг морфинового эквивалента в год.

Оценка минимально необходимого объема годового производства субстанций наркотических анальгетиков в РФ на основе СУСД дает в морфиновом эквиваленте 3,5–4 тонны при условии использования инъекционных препаратов. Принимая во внимание ускоренный рост доли неинвазивных препаратов сильных анальгетиков, например трансдермальных терапевтических систем (более удобных и атравматичных для хронических пациентов, но требующих большего расхода анальгетика), производство субстанций анальгетиков только для паллиативных пациентов должно составлять около 5 тонн/год в морфиновом эквиваленте.

В прогнозе на 2020 г. (год завершения госпрограммы «Фарма-2020» [27]) в качестве опорного значения только для паллиативных пациентов РФ можно оценить потребность в 5 тонн морфинового эквивалента в год. Реальное годовое производство отечественных анальгетиков в морфиновом эквиваленте в последние годы можно оценить в 300±30 кг морфинового эквивалента в год. В период 2009–2011 гг. средний показатель потребления морфинового эквивалента в РФ составлял 278,1 кг/год, что достаточно для нормального лечения примерно 45028 человек [25, 28]. Это составляет примерно 10% от числа нуждающихся в паллиативной анальгезии. Схемы мультимодальной анальгезии, например средний или сильный опиоид плюс/минус ненаркотический анальгетик плюс/минус адъювантное средство, позволяют несколько снизить остроту дефицита сильных анальгетиков в РФ, но не решают проблему в принципе. Сочетание дефицита сильных анальгетиков и несовершенства законодательства РФ создают еще и острый социальный аспект данной проблемы [29, 30].

В разделе А рекомендаций, касающихся обеспечения наличия наркотических средств и психотропных веществ, доклада Международного комитета по контролю над наркотиками ООН отмечено: «Правительствам следует оценивать фактические потребности национальных систем здравоохранения в веществах, находящихся под международным контролем; рассчитывать свои годовые потребности в таких веществах и своевременно представлять Комитету исчисления, касающиеся наркотических средств, и оценки потребностей в психотропных веществах. Если национальные потребности приближаются к нижней границе диапазона потребностей по региону, правительствам, возможно, следует критически изучить методы оценки своих медицинских потребностей в наркотических средствах и психотропных веществах» [23].

Таким образом, производство отечественных субстанций и препаратов сильнодействующих анальгетиков (реально в основном опиатов) является первостепенной медицинской и социальной государственной задачей. Производство в РФ должно быть увеличено более чем в 10 раз только для удовлетворения потребностей паллиативной анальгезии и составлять к 2020 г. (в пересчете на субстанцию) 4–5 тонн морфинового эквивалента в год. С учетом потребностей других категорий пациентов это количество должно быть увеличено.

В чрезвычайных ситуациях, вызванных стихийными бедствиями и антропогенными катастрофами, может возникать внезапная и острая потребность в лекарственных средствах, содержащих контролируемые вещества. Такая ситуация сложилась, например, после разрушительного землетрясения на Гаити в январе 2010 года. Тогда для оказания медицинской помощи многочисленным пострадавшим от землетрясения срочно потребовались контролируемые вещества, в частности морфин и пентазоцин [23]. Для решения этой проблемы ВОЗ в консультации с Комитетом разработала типовые руководящие принципы международного снабжения контролируемыми лекарственными средствами в целях оказания неотложной медицинской помощи [31].

Для интенсивного обезболивания военнослужащих стран НАТО в полевых условиях используются главным образом опиаты (морфин, фентанил) и кетамин [32–36]. Для гражданской предгоспитальной интенсивной анальгезии (prehospital analgesia) рекомендовано использовать: морфин, фентанил, кетамин, алфентанил, налбуфин, буторфанол, трамадол. Рекомендованными способами введения являются внутривенный и интраназальный [37]. Для экстренного купирования сильной боли в стационарных условиях (ED analgesia) рекомендованы кодеин и морфин [38], а также гидроморфон и фентанил [39–44] (в том числе интраназально [45–48] и трансбукально [49]). Эффективно, но менее распространено введение таких мощных опиатов, как суфентанил и алфентанил [50–57]. В РФ распространено внутримышечное или подкожное введение промедола для купирования сильной боли в экстренных ситуациях [58]. Препарат входит в состав аптечек индивидуальных (АИ), например АИ-3-1ВС [59]. Внутривенное введение промедола показано только в экстренных случаях для купирования сильной боли при травмах.

Из краткого обзора данных по анальгетикам для чрезвычайных ситуаций можно заключить, что наиболее востребованными в практике мощного обезболивания в развитых странах являются препараты на основе морфина, фентанила, кетамина, трамадола, гидроморфона, кодеина, оксикодона, альфентанила,

нальбуфина, буторфанола, пентазоцина, суфентанила, метадона. Для усиления действия мощных анальгетиков (без увеличения побочного эффекта респираторной депрессии) используются дексмедетомидин и реже клонидин. Предпочтительными способами введения являются внутривенный, интраназальный, внутримышечный. В армии США также используется трансмукозальный фентанил [60]. Подчеркивается, что интраназальное введение сильных анальгетиков является предпочтительным в ряде ситуаций предгоспитальной анальгезии [45–48, 53–55].

Оценка общей годовой потребности РФ в сильнодействующих анальгетиках складывается из потребности хронических пациентов; потребности при травматизме, чрезвычайных ситуациях и вооруженных конфликтах; необходимости создания и пополнения государственных запасов. Если оценить потребность в анальгетиках для чрезвычайных ситуаций и создания различных государственных запасов в размере 25% от суммарной годовой потребности паллиативных пациентов РФ, то общую потребность РФ в субстанциях сильнодействующих анальгетиков в морфиновом эквиваленте можно оценить в 5–6 тонн/год. Это составляет около 1% мирового производства сильнодействующих анальгетиков в морфиновом эквиваленте и примерно соответствует нижней границе стран ЕС по уровню медицинского потребления опиатов (в СУСД/млн чел.). При этом доля природных и полусинтетических опиоидных анальгетиков (получаемых исключительно из природного сырья) согласно мировой и российской практике должна составлять 50–70% от общей потребности в сильных анальгетиках.

ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ И ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОИЗВОДСТВА СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ АНАЛЬГЕТИКОВ

Сравнительный анализ данных с использованием рекомендаций Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) – «трехступенчатой лестницы обезболивания ВОЗ» [61–63], отечественных методических рекомендаций [64–66], перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2016 г. [67] и др. данных [68] позволяет выделить около 25 наиболее актуальных из широко используемых в отечественной и/или зарубежной клинической практике анальгетиков, анальгетиков/анестетиков и веществ, обеспечивающих за счет синергизма (в сравнимых терапевтических дозах) увеличение эффективности готового препарата для терапии сильной и средней боли. Это морфин, фентанил, алфентанил, ремифентанил, суфентанил, бупренорфин, трамадол, дигидрокодеин, декстропропоксифен, промедол, просидол, кетамин (S-кетамин), оксикодон, тапентадол, гидроморфон, кодеин, петидин, левофранол, пентазоцин, налбуфин и буторфанол, зиконотид, дексмедетомидин, дулоксетин, возможно, пентазоцин. Препараты на основе этих активных веществ составляют почти 2/3 рынка анальгетиков в развитых странах и относятся к строго контролируемым при медицинском использовании. Большая часть из них может быть оценена в морфиновом эквиваленте и учтена при оценке вклада в предложенную оценку необходимого суммарного производства анальгетиков в РФ в размере 5–6 тонн в морфиновом эквиваленте в год.

Морфин и вещества на его основе составляют около 2/3 общего объема производства субстанций сильнодействующих анальгетиков в РФ в морфиновом эквиваленте. Это соотношение примерно соответствует мировой практике. Особенность РФ заключается в существенно меньшем разнообразии как действующих веществ, так и препаратов на их основе, особенно пролонгированных атравматичных и удобных для пациента и медперсонала [11]. Увеличение производства продуктов переработки опиумного сырья с получением субстанции морфина и др. является наиболее простым и быстрым путем ликвидации острого дефицита сильных анальгетиков в РФ. Для этого необходимо увеличить производство субстанции морфина в несколько десятков раз. Морфин получают экстракцией из соломки и застывшего млечного сока (опия), очищают перекристаллизацией и осаждением при различных значениях pH. Используя современные технологии очистки алкалоидов опия, параллельно с морфином получают другие фармацевтически значимые энантиомерно чистые алкалоиды [69].

Всего в промышленности в настоящее время используется 21 алкалоид из опийного мака. Наиболее значимыми после морфина являются: тебаин – полупродукт для синтеза лекарств (например, гидрокодон, оксикодон, оксиморфон, налбуфин, налоксон, налтрексон, бупренофрин); кодеин – компонент лекарств; носкапин – компонент лекарств; папаверин – компонент лекарств; орипавин – полупродукт для синтеза лекарств; лауданин – полупродукт для синтеза лекарств; лауданозин – полупродукт для синтеза лекарств; лауданидин – полупродукт для синтеза лекарств; ретикулин – полупродукт для синтеза лекарств (оксикодон, кодеин, морфин) [70].

В настоящее время опийный мак для медицинских целей культивируется в основном в Турции, Афганистане, Австралии и Индии. Имеется тенденция к увеличению доли посевов генно-модифицированного мака с повышенным содержанием целевых алкалоидов. На рисунке 4 приведено сравнение содержания алкалоидов в латексном молочке натурального опийного мака с содержанием алкалоидов в его генных модификациях.

Активация гена cyp80b3, вовлеченного в третью стадию цепочки биосинтеза алкалоидов опия [синтез (S)-reticuline из (S)-norcoclaurine], приводит к значи-

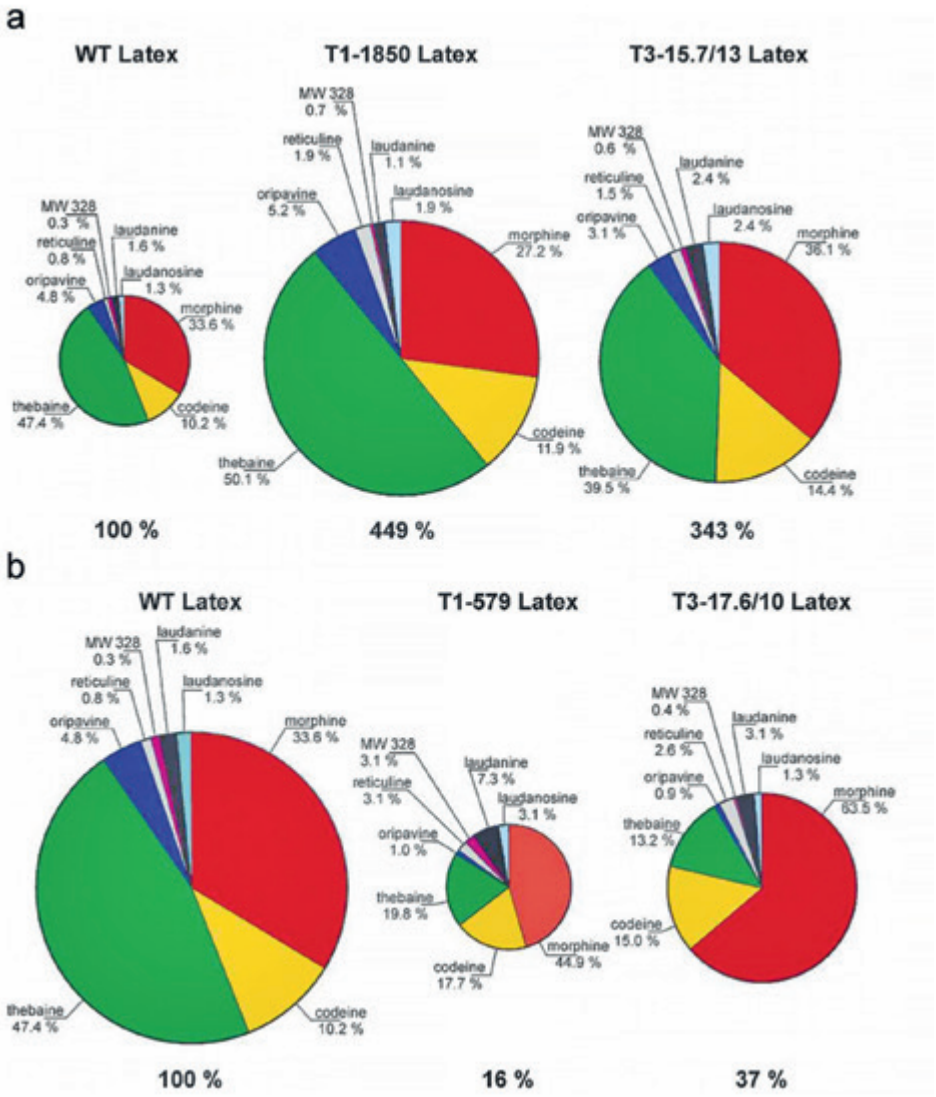


Рисунок 4. Сравнительное содержание алкалоидов в латексном молочке природного опиумного мака (WT Latex) в его генных модификациях [71]

тельному увеличению общего содержания алкалоидов в латексном молочке относительно исходного растения (wild type plant) [71] (рисунок 4a).

При этом увеличение общего содержания алкалоидов сопровождается незначительным изменением их соотношения.

Генные модификации опийного мака, приводящие к снижению общего содержания алкалоидов, существенно меняют соотношение содержания фармацевтически значимых веществ. При этом доля морфина в алкалоидах латексного молочка может быть увеличена в 2 раза (более 60% от общего содержания алкалоидов) в основном за счет снижения доли тебаина [71] (рисунок 4b).

Важно отметить, что производство контролируемых фармацевтических субстанций (КФС) и близких к ним по химической структуре промышленных полупродуктов обладает рядом особенностей, обусловленных спецификой действующих веществ, а именно:

- данные вещества включены в международные и/или российские списки ограниченного использования, например списки 2, 3, 4 перечня к закону 3-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах» [72], поэтому любая производственная деятельность в области КФС лицензируется и может осуществляться только на территории государственных предприятий;
- большинство веществ относится к первому классу опасности, поэтому их производство в РФ требует использования ГСО в процессе контроля безопасности и качества [73];
- по совокупности биологических и физико-химических свойств вещества представляют реальную опасность при незаконном использовании в раз-

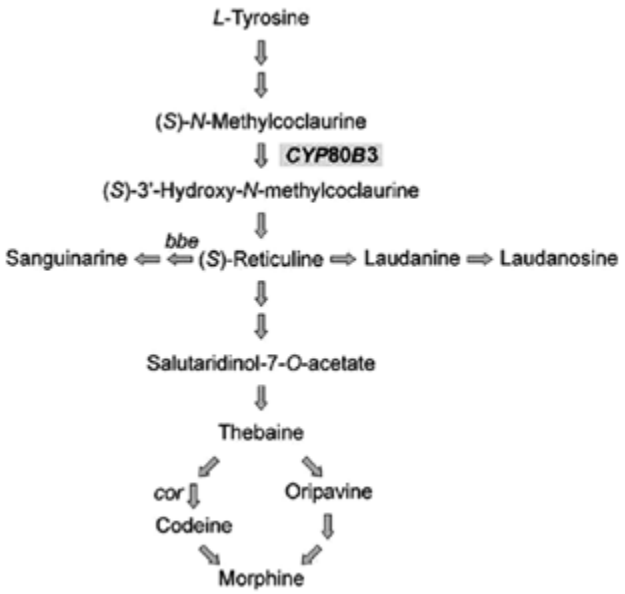


Рисунок 5. Схема биосинтеза алкалоидов опия [71]

личных формах и поэтому рассматриваются в развитых странах в рамках национальных программ «Security Science» как вероятные и опасные при систематическом криминальном использовании;

- имеются ограничения на международную торговлю субстанциями, веществами и прекурсорами;
- предъявляются особые требования к перевозке, хранению и утилизации.

Учитывая разнообразие и объем производства КФС наркотических анальгетиков, а также специфические требования к производственной и общественной безопасности, целесообразно организовать производство данных КФС на обособленных производственных объектах. В качестве одного из вариантов – на перепрофилированном бывшем объекте химического разоружения.

ПЕРЕПРОФИЛИРОВАНИЕ БЫВШИХ ВОЕННЫХ ОБЪЕКТОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ КЛАСТЕРОВ И ТЕХНОПАРКОВ

Основными предпосылками перепрофилирования потерявших военную значимость дорогостоящих промышленных объектов является наличие у них внутренней и внешней технологической инфраструктуры, транспортной инфраструктуры, кооперационных связей, а также потенциала развития на федеральном и местном уровнях. Прекращение работы объекта ведет к его деградации, в любом случае требуя серьезных расходов на поддержание инфраструктуры и консервацию.

В качестве весьма удачных зарубежных примеров перепрофилирования потерявших военное значение объектов можно привести:

- демилитаризацию и перепрофилирование концерна I.G. Farbenindustrie AG («И.Г. Фарбениндустри», в том числе разработка и производство ВВ и ОВ, Германия), который в 1952 г. был разделен на 12 компаний, в числе которых BASF, Bayer, Hoechst, Agfa, Sanofi [74];
- создание крупнейшего химико-фармацевтического технопарка Германии на базе закрытого завода Hoechst (бывший химико-технологический компонент концерна «И.Г. Фарбениндустри») [75];
- создание крупнейшего в мире кластера биотехнологий Biotech Beach (Biotech Beach area of San Diego), включающего научные и технологические центры ведущих фармацевтических и биотехнологических компаний, находящегося на территории перепрофилированной военной базы США [76].

К преимуществам создания промышленного кластера на базе перепрофилирования военного объекта (на примере выводимых из эксплуатации объектов химического разоружения) можно отнести уже имеющийся инфраструктурный и кадровый потенциал:

- наличие необходимой технологической и транспортной инфраструктуры: подъездных путей, выделенных энергетических мощностей, универсальных технологических решений по теплоснабжению, водоподготовке, промышленным хладагентам и экологии;
- наличие системы утилизации (замкнутый цикл) опасных отходов производства;
- наличие охраны и специфической инфраструктуры для безопасного производства наркотических субстанций;
- наличие инструментальной химико-аналитической базы, лаборатории по изготовлению аналитических стандартов и отдела контроля качества;
- оснащение всеми современными видами связи;
- наличие квалифицированного инженерного и технического персонала, имеющего опыт работы с веществами первого класса опасности;
- компактно расположенная жилая зона (вахтовый поселок);
- кооперация с профильными НИИ и вузами, необходимая для поддержания высокого уровня технологии производства, химико-аналитического и методического сопровождения работ.

Перепрофилирование объектов на выпуск продукции с высокой добавленной стоимостью соответствует задачам развития химического и хими-

ко-фармацевтического производства в РФ, а также задаче импортозамещения [77]. С учетом уже имеющейся инфраструктуры перепрофилирование дешевле и быстрее по сравнению с созданием нового объекта для производства сильнодействующих КФС и полупродуктов.

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОИЗВОДСТВА КФС НА ПЕРЕПРОФИЛИРУЕМОМ ПРОИЗВОДСТВЕННОМ ОБЪЕКТЕ

В рамках программы «Фарма-2020» и программы импортозамещения ФГУП «ГосЗМП» рассматривает создание химического производства фармсубстанций контролируемых веществ (1-й этап) производительностью до 5 тонн КФС (в морфиновом эквиваленте) в год. Параллельно при ведущем участии ОАО ФНТЦ «Инверсия» планируется создать систему химико-аналитического и метрологического сопровождения производства КФС и препаратов на их основе. На втором этапе планируется создание биотехнологического производства на основе отечественного природного сырья с использованием промышленных генно-модифицированных сортов опиумного мака. Предлагаемая схема создания отраслевого промышленного кластера представлена на рисунке 6.

Химико-фармацевтическое производство данных КФС (Производство № 1) включает 5 этапов.

1. Экстракция компонентов из природного сырья:

- объем производства – 5 т/год технического морфина;
- выделение промышленно значимых минорных компонентов (до 20 веществ), как анальгетиков, так и полупродуктов для синтеза.

2. Синтез фармацевтически значимых веществ:

- полусинтетических анальгетиков на основе веществ, экстрагируемых из опия (например, бупренорфина);
- синтетических анальгетиков (например, из класса фентанилов).

3. Получение субстанций из технических веществ:

- очистка до фармацевтических стандартов (технологии по стандартам GMP);
- контроль качества фармпродукции.

4. Инструментальный контроль и метрологическое сопровождение производства фармсубстанций и препаратов:

- разработка и выпуск ГСО;
- разработка методик анализа веществ в составе различных готовых форм;
- разработка и внедрение методологии обеспечения единства измерений в области контролируемых веществ и препаратов.

5. Цикл уничтожения отходов производства КФС и конфиската:

- химическая утилизация и/или сжигание;
- контроль входящих материалов и исходящих отходов.

Данное производство является высокотехнологичным и сложным (с точки зрения обеспечения промышленной безопасности), поскольку практически все целевые вещества представляют собой индивидуальные стереоизомеры алкалоидов с крайне высокой физиологической активностью, большинство из которых относятся к первому классу опасности. Это

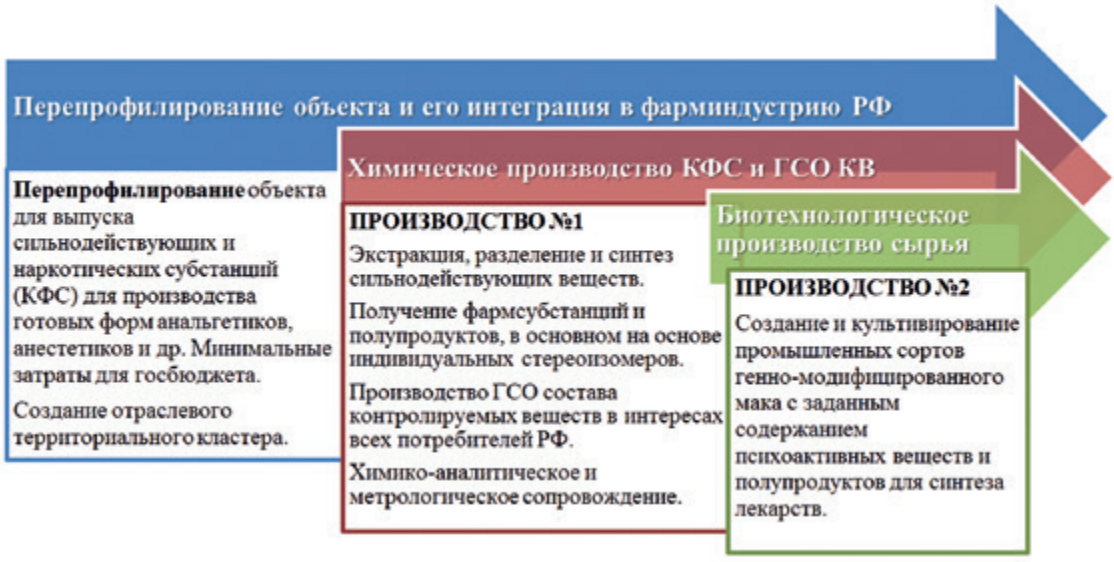


Рисунок 6. Схема создания производства КФС, получения биотехнологического сырья и метрологического сопровождения фармацевтического производства

требует внедрения производства КФС на основе самых современных химико-фармацевтических и химико-аналитических технологий. Соответственно, будет производиться уникальная продукция с высокой добавленной стоимостью.

В рамках задач биотехнологического производства исходного сырья (Производство № 2) планируется внедрение передовых технологий культивирования и переработки фармацевтически значимых растений с получением биотехнологической продукции с высокой добавленной стоимостью. На начальном этапе планируется отбор и экспериментальное культивирование нескольких видов генно-модифицированного опийного мака с заданным содержанием целевых алкалоидов. Этап включает отработку технологий экстракции, очистки и анализа индивидуальных стереоизомеров наркотических веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из проведенного анализа можно сделать следующие заключения и предложить направление работ для устранения дефицита сильнодействующих анальгетиков.

В России наблюдается острый дефицит субстанций сильнодействующих наркотических анальгетиков (как по номенклатуре веществ, так и по объему производства), что сдерживает развитие фарминдустрии и медицины в целом, в частности исключает развитие персонализированной анальгезии в РФ. Дефицит анальгетиков в РФ является не только острой медицинской, но и социальной проблемой.

Требуется увеличение производства КФС сильнодействующих анальгетиков более чем в 10 раз в морфиновом эквиваленте.

Для ликвидации дефицита данных КФС необходимо создать высокотехнологичный государственный химико-фармацевтический отраслевой кластер с мощностью производства КФС в 5-6 тонн морфинового эквивалента в год, что позволит обеспечить субстанциями всех отечественных фармпроизводителей. В свою очередь, производители готовых форм должны развивать производство удобных для пациента атравматичных лекарственных форм сильнодействующих анальгетиков.

Производство большей части сильнодействующих фармацевтических субстанций для фарминдустрии РФ целесообразно организовать на уже имеющемся, но требующем перепрофилирования государственном производственном объекте, что позволит сэкономить средства и время.

Целесообразно создать (воссоздать на современном уровне) отечественное биотехнологическое производство природного сырья (для получения из него индивидуальных стереоизомеров алкалоидов) на основе культивирования модифицированных сортов опийного мака с заданным содержанием фармацевтически значимых алкалоидов.

Реализация предлагаемой программы позволит создать производство КФС сильнодействующих анальгетиков в интересах всех фармпроизводителей РФ и в объеме, необходимом для удовлетворения потребностей здравоохранения РФ в анальгетиках для купирования сильной и средней боли.

Также должно быть организовано производство ГСО состава фармацевтически значимых наркотических и психотропных веществ в интересах всех потребителей РФ (более 250 лицензированных организаций) в рамках задачи обеспечения единства измерений как в интересах промышленности и здравоохранения (первый этап), так и в интересах обеспечения правопорядка и химической безопасности РФ (последующие этапы).

ЛИТЕРАТУРА

1. Конвенция ООН о борьбе против незаконного оборота наркотических средств и психотропных веществ. ООН. 1988. URL: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/pdf/illicit_drugs.pdf (дата обращения 15.02.2016).
2. Лакхнауское соглашение о принятии единообразных мер по контролю международной торговли прекурсорами и другими химическими веществами, используемыми при незаконном изготовлении наркотических средств и психотропных веществ. ООН. 1999. URL: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/pdf/lucknow.pdf (дата обращения 11.02.2016).
3. Конвенция о психотропных веществах. ООН. 1971. URL: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/pdf/substances1971.pdf (дата обращения 15.02.2016).
4. Единая конвенция о наркотических средствах 1961 года с поправками, внесенными в нее в соответствии с Протоколом о поправках к Единой конвенции о наркотических веществах 1961 года. URL: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/pdf/single1961.pdf (дата обращения 15.02.2016).
5. М.Л. Кукушкин. Принципы использования опиоидов при хронической нераковой боли. РМЖ. 2007. № 24. С. 1766.
6. Steady Growth in Drug and Device Markets for Pain Management. Market Research Report. BCC Research LLC. 2015.
7. Global Pain Therapy (Moderate to Severe) Market 2015 Report on Management of Pain. Life Science Industry Research. 2015. URL: http://www.prnewswire.com/news-releases/global-pain-therapy-moderate-to-severe-market-2015-report-on-management-of-pain-288713661.html (дата обращения 15.02.2016).

8. K.K. Jain. PharmaBiotech Report, Pain Therapeutics – Drugs, Markets & Companies. 2007.

9. Доклад Международного комитета по контролю над наркотиками за 2014 год. ООН (E/INCB/2014/1). 2015. URL: www.incb.org (дата обращения 15.02.2016).

10. Report of the International Narcotics Control Board on the Availability of Internationally Controlled Drugs: Ensuring Adequate Access for Medical and Scientific Purposes. 2010. URL: http://www.incb.org/documents/Publications/AnnualReports/AR2010/Supplement-AR10_availability_English.pdf (дата обращения 15.02.2016).

11. А.В. Соснов, С.В. Садовников, Ф.М. Семченко, К.А. Руфанов, В.Н. Тохмахчи, А.А. Соснова, И.А. Тюрин. Сильнодействующие ненаркотические анальгетики как направление развития фармацевтики // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 1(14). С. 196–206.

12. C. Smyth, N. Ahmadzai, J. Wentzel. Intrathecal Analgesia for Chronic Refractory Pain: Current and Future Prospects. Review Article // Drugs. 2015. V. 75 (17). P. 1957–1980.

13. S.H. Thomas. Management of Pain in the Emergency Department. ISRN Emergency Medicine // Hindawi Publishing Corporation. 2013. V. 2013. 19 p. URL: http://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/583132/ (дата обращения 15.02.2016).

14. S.R. Connor, M.C. Sepulveda Bermedo. Global Atlas of Palliative Care at the End of Life // WHO/Worldwide Palliative Care Alliance (WPCA). 2014. 103 p. URL: http://www.who.int/nmh/Global_Atlas_of_Palliative_Care.pdf (дата обращения 11.02.2016).

15. I. Higginson. Epidemiologically based needs assessment for palliative and terminal care. – Abingdon. Radcliffe Medical Press, 1997.

16. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. Злокачественные новообразования в России в 2013 г. (заболеваемость и смертность). МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. – М. 2015. URL: http://www.oncology.ru/service/statistics/malignant_tumors/2013.pdf (дата обращения 11.02.2016).

17. М.В. Пчелинцев. Современные подходы в выборе сильного опиоида для лечения интенсивной хронической боли // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ». Москва. 2015.

18. Г.Р. Абузарова. Доступность опиоидных анальгетиков в России. Что изменилось в 2015 // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ». Москва. 2015. URL: http://www.palliamed.ru/news/news_443.html (дата обращения 16.01.2016).

19. В.И. Шахгильдян. Организация паллиативной помощи больным ВИЧ-инфекцией // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ». Москва. 2015.

20. Д.В. Невзорова. Острые проблемы на пути становления паллиативной медицинской помощи в России // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ». Москва. 2015.

21. Г.Р. Абузарова, А.Д. Каприн. Нейропатическая боль в онкологии // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ». Москва. 2015.

22. М. Гусенко. Больная тема. В России появится реестр пациентов, которым нужно обезболивание // Российская газета. 2015. 26 октября. URL: http://www.rg.ru/2015/10/27/reestr.html (дата обращения 16.01.2016).

23. Доклад ООН «Наличие психоактивных средств, находящихся под международным контролем: обеспечение надлежащего доступа для медицинских и научных целей». Международный комитет по контролю над наркотиками. – Нью-Йорк, ООН. 2011. URL: http://www.un.org/ru/development/surveys/docs/incb2010.pdf (дата обращения 15.02.2016).

24. А.Д. Каприн. Фармакотерапия хронического болевого синдрома у взрослых пациентов при оказании паллиативной медицинской помощи в стационарных и амбулаторно-поликлинических условиях. Методические рекомендации. ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена». – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2015.

25. А.Д. Каприн, Р.Г. Абузарова. Фармакотерапия онкологической боли в России. Реальность и перспективы // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ». Москва. 2014. URL: www.palliamed.ru/files/download/file335.html (дата обращения 15.02.2016).

26. Население России: численность, динамика, статистика. URL: http://www.statdata.ru/russia (дата обращения 15.02.2016).

27. Государственная программа «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 20132020 годы. Минпромторг РФ. 2014. URL: http://minpromtorg.gov.ru/common/upload/files/docs/MinProm_02.06.14.pdf (дата обращения 15.02.2016).

28. Я.В. Власов, Е.В. Синеок, Н.П. Дронов. Анализ основных проблем доступности оказания паллиативной медицинской помощи онкобольным //

Вестник Росздравнадзора. 2015. № 4. URL: http://www.patients.ru/media/89001/vr-04-2015-press.pdf (дата обращения 15.02.2016).

29. И. Невинная. После выстрела. Смерть контр-адмирала заставила чиновников вспомнить об обезболивании // Российская газета – Неделя. 2014. № 6305 (33). URL: http://www.rg.ru/2014/02/13/lekarstva.html (дата обращения 15.02.2016).
30. И. Грацинская. Гуманизм по инструкции // Версия. № 13 от 06.04.2015. URL: https://versia.ru/process-obezbolivaniya-v-rossii-kontroliruyut-silovye-struktury (дата обращения 15.02.2016).
31. Model Guidelines for the International Provision of Controlled Medicines for Emergency Medical Care. World Health Organization. Document WHO/PSA/96.17. 1996.
32. S.A. Shackelford, M. Fowler, K. Schultz. Prehospital pain medication use by U.S. Forces in Afghanistan // Mil Med. 2015. V. 180(3). P. 304–309.
33. F.K. Butler, R.S. Kotwal, C.C. Buckenmaier, E.P. Edgar. A Triple-Option Analgesia Plan for Tactical Combat Casualty Care: TCCC Guidelines Change 13-04 // J. Spec. Oper. Med. 2014. V. 14(1). P. 13–25.
34. Acute Pain Management in the Field. Defense & Veterans Center for Integrative Pain Management // MARAA Book. DoD/VA. 2012. Chapt. 26. URL: http://www.dvcipm.org/files/maraa-book/chapt26.pdf/view (дата обращения 15.02.2016).
35. C. Buckenmaier, L. Bleckner. Military advanced regional anesthesia and analgesia handbook / Borden Institute, Walter Reed Army Medical Center. – NY: U.S. Government Printing Office, 2009. 154 p.
36. R. Thomas. Pain Management Task Force: Final Report. – London: DIANE Publishing, 2011. 160 p.
37. S.H. Thomas. Emergency Department Analgesia // Cambrige University Press. 2008. 432 p. URL: http://intmedical.ru/assets/files/books1/__Emergency_Department_Analgesia__An_Evidence_Based_Guide__Cambridge_Pocket_Clinicians_.pdf. An Evidence-Based Guide (дата обращения 15.02.2016).
38. Management of Pain in Adults. Excellence in Emergency Care. – L.: The College of Emergency Medicine, 2014. 12 p.
39. P. Tanabe, N. Artz, D.M. Courtney et al. Adult emergency department patients with sickle cell pain crisis: a learning collaborative model to improve analgesic management // Academic Emergency Medicine. 2010. V. 19(4) P. 430–438.
40. A.K. Chang, P.E. Bijur, A. Napolitano, J. Lupow, E.J. Gallagher. Two milligrams IV hydromorphone is efficacious for treating pain but is associated with oxygen desaturation // Journal of Opioid Management. 2009. V. 5(2). P. 75–80.
41. A.K. Chang, P.E. Bijur, E.J. Gallagher. Randomized clinical trial comparing the safety and efficacy of a hydromorphone titration protocol to usual care in the management of adult emergency department patients with acute severe pain // Annals of Emergency Medicine. 2011. V. 58. P. 352–359.
42. W.C. Krauss, S. Shah, S. Shah, S.H. Thomas. Fentanyl in the out-of-hospital setting: variables associated with hypotension and hypoxemia // Journal of Emergency Medicine. 2011. V. 40(2). P. 182–187.
43. S.H. Thomas, O. Rago, T. Harrison, P.D. Biddinger, S.K. Wedel. Fentanyl trauma analgesia use in air medical scene transports // Journal of Emergency Medicine. 2005. V. 29(2). P. 179–187.
44. B.R. Wenderoth, E.T. Kaneda, A. Amini, R. Amini, A.E. Patanwala. Morphine versus fentanyl for pain due to traumatic injury in the emergency department // Journal of Trauma Nursing. 2013. V. 20. P. 10–15.
45. M.N. Bulloch, A.M. Hutchison. Fentanyl pectin nasal spray: a novel intranasal delivery method for the treatment of breakthrough cancer pain // Expert Review of Clinical Pharmacology. 2013. V. 6. P. 9–22.
46. J.S. Furyk, W.J. Grabowski, L.H. Black. Nebulized fentanyl versus intravenous morphine in children with suspected limb fractures in the emergency department: a randomized controlled trial // Emergency Medicine Australasia. 2009. V. 21(3). P. 203–209.
47. S. Grassin-Delyle, A. Buenestado, E. Naline et al. Intranasal drug delivery: an efficient and non-invasive route for systemic administration: focus on opioids // Pharmacology and Therapeutics 2012. V. 134. P. 366–379.
48. M.S. Hansen, J.B. Dahl. Limited evidence for intranasal fentanyl in the emergency department and the prehospital setting—a systematic review // Danish Medical Journal. 2013. V. 60. P. 1–6.
49. A.O. Arthur, P. Holder. A review of transbuccal fentanyl use in the emergency department // Pain Research and Treatment. 2012. V. 3. 3 p. URL: http://www.hindawi.com/journals/prt/2012/768796/ (дата обращения 11.02.2016).
50. J.A. Ellerton, M. Greene, P. Paal. The use of analgesia in mountain rescue casualties with moderate or severe pain // Emergency Medicine Journal. 2013. V. 30. P. 501–505.
51. H.S. Smith. Considerations in selecting rapid-onset opioids for the management of breakthrough pain // Journal of Pain Research. 2013. V. 6. P. 189–200.
52. P.M. Middleton, P.M. Simpson, G. Sinclair, T.A. Dobbins, B. Math, J.C. Bendall. Effectiveness of morphine, fentanyl, and methoxyflurane in the prehospital setting // Prehospital Emergency Care. 2010. V. 14 (4). P. 439–447.
53. S. Kapoor. Intranasal sufentanil and its emerging clinical applications: beyond its role in the emergency

department // Journal of Opioid Management. 2012. V. 8. P. 341.

54. R. Stephen, E. Lingenfelter, C. Broadwater-Hollifield, T. Madsen. Intranasal sufentanil provides adequate analgesia for emergency department patients with extremity injuries // Journal of Opioid Management 2012. V. 8. P. 237–241.

55. J. Steenblik, M. Goodman, V. Davis et al. Intranasal sufentanil for the treatment of acute pain in a winter resort clinic // American Journal of Emergency Medicine. 2012. V. 30. P. 1817–1821.

56. V. Bounes, R. Barthélémy, O. Diez, S. Charpentier, J.L. Montastruc, J.L. Ducassé. Sufentanil is not superior to morphine for the treatment of acute traumatic pain in an emergency setting: a randomized, double-blind, out-of-hospital trial // Annals of Emergency Medicine. 2010. V. 56(5). P. 509–516.

57. T. Silfvast, L. Saarnivaara. Comparison of alfentanil and morphine in the prehospital treatment of patients with acute ischaemic-type chest pain // European Journal of Emergency Medicine. 2001. V. 8(4). P. 275–278.

58. Промедол // М.Д. Машковский. Лекарственные средства. Справочник. URL: http://mashkovsky.ru/tiki-index.php?page=%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%BB (дата обращения 15.02.2016).

59. Аптечка индивидуальная АИ-3-1ВС. URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%98-3_%D0%92%D0%A1 (дата обращения 16.01.2016).

60. I.S. Wedmore, R.S. Kotwal, J.G. McManus. Safety and efficacy of oral transmucosal fentanyl citrate for prehospital pain control on the battlefield // J Trauma Acute Care Surg. 2012. V. 73(6/5). P. 490–495.

61. D.G. Harris. Management of pain in advanced disease // British Medical Bulletin. 2014. V. 110. P. 117–128.

62. A.E. Patanwala, J. Duby, D. Waters, B.L. Erstad. Opioid conversions in acute care // Ann Pharmacother. 2007. V. 41(2). P. 255–266.

63. A.M. Trescot, S. Helm, H. Hansen, R. Benyamin, S.E. Glaser, R. Adlaka, S. Patel, L. Manchikanti. Opioids in the management of chronic non-cancer pain: an update of American Society of the Interventional Pain Physicians (ASIPP) Guidelines // Pain Physician. 2008 V. 11(2). P. 5–62.

64. В.А. Семенченя, О.М. Конопацкова, Е.А. Валах. Некоторые аспекты медикаментозного лечения хронической боли онкологического генеза. Методические рекомендации для врачей. – Саратов. 2014. 26 с. URL: http://minzdrav.saratov.gov.ru/activities/metod_rek.pdf (дата обращения 22.02.2016).

65. Н.Н. Савва и др. Фармакотерапия персистирующей боли у детей и подростков при оказании паллиативной помощи в стационарных и амбулаторно-поликлинических условиях. Клинические рекомендации. МЦППД ГУЗ НПЦ департамента здравоохранения г. Москвы. 2014. 23 с.

66. А.Д. Каприн и др. Фармакотерапия хронического болевого синдрома у взрослых пациентов при оказании паллиативной медицинской помощи в стационарных и амбулаторно-поликлинических условиях. Методические рекомендации ФМИЦ им. П.А. Герцена М3 РФ. Москва. 2015. URL: http://zdrav.tomsk.ru/storage/69435/metodicheskie-rekomendacii.pdf (дата обращения 22.02.2016).

67. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2016 г. Распоряжение Правительства РФ № 2724-р от 26 декабря 2015.

68. J. Markman, S.K. Narasimhan. Treatment of Pain. Merck Manual Professional Version. http://www.merckmanuals.com/professional/neurologic-disorders/pain/treatment-of-pain (дата обращения 15.02.2016).

69. W.R. Heumann. The manufacture of alkaloids from opium // UNODC. 1957. P. 34-40. URL: https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/bulletin/bulletin_1957-01-01_2_page007.html (дата обращения 15.02.2016).

70. Bernd Schaefer. Natural Products in the Chemical Industry // Springer. 2014. 831 p.

71. S. Frick et al. Metabolic engineering with a morphine biosynthetic P450 in opium poppy surpasses breeding // Metabolic Engineering. 2007. V. 9. P. 169–176.

72. Федеральный закон «О наркотических средствах и психотропных веществах» (редакция, действующая с 1 января 2016 года) URL: http://docs.cntd.ru/document/9056021 (дата обращения 15.02.2016).

73. А.В. Соснов, С.С. Голубев, Б.С. Пункевич, С.В. Садовников, Е.М. Загребин, И.С. Родина, Ф.М. Семченко, А.А. Соснова. Стандартные образцы контролируемых сильнодействующих компонентов препаратов анальгетиков // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 1(14). С. 216–223.

74. I.G. Farben // Википедия. URL: https://de.wikipedia.org/wiki/I.G._Farben (дата обращения 15.02.2016).

75. The Industriepark Höchst – A Success Story. URL: http://www.industriepark-hoechst.com/en/index/industriepark/tradition-zukunft.htm (дата обращения 15.02.2016).

76. The Biotech Beach. URL: http://www.biospace.com/hotbed.aspx?regionid=12 URL: https://www.youtube.com/watch?v=Ycy5ipFvLIk (дата обращения 15.02.2016).

77. О промышленной политике в Российской Федерации. Федеральный закон. Утвержден распоряжением Правительства № 488-ФЗ РФ от 31.12.2014 (ред. от 13.07.2015).

BUCHI
SWITZERLAND

Rotavapor® R-300

Больше удобства. Больше эффективности. Больше для вас.

Задачи ротационного упаривания не изменились. Изменилось решение. Абсолютно новая система Rotavapor® R-300 упростит вашу жизнь и освободит время:

- Управляйте всеми параметрами процесса с помощью единого интерфейса
- Получайте push-уведомления на ваш смартфон о статусе процесса
- Упаривайте даже пенящиеся образцы без необходимости наблюдения
- Автоматизируйте ваши индивидуальные методики при помощи программируемых SOP

Дистрибьютор

Фармконтракт
группа компаний

+7 (495) 252-00-98
(Центральный офис в Москве)
8 (800) 333-42-24
(Бесплатный звонок по России)

www.phct.ru
info@phct.ru

www.buchi.com/rotavapor

Quality in your hands

УДК 615.2 + 347.771

1 – Агентство патентных поверенных «АРС-Патент», 197101, Россия, г. Санкт-Петербург, Певческий переулок, 12А, БЦ «Light House», оф. 401

1 – Patent Attorney Agency «ARS-Patent», Business Center «Light House», of. 401, 12A, Pevchesky pereulok, St. Petersburg, 197101, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: osipov@ars-patent.com
Тел.: 8 (812) 600 67 07

ПРОДЛЕНИЕ СРОКА ДЕЙСТВИЯ ПАТЕНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В РОССИИ (ОБЗОР ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ)

К.В. Осипов[1]*

Резюме. В статье описана процедура продления срока действия патента на изобретение, относящееся к лекарственному средству, и выдачи дополнительного патента в свете новелл Гражданского кодекса Российской Федерации. Даны рекомендации по составлению патентных заявок на такие изобретения.

Ключевые слова: патент, изобретение, лекарственное средство, срок действия патента, дополнительный патент.

TERM EXTENSION OF DRUG PATENTS IN RUSSIA (REVIEW OF LEGISLATION AMENDMENTS)

K.V. Osipov[1]*

Abstract. The article describes the procedure of patent term extension to be granted on inventions relating to drugs and of granting a supplementary patent in view of recent amendments introduced in the Civil Code of the Russian Federation. Some advices are given on drafting patent applications on such inventions.

Keywords: patent, invention, drug, patent validity term, supplementary patent.

ВВЕДЕНИЕ

Патентование лекарственных средств занимает особую нишу среди объектов интеллектуальной собственности, охрана которых предусмотрена в России [1]. Динамичное развитие фармацевтической отрасли как в мире в целом, так и в России в частности приводит к потребности в эффективном правовом регулировании защиты инноваций в этой сфере.

Фармацевтические субстанции, композиции и лекарственные препараты, способы их получения, а также способы лечения или профилактики с их использованием получают патентную охрану как изобретения. Для защиты изобретений на территории России возможно получение двух типов патентов.

Первый – национальный патент Российской Федерации, выдаваемый Роспатентом в рамках требований четвертой части Гражданского кодекса Российской Федерации, который является основополагающим законом, регулирующим отношения в сфере интеллектуальной собственности.

Второй вид патентов – евразийские патенты, которые выдаются Евразийской патентной организацией (ЕАПО) в соответствии с Евразийской патентной конвенцией и подчиненными ей нормативными правовыми актами. Помимо России, такие патенты одновременно могут действовать и в других странах – членах ЕАПО, таких как Белоруссия, Казахстан, Таджикистан, Туркмения, Армения, Азербайджан и Киргизия.

В настоящей статье проводится анализ последних изменений норм российского патентного законодательства, связанных с продлением срока действия патента на изобретение, относящееся к лекарственному средству, и выдачей дополнительного патента, с целью ознакомить читателей с особенностями данных процедур и снабдить их рекомендациями по составлению патентных заявок, которые позволят избежать проблем с получением и действием дополнительного патента.

ПРОДЛЕНИЕ СРОКА ДЕЙСТВИЯ ПАТЕНТА

Как российский, так и евразийский патент действует в течение 20 лет с даты подачи заявки. Однако для патентов на изобретения, относящихся к лекарственному средству, пестициду или агрохимикату, российским законодательством предусмотрена возможность продления срока их действия на период свыше 20 лет. Поскольку продление срока действия евразийских

патентов осуществляется на территории каждой из стран – членов ЕАПО по отдельности в соответствии с требованиями национального законодательства, продление срока действия евразийских патентов на территории России также возможно.

Такая возможность призвана компенсировать временные потери патентообладателей в указанных сферах хозяйственной деятельности, которые связаны с установленными государственными органами требованиями по получению разрешений на применение запатентованных субстанций, что объективно сокращает срок патентной монополии на использование таких изобретений.

Для лекарственных средств указанным разрешением являются регистрационные удостоверения лекарственного препарата для медицинского или ветеринарного применения, выдаваемые при регистрации в соответствующем государственном реестре.

Норма, регламентирующая продление срока действия патента на изобретение, содержится в пункте 2 статьи 1363 Гражданского кодекса РФ [2]. В соответствии с указанной нормой срок продлевается на время, прошедшее с даты подачи заявки на выдачу патента на изобретение до дня получения первого разрешения на применение продукта, за вычетом пяти лет, но не более чем на пять лет. Заявление о продлении срока подается патентообладателем в период действия патента до истечения шести месяцев со дня получения первого разрешения на применение продукта или с даты выдачи патента в зависимости от того, какой из этих сроков истекает позднее.

Продление может быть испрошено только в отношении запатентованного продукта как такового, то есть химического соединения, которое используется в качестве лекарственного средства, либо фармацевтической композиции. Способы получения фармацевтических субстанций, так же как и способы лечения или профилактики с их использованием, не являются изобретениями, срок действия патента в отношении которых может быть продлен.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОРЯДКА ПРОДЛЕНИЯ СРОКА ДЕЙСТВИЯ ПАТЕНТА

С 1 января 2015 года вступили в силу изменения, внесенные в статью 1363 Гражданского кодекса РФ. Эти изменения коснулись объема продлеваемой патентной монополии.

До вступления указанных изменений в силу срок действия патента продлевался в отношении целых пунктов формулы изобретения выданного патента, в объем которых входил продукт согласно полученному разрешению. Продление срока действия патента подтверждалось выдачей патентообладателю «Приложения к патенту» с указанием конкретных пунктов формулы изобретения, в отношении которых срок действия продлен.

Для наглядности рассмотрим пример. Наиболее распространенной формой защиты новых химических соединений в пункте формулы изобретения является так называемая формула Маркуша (или структура Маркуша), представляющая собой структурную формулу, как правило, с несколькими заместителями, каждый из которых имеет несколько различных значений [3]. Исходя из возможности различного сочетания значений каждого заместителя, такая структура Маркуша соответствует большому количеству соединений. Тем не менее срок действия патента продлевался в отношении всего объема данного пункта формулы на основании разрешения, полученного только на одно конкретное соединение, входящего в объем указанного пункта.

С 1 января 2015 года, согласно внесенным в статью 1363 Гражданского кодекса РФ изменениям, при продлении срока действия выдается дополнительный патент с формулой, содержащей совокупность признаков запатентованного изобретения, характеризующую продукт, на применение которого получено разрешение. Таким образом, дополнительный патент будет защищать не весь объем пункта формулы изобретения первоначально выданного патента, а лишь конкретный продукт, применение которого на территории Российской Федерации разрешено. Например, если пункт формулы изобретения первоначально выданного патента защищал группу химических соединений, охарактеризованных структурой Маркуша, а разрешение на применение получено патентообладателем только на одно конкретное соединение из запатентованной группы, то и выданный дополнительный патент будет защищать только данное конкретное соединение.

Очевидно, что это нововведение сделано в пользу третьих лиц, так как патентообладатель лишается права на продление срока действия в отношении значительной части объема патентной защиты. По всей видимости, законодатель посчитал такое смещение баланса интересов справедливым, поскольку патентообладатель сохраняет на срок действия дополнительного патента монополию на зарегистрированный фармацевтический продукт (соединение или композицию), то есть на тот продукт, который будет им реально использоваться, тогда как прочие из запатентованных продуктов переходят в общественное достояние и могут в дальнейшем свободно использоваться третьими лицами. Кроме того, это нововведение является лишь одной из новелл Гражданского кодекса, внесенных в 2014 году, целью которых является гармонизация российского патентного законодательства с таковым стран Европы.

Недавно Министерство экономического развития Российской Федерации утвердило «Административный регламент предоставления Федеральной службой

по интеллектуальной собственности государственной услуги по продлению срока действия исключительного права на изобретение и удостоверяющего это право патента» [4] и «Порядок продления срока действия патента на изобретение, выдачи и действия дополнительного патента» [5], которые установили соответствующую процедуру и связанные с ней требования. Регламент и Порядок вступили в действие с 8 января 2016 года.

Следует отметить, что срок подачи комплекта документов для продления срока патентной защиты и выдачи дополнительного патента не изменился: соответствующее заявление должно быть подано патентообладателем в период действия первоначально выданного патента до истечения шести месяцев со дня получения первого разрешения на применение продукта или с даты выдачи патента в зависимости от того, какой из этих сроков истекает позднее, при условии, что с даты подачи заявки на выдачу патента до дня получения первого разрешения на применение прошло более пяти лет.

Комплект представляемых документов должен включать:

– заявление согласно установленной Регламентом форме,

– согласие субъектов персональных данных, указанных в заявлении, на обработку персональных данных по форме согласно Регламенту,

– формулу изобретения, содержащую совокупность признаков запатентованного изобретения, характеризующую продукт, на применение которого получено разрешение,

– доверенность, если подача документов осуществляется через представителя,

– регистрационное удостоверение лекарственного препарата, которое является первым разрешением на применение изобретения. Согласно Федеральному закону «Об обращении лекарственных средств» первым разрешением на применение изобретения, относящегося к лекарственному средству, является регистрационное удостоверение лекарственного препарата сроком действия пять лет, а днем получения первого разрешения является дата регистрации лекарственного средства, указанная в регистрационном удостоверении лекарственного препарата,

– сведения о включении Министерством здравоохранения Российской Федерации фармацевтической субстанции в Государственный реестр лекарственных средств для медицинского применения.

При подаче документов уплачивается соответствующая пошлина за продление срока действия исключительного права на изобретение. Если пошлина не будет уплачена, то в продлении срока действия исключительного права на изобретение и удостоверяющего это право патента отказывается.

Необходимо также отметить, что заявление должно быть представлено в отношении зарегистрированного изобретения, правовая охрана которого не прекращена или не признана недействительной. Другими словами, первоначально выданный патент на момент подачи заявления на выдачу дополнительного патента должен быть действующим. В противном случае вместе с заявлением необходимо представить ходатайство о восстановлении патента, действие которого было прекращено в связи с тем, что патентная пошлина за поддержание его в силе не была уплачена в установленный законодательством срок.

При соблюдении перечисленных выше требований осуществляется проверка того, характеризует ли представленная формула изобретения продукт, который относится к лекарственному средству и на применение которого получено разрешение. Формула изобретения признается таковой, если:

– в формуле изобретения продукт охарактеризован в виде соединения или группы соединений, описываемых общей структурной формулой, и из описания изобретения следует возможность его (ее) использования в качестве активного ингредиента лекарственного средства; при этом совокупность признаков, определяющих объем правовой охраны продукта, характеризующих соединение или группу соединений, описываемых общей структурной формулой, идентична активному ингредиенту лекарственного средства, указанного в полученном разрешении на применение этого продукта, а описание изобретения содержит информацию о том, что соединение или группа соединений, описываемых общей структурной формулой, обладает такой активностью, которая позволяет его (ее) использовать в указанном в разрешении лекарственном средстве;

– в формуле изобретения продукт охарактеризован в виде композиции лекарственного средства определенного назначения, совокупность признаков, определяющих объем правовой охраны продукта, характеризующих композицию, указанную в формуле изобретения, идентична характеристике композиции лекарственного средства, указанной в разрешении (назначением, составом, формой, если она приведена в формуле изобретения или следует из состава композиции).

Если же какое-либо из указанных выше требований не соблюдено, патентообладателю направляется запрос с указанием оснований, по которым срок действия патента не может быть продлен и дополнительный патент не может быть выдан, и предложением в течение трех месяцев со дня направления указанного запроса представить дополнительные материалы. Срок ответа на такой запрос может быть продлен по

ходатайству патентообладателя, но не более чем на десять месяцев.

При удовлетворении заявления о продлении срока действия патента обладателю основного патента выдается дополнительный патент, содержащий следующие сведения:

– наименование или фамилию, имя, отчество патентообладателя;

– регистрационный номер дополнительного патента;

– регистрационный номер первоначального патента;

– номер и дату регистрации первого разрешения на применение продукта;

– дату подачи заявления;

– срок действия исключительного права на изобретение по дополнительному патенту;

– дату внесения записи о продлении срока действия патента в соответствующий государственный реестр;

– формулу изобретения, содержащую совокупность признаков запатентованного изобретения, характеризующих продукт, на применение которого получено разрешение.

Как указано выше, срок действия исключительного права на изобретение по дополнительному патенту рассчитывается как время, прошедшее с даты подачи заявки на выдачу патента на изобретение до дня получения первого разрешения на применение продукта, за вычетом пяти лет, но не более чем пять лет. Так же как и в случае с первоначально выданным патентом, за поддержание дополнительного патента в силе необходима уплата ежегодных патентных пошлин. В случае если патентные пошлины за поддержание дополнительного патента в силе не уплачены, действие дополнительного патента досрочно прекращается.

АННУЛИРОВАНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПАТЕНТА

В результате внесенных в статью 1363 Гражданского кодекса РФ изменений у третьих лиц появилась возможность оспаривать выдачу дополнительного патента по тем же основаниям, которые предусмотрены для оспаривания выдачи первоначального патента. Эти основания, в частности, включают:

– несоответствие изобретения условиям патентоспособности (новизна, изобретательский уровень, промышленная применимость) или требованию, согласно которому объектом патентных прав не могут быть способы клонирования человека и его клон, способы модификации генетической целостности клеток зародышевой линии человека, использование человеческих эмбрионов в промышленных и коммерческих целях, результаты интеллектуальной деятельности, которые противоречат общественным интересам, принципам гуманности и морали;

– несоответствие документов заявки на изобретение, представленных на дату ее подачи, требованию раскрытия сущности изобретения с полнотой, достаточной для осуществления изобретения специалистом в данной области техники;

– наличие в формуле изобретения, которая содержится в решении о выдаче патента, признаков, не раскрытых на дату подачи в документах заявки.

Хотя в настоящее время отсутствует практика оспаривания выдачи дополнительного патента, уже сейчас можно дать некоторые рекомендации по составлению патентных заявок на изобретение, которое относится к лекарственному средству, чтобы впоследствии минимизировать проблемы с получением и действием дополнительного патента.

Для этого рассмотрим норму Гражданского кодекса РФ, относящуюся к выдаче дополнительного патента (пункт 2 статьи 1363), более подробно:

При продлении … срока действия исключительного права выдается дополнительный патент с формулой, содержащей совокупность признаков запатентованного изобретения, характеризующую продукт, на применение которого получено разрешение.

Представляется, что ключевым словом является «запатентованное». Исходя из этого, только изобретение, указанное в формуле изобретения основного патента, может быть объектом, защищаемым дополнительным патентом [6]. Но всегда ли это возможно?

В свете приведенного выше примера получения патента на группу соединений, охарактеризованную структурой Маркуша, возможна такая ситуация, когда защищаемая первоначальным патентом группа химических соединений в достаточной степени полно раскрыта в документах заявки на дату подачи и соответствие этой группы условию промышленной применимости не вызывает сомнений, однако пример, подтверждающий получение и характеристику конкретного химического соединения из указанной группы, на применение которого получено разрешение и на которое, как следствие, выдан дополнительный патент, в документах заявки на дату ее подачи отсутствовал. Исходя из этого, выдача дополнительного патента может быть оспорена.

Для того чтобы предотвратить подобную ситуацию, можно посоветовать заявителям более ответственно подходить к составлению материалов заявки на выдачу патента, а именно описания и формулы изобретения. Если в независимом пункте формулы будет заявлена группа соединений посредством приведения структуры Маркуша, то конкретные химические соединения, которые в будущем могут представлять

для патентообладателя интерес и служить объектом регистрации в качестве лекарственных средств, необходимо отразить в зависимых пунктах формулы изобретения. Для всех подобных соединений в описание изобретения следует включать примеры их получения и характеристики их биологической активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нет необходимости лишний раз говорить о важности для научно-технического прогресса своевременной и правильной защиты интеллектуальной собственности. Продление срока патентной монополии является одной из возможностей, позволяющих патентообладателям не только окупить собственные затраты на разработку запатентованного изобретения, но и получить дополнительные доходы для инвестирования в создание новых изобретений. Грамотный подход к использованию этой возможности необходим в интересах самих же патентообладателей.

ЛИТЕРАТУРА

1. В.И. Семенов, Н.Б. Лысков. Патентование лекарственных средств в России // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. № 1(6). С. 144–148.
2. Гражданский кодекс Российской Федерации от 18.12.2006, № 230-ФЗ (ред. от 28.11.2015, с изм. от 30.12.2015). Ч. 4.
3. О.В. Челышева. Патенты на химические соединения: объем прав и их нарушение. – М.: ИНФРА-М, 1996. 64 с.
4. Административный регламент предоставления Федеральной службой по интеллектуальной собственности государственной услуги по продлению срока действия исключительного права на изобретение и удостоверяющего это право патента. Утвержден приказом Министерства экономического развития Российской Федерации № 810 от 3 ноября 2015.
5. Порядок продления срока действия патента на изобретение, выдачи и действия дополнительного патента. Утвержден приказом Министерства экономического развития Российской Федерации № 809 от 3 ноября 2015.
6. О.Л. Алексеева. Новое патентное законодательство и практика его применения // Патенты и лицензии. Интеллектуальные права. 2015. № 10. С. 7–16.

PHARM DESIGN

Pharmaceutical Engineering Company

Компания Pharm Design приобрела обширные знания и богатый опыт в обсласти создания многих видов фармацевтических и биотехнологических объектов, которые позволяют разрабатывать технологию фармацевтического производства

Специалисты компании имеют технологические возможности сочетать навыки проектирования с учетом требований всех производственных процессов.

Мы разработали эффективный подход для выбора и адаптации технологии будущего производства любого типа и сложности.

Современные технологические возможности для реализации проектов любой сложности

- Проектирование фармацевтических предприятий
- Строительство фармацевтических заводов
- Чистые помещения: от проектирования до аттестации и валидации чистых помещений совместимых с GMP EU
- Квалификация проектной документации
- Разработка фармацевтической технологии

Адрес:
197110, Санкт-Петербург, ул. Красного Курсанта, дом 25, литер В, офис 329.

Сайт: phde.ru
Тел.: 7 (812) 448-68-32
7 (499) 110-38-17

УДК 613.63 + 628.51

1 – Акционерное общество «Фармославль», 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Кирова, 14

1 – Joint Stock Company «Pharmoslavl», 14, Kirova str., Yaroslavl, 150000, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: ss.rozhkov@pharmoslavl.ru

СОПОСТАВЛЕНИЕ РОССИЙСКИХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРЕДЕЛЬНОГО ВРЕДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

С.С. Рожков[1]*, А.В. Смирнов[1]

Резюме. Гигиеническое нормирование содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны, направленное на сохранение здоровья рабочих, является неотъемлемым атрибутом любого химического, в том числе и фармацевтического, производства. В большинстве случаев новые для отечественных производителей лекарственные средства не имеют требуемых законодательством гигиенических нормативов. В настоящей работе рассмотрена возможность использования зарубежных нормативов на российских предприятиях. Для достижения этой цели проведено сравнение отечественных показателей гигиенического нормирования предельно допустимого содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны с подобными нормативами, используемыми в странах Европы и Северной Америки. Сопоставлению подвергнуты теоретические основы методов установления, а также соотнесены численные значения.

Ключевые слова: вредное воздействие, предельно допустимая концентрация, токсикология.

COMPARISON OF RUSSIAN AND FOREIGN HYGIENIC PARAMETERS OF MEDICINES PERMISSIBLE EXPOSURE LIMIT

S.S. Rozhkov[1]*, A.V. Smirnov[1]

Abstract. Hygienic standardization of harmful substances in the air of the working area, aimed at maintaining the health of workers is an essential attribute of any chemical production, including pharmaceutical producing. In most cases, new for domestic producers drugs do not have the required national hygienic standards. In this paper we consider the possibility of using international standards in Russian companies. To achieve this goal, a comparison of the Russian hygienic parameter of a harmful substance concentration threshold limit value in the air of the working area with similar European and North American index was performed. Theoretical foundations of establishment methods and index numerical values were compared.

Keywords: adverse effect, concentration threshold limit value, toxicology.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что основное назначение лекарств заключается в лечении различных заболеваний человека, те же препараты могут оказывать негативное воздействие на здоровье людей, которые занимаются их разработкой, анализом и особенно производством. Для обеспечения безопасности рабочих необходим эффективный контроль и регулирование содержания лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, определяемое государственными стандартами и нормами. В соответствии с МУ 1.1.726-98 [1] на предприятиях по производству лекарственных препаратов для всех находящихся в обращении веществ должны разрабатываться гигиенические нормативы с методами контроля их содержания в воздухе рабочей зоны. Особенное значение гигиеническое нормирование имеет для химико-фармацевтических предприятий с широкой номенклатурой выпускаемых лекарственных средств и промежуточных продуктов синтеза, где попадание вредных веществ в воздух неизбежно. Кроме того, гигиенические показатели играют важную роль на этапе проектирования производственных зданий, технологических процессов, оборудования и вентиляции таких предприятий.

В качестве основных показателей санитарно-гигиенического нормирования на химических предприятиях в России используются предельно допустимая концентрация (ПДК) и ориентировочно безопасный уровень воздействия (ОБУВ) вредного вещества в воздухе рабочей зоны. За рубежом существует широкий ряд аналогичных нормативов, например threshold limit value (TLV), permissible exposure limit (PEL), workplace exposure limit (WEL), occupational exposure limit (OEL). Несмотря на различие в названиях, эти иностранные показатели выражают одну и ту же величину. В Европе и Северной Америке наибольшее распространение получил показатель OEL. Несмотря на то, что указанные российские и зарубежные нормативы имеют одинаковое предназначение и одинаковый физический смысл, они устанавливаются изолированно и практически никак не связаны между собой.

ПДК разрабатывается на основе токсикологических данных о соединении, результатах его доклинических и клинических исследований и, кроме того, подвергается корректировке по результатам длительного изучения условий труда и состояния здоровья работающих. В итоге обоснование ПДК для одного соединения занимает годы. По этой причине для нормирования новых лекарственных средств используется ОБУВ, который носит временный характер и впоследствии, после всех необходимых исследований, трансформируется в ПДК. Обоснование ОБУВ не требует длительных исследований и поэтому занимает значительно меньше времени. У многих новых для отечественной промышленности лекарственных средств, не имеющих вышеуказанных нормативов, существуют зарубежные гигиенические показатели, опубликованные в статьях Американской и Европейской фармакопей. В связи с этим возникает вопрос о возможности сокращения затрат российских химико-фармацевтических предприятий на разработку показателей ОБУВ новых лекарственных средств за счёт использования зарубежных нормативов. Для ответа на этот вопрос нами было проведено сопоставление методов обоснования отечественных и зарубежных гигиенических нормативных показателей и выявлены их сходства и отличия. Для получения более полной информации по озвученной проблеме также было осуществлено сравнение численных значений этих показателей для ряда соединений, имеющих требуемые нормативы как в России, так и за рубежом.

СУЩНОСТЬ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ ОБУВ И OEL

Гигиенические нормативы ОБУВ и OEL определяют предельно допустимое вредное воздействие различных веществ на человека. Установление численных значений данных показателей является комплексной задачей, которая включает в себя исследование физико-химических и токсических свойств соединений, а также изучение влияния их на человека во время трудовой деятельности. Показатели могут корректироваться в зависимости от накопления данных о вредном веществе.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия выражается в виде концентрации вредного вещества в воздухе и имеет размерность мг/м^3. Является временным показателем и устанавливается на период, предшествующий проектированию. ОБУВ лекарственных средств обосновывается путем расчета на основании параметров токсикометрии и терапевтических доз с использованием корреляционных зависимостей или путем интерполяций или экстраполяций в рядах соединений, близких по химической структуре, физико-химическим свойствам и характеру биологического действия. Он имеет три разновидности: в воздухе рабочей зоны; в атмосферном воздухе населенных мест; в воде водных объектов [1–3]. Для проектирования химико-фармацевтических предприятий наиболее значимым является ОБУВ в воздухе рабочей зоны. Важно отметить, что рассматриваемый показатель не делится на максимально разовый (действие до 15 мин) и среднесменный (действие в течение 8 ч), в отличие от ПДК. Для большинства веществ ПДК являются максимальными разовыми, но для высококумулятивных веществ наряду с максимальной устанавливается среднесменная ПДК.

«Occupational exposure limit» можно перевести как «предел вредного воздействия на рабочем месте». Он также выражается в виде концентрации вредного вещества в воздухе с размерностью мг/м^3. Установление OEL не является точной научной процедурой, а для расчёта не существует универсальной математической формулы. Процесс обоснования этого показателя носит субъективный характер и зависит от баланса между имеющимися научными данными, сделанными допущениями и экспертной оценкой [4–6]. Он делится на два основных типа: short-term exposure limit (STEL), или предел кратковременного воздействия (до 15 мин); 8-hour time weighted average limit (TWA), или среднесменный предел воздействия (в течение 8 ч). Последний тип имеет более широкое применение [7].

В итоге и отечественные, и зарубежные показатели имеют одинаковый физический смысл и, кроме того, они основываются на одном и том же предположении о пороговости воздействия вредных веществ на человека и служат одной цели.

ДАННЫЕ ДЛЯ РАСЧЁТА ПРЕДЕЛОВ ВРЕДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Для обоснования гигиенических нормативов необходимо иметь достаточно большой ряд данных об исследуемом лекарственном средстве, причём в случае ОБУВ по сравнению с ПДК и OEL требуется значительно меньше сведений. Так, для обоснования ОБУВ могут быть использованы данные только первых четырёх пунктов.

Необходимые для расчётов сведения [3, 5, 7]:

1) общие данные об условиях производства и применения лекарственного средства.

2) данные о его химическом строении и физико-химических свойствах.

3) информация о его токсических свойствах при остром и хроническом эксперименте, пороги вредного действия, кумулятивная способность, аллергенность, мутагенность, тератогенность, канцерогенность.

4) сведения о химических, физических или биологических аналогах исследуемого вещества, для которых уже установлены нормативы.

5) исследования раздражающего действия кожи, глаз, слизистых оболочек.

6) фармакологические характеристики: биодоступность, фармакодинамика, фармакокинетика, период полувыведения, побочные эффекты, противопоказания и др.

7) доступные эпидемиологические данные, информация о передозировках или отравлениях людей, данные наблюдений, данные о производственной гигиене.

8) обоснование коэффициентов запаса.

Для обоснования рассматриваемых гигиенических показателей не обязательно используется полный набор данных, однако чем больше информации имеется о соединении, тем более достоверными будут установленные нормативы. В этом российские и зарубежные показатели сходятся. Ключевыми различиями здесь являются разница зарубежных и отечественных характеристик порогов вредного воздействия соединения и разница в наборе коэффициентов запаса. Подробнее эти различия рассмотрены ниже.

ЭТАПЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРЕДЕЛОВ ВРЕДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Этапы гигиенической регламентации лекарственных средств в воздухе рабочей зоны в России определены законодательно и закреплены в методических указаниях МУ 1.1.726-98 [1]:

1) Предварительная токсикологическая оценка. Анализ данных о предполагаемом объеме производства, литературных и отчетных данных о фармакологических характеристиках лекарственного средства. Расчет ОБУВ, принятие решения о направлениях и объеме исследований, виде гигиенического регламента. Разработка метода контроля вещества в воздухе.

2) Ускоренная токсикологическая оценка. Острые опыты на животных, дополняющие данные, полученные при разработке лекарственного средства. Изучение кумулятивного, кожно-резорбтивного и раздражающего действия. Определение порогов острого действия. Проведение подострого эксперимента. Изучение сенсибилизирующего действия. Расчет порога хронического действия и ОБУВ. Обоснование гигиенического регламента (ОБУВ, ПДК, запрещение контакта), принятие решения о необходимости полной токсикологической оценки.

3) Полная токсикологическая оценка. Хронический эксперимент на животных. Установление порогов хронического общетоксического и специфического действия. Оценка отдаленных последствий. Обоснование ПДК.

4) Специальные (дополнительные) исследования: разработка биологической ПДК, методов ранней диагностики и терапии отравлений.

5) Корректировка медико-технических требований к производству путём изучения условий труда и состояния здоровья работающих.

Как видно из представленного материала, показатель ОБУВ рассчитывается уже на первом этапе, далее происходит лишь его уточнение и обоснование ПДК.

Этапы установления гигиенических нормативов OEL могут иметь некоторые различия в зависимости от конкретной страны, где их определяют, однако общие закономерности остаются одинаковыми [5, 7]. В качестве примера приведены основные этапы, рекомендуемые Научным комитетом по предельным производственным экспозициям (SCOEL) Европы [7].

1) Сбор данных о лекарственном средстве, включая физические и химические свойства, данные по экспериментам с животными и людьми, относящиеся к установлению OEL.

2) Определение неблагоприятного воздействия, которое может возникнуть в результате воздействия лекарственного средства. Выявление наиболее значимых (ключевых) неблагоприятных эффектов.

3) Выбор соответствующих исследований (на животных или человеке), которые характеризуют ключевые эффекты.

4) Установление механизма действия лекарственного средства. При пороговом механизме возможно использование обычной (пороговой) токсикологической модели. Если механизм беспороговый, то OEL не может быть установлен и для обеспечения безопасности рабочих применяются другие подходы.

5) Установление данных доза/отклик для каждого ключевого эффекта. Определение доз, при введении которых отсутствует вредное воздействие, или минимальных доз, вызывающих вредное воздействие.

6) Принятие решения, требуется ли вычисление предела кратковременного воздействия (STEL) в дополнение к среднесменному пределу воздействия (TWA).

7) Установление численного значения TWA.

8) Установление численных значений STEL и предела биологического воздействия (BLV), если это необходимо.

9) Оценка технической возможности измерения рекомендуемых величин в воздухе.

Несмотря на различия формулировок, описывающих этапы регламентации лекарственных средств в России и за рубежом, их содержание весьма близко. В обоих случаях основой для установления показателей служат токсикологические испытания. Важное отличие западного подхода заключается в наличии этапа установления порогового или беспорогового механизма действия лекарственного средства.

БАЗОВЫЕ ПОДХОДЫ К УСТАНОВЛЕНИЮ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ ОБУВ И OEL ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ

Методы установления ОБУВ можно разделить на две группы: расчётные методы, не требующие проведения каких-либо испытаний, и более точные и более

достоверные методы, основанные на токсикологических и фармакологических исследованиях [2, 8, 9].

Расчётные методы:

1) Метод на основе связи физико-химических свойств веществ с их токсичностью. Используется для органических веществ, физико-химические константы которых укладываются в определённые границы. Расчёт ведётся по ряду уравнений с использованием физико-химических параметров. Пример уравнения расчёта ориентировочного безопасного уровня воздействия в воздухе рабочей зоны:

$$ОБУВ_{врз} = -1,2 - 0,012\ t_{пл.} + lg\ M,$$

где $t_{пл.}$ (°С) – температура плавления соединения; M (г/моль) – его молекулярная масса.

2) Метод расчёта ОБУВ по величине биологической активности изучаемого соединения:

$$ОБУВ = \frac{M}{\sum I_i \cdot 1000}.$$

За величину биологической активности отдельных видов химических связей (I_i) условно принимается минимальный объем воздуха (в литрах), в котором допустимо содержание миллимоля (ммоль) химического вещества. Значение биологической активности в гомологических рядах имеется в справочной литературе.

3) Способ, основанный на близости химических свойств некоторых химических соединений. В этом случае применяется метод экстраполяции свойств какого-либо класса соединений, хорошо изученного в токсикологическом отношении, на новое вещество, относящееся к тому же классу. Например, уравнение для кетонов предельных алифатических:

$$ОБУВ_{врз} = 0,008\ CL_{50},$$

где CL_{50} (мг/м^3) – средняя смертельная концентрация вещества в воздухе, то есть доза, вызывающая гибель 50% особей.

Экспериментальные методы:

1) Метод расчета ОБУВ по параметрам острой токсичности, установленным в экспериментах на животных. Является наиболее точным и наиболее применимым для установления ОБУВ лекарственных средств.

Расчёт может проводиться по серии логарифмических уравнений, выведенных методом регрессионного анализа. Например, уравнение для органических веществ, присутствующих в воздухе в виде паров:

$$ОБУВ_{врз} = 0,5 \times lg\ Lim_{ac} + 6,49 \times lg\ CL_{50} - 0,83,$$

где Lim_{ac} (мг/м^3) – порог острого интегрального действия, наименьшая доза вещества, вызывающая при однократном воздействии изменения биологических показателей на уровне целостного организма, выходящие за пределы приспособительных физиологических реакций.

2) Для органических веществ, обладающих общетоксическим действием, расчёт также может осуществляться по уравнению:

$$ОБУВ_{врз} = \frac{Lim_{ch}^{расч}}{K_з},$$

где $K_з$ – коэффициент запаса; $Lim_{ch}^{расч}$ (мг/м^3) – расчетный порог хронического воздействия. Рассчитывается следующим образом:

$$Lim_{ch}^{расч} = 0,62 \times lg\ CL_{50} - 1,03;$$

$$Lim_{ch}^{расч} = 0,77 \times lg\ Lim_{ac} - 0,56.$$

Коэффициент запаса слагается из данных о потенциальной и реальной опасностях веществ (определяются по таблицам в соответствии с токсикометрическими параметрами).

Практически все методы установления OEL имеют в своей основе данные токсикологических и фармакологических исследований. Базовый принцип включает в себя нахождение определённого порогового значения концентрации и деление его на коэффициент запаса [4–6, 10, 11]:

1) Метод NOAEL/SF, где NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) – уровень отсутствия вредного эффекта (мг/кг); SF (Safety Factor) – коэффициент запаса.

При таком подходе рассматриваются все необходимые исследования животных и человека и выявляется самая высокая доза препарата, которая не вызывает неблагоприятного эффекта, – NOAEL. Коэффициент запаса обеспечивает ограничения, необходимые для защиты рабочих. Он представляет собой набор коэффициентов, количество и величина которых определяются набором данных по исследуемому веществу.

$$OEL = \frac{NOAEL \cdot BW}{SF \cdot V},$$

где BW (кг) – вес тела человека (обычно принимают величину 70 кг); V (м^3) – объём воздуха, вдыхаемый рабочим за смену 8 ч (принимают величину 10 м^3);

Коэффициент запаса включает в себя следующие факторы:

– фактор межвидовых отличий (животное–человек), от 1 до 10;

– фактор внутривидовых отличий (человек–человек), от 1 до 10;

– фактор длительности исследований (более длительные исследования дают более точную информацию), от 1 до 10;

– фактор удерживания вещества в организме (время полувыведения);

– фактор эффективности адсорбции, зависящий от пути воздействия на организм.

При невозможности определения NAOEL может быть использован показатель LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) – минимальная доза, вызывающая вредное воздействие (мг/кг). В этом случае для перехода от LOAEL к NOAEL используется дополнительный коэффициент запаса от 1 до 10 в зависимости от степени вредности эффекта (например, вызывает дефекты у новорожденных – ближе к 10, уменьшение веса тела – ближе к 1).

2) Benchmark dose approach – подход контрольной дозы (для неканцерогенных веществ). Этот подход направлен на определение дозы, которая соответствует измеримой степени ответной реакции (например, доза, которая приводит к эффекту у 10% испытуемых, – ED_{10}). Указанный уровень отклика также называют точкой отправления – point of departure (PoD). По существу, она заменяет NOAEL и LOAEL. PoD более предпочтительна, чем NOAEL и LOAEL, так как она представляет собой дозу, которой соответствует конкретный измеримый эффект.

В данном подходе вредное воздействие оценивается для субъектов, наиболее подверженных этому воздействию. Таким образом, находится наиболее низкая концентрация, приводящая к заданному эффекту. Для определения OEL значение PoD также делят на коэффициенты запаса по аналогии с методом NOEL/SF.

3) Подход therapeutic dose / safety factor – терапевтическая доза / коэффициент запаса. В данном методе определяется минимальная терапевтическая доза и делится на коэффициент запаса.

Чаще всего коэффициент запаса принимается равным 100 и является произведением двух параметров: 10 – учитывается неточность определения перехода между эффективной и неэффективной терапевтической дозой (аналогия перехода от LOAEL к NOAEL); 10 – учитывается разница в индивидуальном восприятии.

Метод используется для установления OEL, но имеет ряд ограничений:

– может существовать сильная разница между путями воздействия (доставки лекарственного средства в организм) при установлении терапевтических доз и путём воздействия на рабочем месте. Например, доза устанавливается при оральном введении, а на рабочем месте рассматривается респираторное воздействие. В итоге установленный OEL может оказаться некорректным. В таких случаях требуется дополнительный коэффициент запаса.

– для лекарственных средств, предназначенных для спасения жизни пациента от тяжёлой болезни (например от рака), может применяться достаточно высокая терапевтическая доза, но в этом случае OEL, принятый на основе этой дозы, может не обеспечить безопасность рабочих, которые его производят. Коэффициент запаса 100 может оказаться недостаточным. И наоборот, для лекарства от кашля такой коэффициент может быть чрезмерным.

– необходимо учитывать наличие или отсутствие связи между токсическим эффектом лекарственного средства и его фармакологическим действием. Например, они могут быть не связаны, если лекарственное средство проявляет канцерогенные свойства.

4) Linearized multistage model (LMS) – линеаризованная многоступенчатая модель. Применяется для канцерогенных веществ (они могут не иметь NAOEL).

Математическая модель, разработанная для предсказания вредного канцерогенного эффекта при вводе сверхнизких доз. Была создана из-за невозможности проведения испытаний сверхнизких доз на животных в реальности.

ДЕЙСТВУЮЩИЕ ФОРМУЛЫ РАСЧЁТА ОБУВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И OEL ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

В зависимости от имеющейся информации о лекарственном средстве обоснование ОБУВ проводится следующим путем [1]:

– по значениям минимальной и высшей суточной терапевтических доз (МСТД и ВСТД) на стадии предварительной токсикологической оценки или в случае принадлежности вещества к фармакологической группе, представители которой имеют утвержденную в законодательном порядке величину ПДК в воздухе рабочей зоны;

– в других случаях для обоснования ОБУВ необходимо дополнительно использовать уравнения, учитывающие параметры токсикометрии (средние смертельные дозы при пероральном и внутрибрюшинном введении, порог острого действия, коэффициент кумуляции при введении 1/10 полулетальной дозы, коэффициент видовых различий, зона специфического действия).

1) Расчёт ОБУВ по значениям минимальной и высшей суточной терапевтических доз [1]:

$$\text{ОБУВ} = \frac{\text{МСТД} \cdot 1000 \cdot K_1}{V \cdot t \cdot K_2},$$

$$\text{ОБУВ} = \frac{\text{ВСТД} \cdot 1000 \cdot K_1}{V \cdot t \cdot K_3},$$

где V ($м^3$/ч) – объем легочной вентиляции человека; *t* (ч) – время работы (ч); K_1 (доли единицы) – коэффициент, отражающий степень задержки аэрозоля в организме; K_2 – коэффициент перехода от МСТД к уровню воздействия (ПДК, ОБУВ), отвечающий критериям безопасности для работающих и их потомства; K_3 – коэффициент перехода от ВСТД к уровню воздействия

(ПДК, ОБУВ), отвечающий критериям безопасности для работающих и их потомства.

При проведении расчетов принимают: V×t=10 м^3; K_1=1,0. Среднее значение K_2 для ранее нормированных лекарственных средств при расчете по МСТД составляет 30, а K_3 при расчете по ВСТД – 100.

Величины K_2 и K_3 для лекарственных средств отдельных фармакологических групп, обладающих специфическим избирательным действием (гормоны, цитостатики, сульфаниламиды и др.), могут быть значительно выше приведенных значений (300–500). В связи с этим при практическом применении выше приведенного уравнения желательно предварительно установить значение K_2 и K_3 для ранее нормированных лекарственных средств исследуемой фармакологической группы и только в случае незначительных колебаний этих величин можно использовать среднюю величину коэффициента для расчета ОБУВ изучаемого лекарственного средства.

2) Расчёт ОБУВ на основе параметров токсикометрии по логарифмическим уравнениям проводят следующим образом [1].

Первоначально рассчитывают порог острого действия Lim_{ac} (мг/м^3):

$$\lg Lim_{ac} = 0{,}7 \times \lg ЛД_{50}\ в/бр + 0{,}06;$$

$$\lg Lim_{ac} = 0{,}91 \times \lg ЛД_{50}\ в/ж - 0{,}63;$$

$$\lg Lim_{ac} = 0{,}65 \times \lg МСТД + 1{,}75.$$

Находят среднее геометрическое Lim_{ac}. Вычисляют порог хронического ингаляционного действия Lim_{ch} (мг/м^3):

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}61 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}36 \times \lg МСТД - 0{,}27;$$

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}82 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}36 \times \lg ВСТД - 0{,}78;$$

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}7 \times \lg МСТД + 0{,}82;$$

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}74 \times \lg Lim_{ac} - 0{,}83 \times \lg Z_{sp} - 0{,}46;$$

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}45 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}5 \times \lg МСТД;$$

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}56 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}13 \times \lg ЛД_{50} + 0{,}33 \times \lg K_{кум} - 0{,}89;$$

$$\lg Lim_{ch} = 0{,}65 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}36 \times \lg K_{кум} - 0{,}64,$$

где $ЛД_{50}$ (мг/кг) – полулетальная доза (в/бр – внутрибрюшинно, в/ж – внутрижелудочно); $K_{кум}$ – коэффициент кумуляции по Ю.С. Кагану и В.В. Станкевичу при введении 1/10 $ЛД_{50}$; Z_{sp} – зона специфического действия.

Находят среднее геометрическое Lim_{ch}. По полученным параметрам вычисляют ОБУВ:

$$\lg ОБУВ = 0{,}77 \times \lg МСТД + 0{,}34;$$

$$\lg ОБУВ = 0{,}8 \times \lg ВСТД - 0{,}06;$$

$$\lg ОБУВ = 0{,}21 \times \lg ЛД_{50}\ в/бр + 0{,}55 \times \lg МСТД - 0{,}33;$$

$$\lg ОБУВ = 0{,}45 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}5 \times \lg МСТД - 0{,}43;$$

$$\lg ОБУВ = 0{,}49 \times \lg МСТД + 0{,}42 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}11 \times \lg ЛД_{50}\ в/ж - 0{,}75.$$

При расчете используются $ЛД_{50}$ для наиболее чувствительного вида животных и наименьшее значение Lim_{ac}.

$$\lg ОБУВ = 0{,}78 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}87 \times \lg K_{кум} - \lg Z_{sp} - 1{,}96;$$

$$\lg ОБУВ = 0{,}62 \times ЛД_{50}\ в/ж + 0{,}78 \times \lg K_{кум} + 0{,}25 \times \lg КВР - 0{,}97 \times \lg Z_{sp} - 2{,}71;$$

$$\lg ОБУВ = 0{,}66 \times \lg Lim_{ac} + 0{,}18 \times \lg ЛД_{50}\ в/ж + 0{,}78 \times \lg K_{кум} - \lg Z_{sp} - 2{,}25.$$

Уравнения, в которые входит $ЛД_{50}$ в/ж, не рекомендуется использовать для прогнозирования ОБУВ малотоксичных веществ ($ЛД_{50}$ более 5 г/кг).

Для более точного определения находят среднее геометрическое значение ОБУВ, полученное обоими путями.

Способ расчёта OEL зависит от механизма действия лекарственного средства [12–17].

1) В случае порогового механизма действия (неканцерогенные лекарственные средства) в большинстве случаев используется метод NOAEL/SF либо близкий к нему Benchmark dose:

$$OEL = \frac{NOAEL \cdot BW}{UF_c \cdot MF \cdot V \cdot \alpha \cdot S},$$

где BW (кг) – вес тела человека (70 кг); UF_c – комплексный коэффициент неопределённости (запаса); MF – модифицирующий фактор (учитывает влияние профессиональной оценки); V, (м^3) – объём воздуха, вдыхаемый рабочим за смену 8 ч (10 м^3); α – фактор абсорбции, учитывает различия воздействия при клиническом определении NOAEL и ингаляционной абсорбции (при отсутствии количественных данных принимается за 1); S – коэффициент, учитывающий накопление вещества в плазме крови.

При использовании подхода Benchmark dose вместо NOAEL в уравнении используется PoD.

$$UF_c = UF_H \cdot UF_A \cdot UF_S \cdot UF_L \cdot UF_D,$$

где UF_H – фактор внутривидовых отличий (человек–человек), от 1 до 10; UF_A – фактор межвидовых отличий (животное–человек), от 1 до 10; UF_S – фактор длительности исследований (субхронические–хронические), от 1 до 10; UF_L – переход от LOAEL к NOAEL, от 1 до 10; UF_D – фактор неполноты базы данных, от 1 до 3. Приведены ориентировочные интервалы значений. Численные значения факторов определяются экспертным методом и имеют субъективный характер.

2) Расчёт OEL для лекарственных средств, обладающих канцерогенными и мутагенными свойствами.

Предыдущий подход основывается на том, что у каждого соединения есть какая-то определённая до-

за (предел), ниже которой оно не производит вредоносного эффекта. Исключением являются соединения с канцерогенными и мутагенными свойствами, многие из которых не имеют такого предела. То есть даже самая минимальная концентрация таких веществ является опасной. Методы установления OEL для таких соединений до сих пор дискутируются и отличаются в различных странах (см. выше метод Linearized multistage model). Как правило, OEL для этих веществ устанавливаются как нижний предел обнаружения в воздухе [4, 7].

СРАВНЕНИЕ ЧИСЛЕННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ГИГИЕНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБУВ И OEL

Для определения соответствия между ОБУВ и OEL нами были найдены численные значения этих показателей для 18 соединений. Для поиска использовались нормативы ГН 2.2.5.131403 [19] и немецкая база данных пределов вредного воздействия IFA [20]. Значения OEL брались как среднесменный предел воздействия в восьми странах (США, Франции, Польши, Канады, Германии, Финляндии, Великобритании, Бельгии). Полученные данные представлены в таблице 1.

Анализ таблицы 1 показывает, что в большинстве случаев значения OEL превышают значения ОБУВ:

1) для 12-ти соединений OEL (во всех странах) значительно превосходит ОБУВ; в среднем показатели отличаются в 17 раз.

2) для двух соединений значения совпадают (кроме Германии): строки 8 и 12.

3) для 4 соединений OEL меньше ОБУВ: строки 2, 3, 12, 15; имеются единичные исключения (строка 15, Канада и Великобритания).

Нужно отметить, что использованный нами среднесменный предел воздействия TWA является более жёстким показателем по сравнению с пределом кратковременного воздействия и имеет в два-три раза меньшие значения. Следовательно, при сравнении ОБУВ с пределами кратковременного воздействия STEL наблюдаемая тенденция будет сохраняться: зарубежные показатели будут иметь бóльшие значения. Это говорит о более жёстком нормировании содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны в России.

СРАВНЕНИЕ ЧИСЛЕННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ГИГИЕНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПДК И OEL

Следует учесть, что ОБУВ является временным показателем и в дальнейшем на его основе после дополнительных исследований выводится постоянное значение ПДК. Для более полного сопоставления показателей российских гигиенических норм и зарубежных мы провели сопоставление численных значений ПДК и OEL для 35 соединений. Были выбраны соединения различных классов с широким интервалом значений ПДК. Для поиска использовались нормативы ГН 2.2.5.1313-03 [21] и база данных OEL FA [20]. Результаты представлены в таблице 2.

Причина рассмотрения большего числа соединений по сравнению с предыдущим пунктом заключается в том, что ПДК и OEL устанавливаются для широко используемых веществ (например, растворителей) и в международных базах данных и российских нормативах имеется большое число совпадающих соединений. ОБУВ, в свою очередь, устанавливаются для достаточно редко используемых и часто сложных по структуре веществ, и совпадения найти не так просто.

Сравнение проводилось одновременно по двум показателям: по пределу кратковременного действия STEL и по среднесменным показателям TWA. Использовались значения OEL восьми стран (США, Франции, Польши, Канады, Германии, Финляндии, Великобритании, Бельгии).

Наблюдения, сделанные при анализе полученных данных:

1) для всех соединений значения OEL как минимум в двух странах превышает ПДК; соотношение OEL/ПДК составляет от 1,2 до 255, в среднем отличие – в 22 раза.

2) выявлены шесть соединений, для которых в отдельных странах OEL меньше ПДК, причём для двух из них OEL<ПДК только в одной стране: строки 14, 18, 23, 30, 32, 33.

3) OEL разных стран для одних и тех же соединений достаточно близки – разница не более чем в 2–3 раза (имеются единичные исключения).

Таким образом, в большинстве случаев (92%) значения OEL превышают ПДК. Наблюдаемая тенденция соответствует закономерности, выявленной для ОБУВ, и также свидетельствует о более жестком нормировании содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны в России по сравнению со странами Европы и Северной Америки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно действующим нормативам Российской Федерации гигиенический показатель ОБУВ лекарственных средств рассчитывается с использованием ряда логарифмических уравнений, выведенных на основе эмпирических данных, либо через минимальную и высшую суточные терапевтические дозы, разделённые на коэффициент запаса. Оба подхода имеют недостатки: во-первых, логарифмические зависимости, выведенные с использованием ограниченной группы соединений, не могут учитывать всех индивидуальных особенностей новых лекарственных средств; во-

Таблица 1.

Значения показателей ОБУВ и OEL

№	Вещество	CAS	ОБУВ, мг/м³	OEL (TWA)*, мг/м³							
				США (NIOSH)	Франция	Польша	Канада (Квебек)	Германия	Финляндия	Великобритания	Бельгия
1	Peracetic acid	79-21-0	0,2	–	–	–	–	–	0,6	–	–
2	Fenthion (ISO)	55-38-9	0,3	–	–	0,2	0,2	0,2	–	–	0,05
3	Chlorpyrifos (ISO)	2921-88-2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
4	Methoxychlor (ISO)	72-43-5	0,4	15	10	10	10	1	10	10	10
5	Alachlor (vapour & aerosol)	15972-60-8	0,5	–	–	–	1	–	–	–	1
6	Triphenyl phosphine	603-35-0	0,5	–	–	–	–	5	–	–	–
7	Trimethyl phosphite	121-45-9	0,5	10	10	5	10	–	2,6	10	10
8	Orthophosphoric acid	7664-38-2	1	1	1	1	1	2	1	1	1
9	Phenylthiazine	92-84-2	1	5	5	5	5	–	5	–	5
10	N-Isopropylaniline	768-52-5	1	10	10	–	11	–	–	–	11
11	4-tert-Butyltoluene	98-51-1	1	60	60	–	6,1	–	6,1	–	6,2
12	Ethanedial	107-22-2	2	–	–	–	0,1	–	0,02	–	0,1
13	Triethanolamine	102-71-6	5	–	–	–	5	5	5	–	5
14	3,7-Dimethylocta-2,6-dienal	5392-40-5	5	–	–	27	–	–	–	–	–
15	2-Methoxyethanol	109-86-4	10	0,3	3,2	3	16	3,2	1,6	16	0,3
16	Ethylene glycol isopropylether	109-59-1	10	–	105	20	106	22	–	–	108
17	Pentan-3-one	96-22-0	20	705	705	–	705	–	–	716	715
18	1,1-Difluoroethene	75-38-7	30	–	–	–	–	–	–	–	1330

Примечание: * Норматив указан как 8-часовой средневзвешенный предел

вторых, при расчётах по терапевтическим дозам не берутся во внимание различия между путями воздействия лекарственного средства при исследованиях и на производстве, а также его механизм воздействия и назначение. Кроме того, используется лишь один коэффициент запаса, который определяется из справочных таблиц по токсикологическим параметрам или заимствуется от близких по структуре и действию лекарственных средств. Указанные особенности могут вызвать некорректное определение ОБУВ для новых лекарственных средств.

Для установления OEL новых лекарственных средств за рубежом в основном используется подход NOAEL/SF, в котором минимальная доза, не вызывающая вредного эффекта, делится на ряд коэффициентов запаса. При этом количество этих коэффициентов, учитывающих всевозможные неопределённости, может быть более четырёх. Значения коэффициентов определяются субъективно и в основном зависят от накопленного опыта в этой области (испытания на животных, клинические исследования и т.п.), имеющихся данных о лекарственном средстве (физико-химические, токсикологические свойства) и условий, при которых проявляется воздействие лекарственного средства на человека. Упомянутый подход близок к методу определения ОБУВ по МСТД и ВСТД, но значительно отличается набором коэффициентов запаса.

Сопоставление значений OEL и ОБУВ ряда химических соединений, имеющихся в государственных нормативах, показало, что для выбранных химических соединений в большинстве случаев значения OEL превышают ОБУВ. Сравнение показателей OEL и ПДК дало близкие результаты. В большинстве рассмотренных случаев численные значения OEL превышают ПДК. То есть нормирование содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны в России по сравнению со странами Европы и Северной Америки является более жёстким.

Таблица 2.

Значения показателей ПДК и OEL

№	Вещество	CAS	ПДК ср.см. / ПДК макс.р, мг/м³	OEL (TWA/STEL)*, мг/м³							
				США (NIOSH)	Франция	Польша	Канада (Квебек)	Германия	Финляндия	Великобритания	Бельгия
1	p-Phenylenediamine	106-50-3	–*/0,05	0,1/–	0,1/–	0,1/–	0,1/–	0,1/0,2	0,1/0,3	0,1/–	0,1/–
2	Terephthalic acid	100-21-0	–/0,1	–	–	–	10/–	5/10	–	–	10/–
3	Tricarbonyl (etacyclopentadienyl) manganese	12079-65-1	–/0,1	0,1/–	0,1/–	–	0,1/–	–	0,1/0,3	0,1/0,3	0,1/–
4	N,N-Dimethylaniline	121-69-7	–/0,2	25/50	25/–	12/40	25/50	25/50	25/50	25/50	25/51
5	2,2′-Iminodi(ethylamine)	111-40-0	–/0,3	4/–	4/–	4/12	4,2/–	–	4,3/13	4,3/–	4,3/–
6	Bromine	7726-95-6	–/0,5	0,7/2	–/0,7	0,7/1,4	0,66/1,3	0,7/0,7	–/0,7	0,66/1,3	0,67/1,3
7	2-Aminoethanol	141-43-5	–/0,5	6/15	2,5/7,6	2,5/7,5	7,5/15	5,1/10,2	2,5/7,6	2,5/7,6	2,5/7,6
8	o-Anisidine	90-04-0	–/1	0,5/–	0,5/–	–	0,5/–	–	0,1/1,5	0,51/–	0,5/–
9	Diphosphorus pentaoxide	1314-56-3	–/1	–	1/–	1/2	–	2/4	–/5,9	1/2	1/–
10	Formic acid	64-18-6	–/1	9/–	9/–	5/15	9,4/19	9,5/19	5/19	9,6/–	9,5/19
11	Isopropylamine	75-31-0	–/1	12/–	12/–	–	12/24	12/24	–/12	–	12/24
12	Phenol	108-95-2	0,3/1	19/–	7,8/15,6	7,8/16	19/–	8/16	8/16	–	8/16
13	Morpholine	110-91-8	0,5/1,5	70/105	36/72	36/72	71/–	36/72	36/72	36/72	36/72
14	Nitrogen dioxide	10102-44-0	–/2	–	–/6	0,7/1,5	5,6/–	0,95/ 0,95	5,7/11	5,7/9,6	5,7/9,5
15	Hydrogen bromide	10035-10-6	–/2	–/10	–/6,7	–/6,5	–/9,9	6,7/6,7	–/6,7	–/10	–/6,7
16	Xylidine, all isomers	1300-73-8	–/3	10/–	10/–	10/–	2,5/–	–	–	10/50	2,5/–
17	2-Butoxyethanol	111-76-2	–/5	24/–	49/246	98/246	97/–	49/196	98/250	123/246	98/246
18	Nitrobenzene	98-95-3	3/6	5/–	1/–	1/–	5/–	1/2	1/5,1	1/–	1/–
19	Hydrogen sulfide	7783-06-4	–/10	–/15	7/14	7/14	14/21	7,1/14,2	7/14	7/14	7/14
20	DMF	68-12-2	–/10	30/–	15/30	15/30	30/–	15/30	15/30	30/61	30/–
21	Methyl acrylate	96-33-3	5/15	35/–	18/36	14/28	7/–	18/18	7/18	36/–	7,2/–
22	Methanol	67-56-1	5/15	260/–	260/ 1300	100/ 300	262/ 328	270/ 1080	270/ 330	266/ 333	266/ 333
23	Ammonia	7664-41-7	–/20	35/27	7/14	14/28	17/24	14/28	14/36	18/25	14/36
24	Butan-1-ol	71-36-3	10/30	–/150	–/150	50/150	–/152	310/310	150/230	–/154	62/–
25	Dichloromethane	75-09-2	50/100	–	178/356	88/–	174/–	180/360	350/880	350/ 1060	177/–
26	Methyl acetate	79-20-9	–/100	610/760	610/760	250/600	606/757	610/ 2440	610/770	616/770	615/768
27	Xylene, o-, m-, p- or mix	1330-20-7	50/150	435/665	221/442	100/–	434/651	440/880	220/440	220/441	221/442
28	Toluene	108-88-3	50/150	375/560	76,8/384	100/200	188/–	200/760	81/380	191/384	77/384
29	n-Butyl acetate	123-86-4	50/200	710/ 950	710/ 940	200/ 950	713/ 950	480/ 600	720/ 960	724/ 966	723/ 964
30	Butan-2-one	78-93-3	200/400	590/885	600/900	450/900	150/300	600/600	–/300	600/899	600/900
31	Dimethyl ether	115-10-6	200/600	–	1920/–	1000/–	–	1900/ 15200	2000/–	766/ 958	1920/–
32	n-Hexane	110-54-3	300/900	1800/–	72/–	72/–	176/–	180/ 1440	72/–	72/–	72/–
33	1,1,2,2-Tetrachloro-1,2-difluoroethane	76-12-0	–/1000	4170/–	4170/–	–	4170/–	1700/ 3400	4200/ 5300	847/ 847	423/–
34	Bromotrifluoromethane	75-63-8	–/3000	6100/–	6100/–	–	6090/–	6200/ 49600	6200/ 8000	6190/ 7430	6178/–
35	Dichlorodifluoromethane	75-71-8	–/3000	4950/–	4950/–	–	4950/–	5000/ 10000	5000/ 6500	5030/ 6280	5022/–

Примечание: * Значение показателя отсутствует.

Таким образом, установление российских и зарубежных показателей гигиенического нормирования содержания лекарственных средств в воздухе рабочей зоны происходит с использованием одинаковых базовых принципов, требует близкого набора данных и имеет схожие этапы, однако эти нормативы не являются эквивалентными ввиду отличия допущений, применяемых при их обосновании, а именно: использования различных предельных доз, разницы коэффициентов запаса и расчётов по эмпирическим уравнениям, не применяемых за рубежом. Указанные особенности проявляются в значительной разнице численных значений показателей. По этой причине показатель OEL не может быть напрямую использован вместо ОБУВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов: Методические указания МУ-1.1.726-98. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 1999. 70 с.
2. Методические указания по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны МУ-54000-85. – М: Министерство здравоохранения СССР; Главное санитарно-эпидемиологическое управление, 1985. 35 с.
3. Методические указания к постановке исследования для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны МУ-2163-80. – М.: Министерство здравоохранения СССР, 1980. 21 с.
4. R.H. Ku. An overview of setting occupational exposure limits (OELs) for pharmaceuticals // Chemical Health & Safety. 2000. Jan./Feb. P. 34–37.
5. Guidance on Setting In-House Occupational Exposure Limits for Airborne Therapeutic Substances and their intermediates. – London: The Association of the British Pharmaceutical Industry, 1995. 22 p.
6. S.P. Binks. Occupational toxicology and the control of exposure to pharmaceutical agents at work // Occupational Medicine. 2003. V. 53. № 6. P. 363–370.
7. Methodology for the Derivation of Occupational Exposure Limits, European Union: Scientific Committee on Occupational Exposure Limits, Key Documentation (version 7). June 2013. 38 p.
8. Е.В. Сотникова, Н.Ю. Калпина, С.А. Пиункова. Токсикология в вопросах и ответах: учебное пособие. – М.: МАМИ, 2012. 162 с.
9. В.Г. Смирнов, В.Г. Маймулов, С.П. Нечипоренко, А.О. Лойт, А.А. Лоянич, С.Е. Колбасов. Расчетные методы оценки опасности и гигиенического нормирования вредных веществ в разных средах. – М. 2002. 130 с.
10. W.E. Luttrell, W.W. Jederberg, K.R. Still. Toxicology Principles for the Industrial Hygienist. – USA: AIHA, 2008. 453 p.
11. M. Koller, C. Pletscher, M. Jost. Swiss occupational exposure limits: Fact sheet. – Switzerland: Occupational Medicine Department, 2013. 24 p.
12. B.D. Naumann, P.A. Weideman. Scientific Basis for Uncertainty Factors Used to Establish Occupational Exposure Limits for Pharmaceutical Active Ingredients // Human and Ecological Risk Assessment. 1995. V. 1. № 5. P. 590–613.
13. A. Dankovic, B.D. Naumann, A. Maier, M.L. Dourson, L.S. Levy. The Scientific Basis of Uncertainty Factors Used in Setting Occupational Exposure Limits // Journal of Occupational and Environmental Hygiene. 2015. V. 12. P. S55–S68.
14. З. Павелек. Раздаточный материал курса повышения квалификации «Валидация процессов очистки». – М.: АО «Р-Фарм», 2016. 47 с.
15. A.W. Ader, T.A. Kimmel, R.G. Sussman. Applying Health-Based Risk Assessments to Worker and Product Safety for Potent Pharmaceuticals in Contract Manufacturing Operations // Pharmaceutical Outsourcing. 2009. V. 10. № 4. P. 48–53.
16. M. Topping Occupational exposure limits for chemicals // Occup. Environ. Med. 2001. V. 58. P. 138–144.
17. L. Schenk. Setting occupational exposure limits: Practices and outcomes of toxicological risk assessment. – Stockholm: Royal Institute of Technology, 2011. 40 p.
18. Гигиенические критерии для обоснования необходимости разработки ПДК и ОБУВ (ОДУ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест, воде водных объектов: Гигиенические нормативы ГН 1.1.701-98. – М.: Госкомсанэпиднадзор РФ, 1998.
19. Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.1314-03. – М.: Минздрав России, 2003.
20. База данных организации «Institut fuer Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA)», Sankt Augustin, Germany. 2016. URL: http://limitvalue.ifa.dguv.de/ (дата обращения 15.04.2016).
21. Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.1313-03. – М.: Минздрав России, 2003.

УДК 615.11, 615.12, 614.27.007, 615.15, 615.19, 615.099

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

*** адресат для переписки:**
E-mail: zelixon1930@yandex.ru

РЕГЛАМЕНТАЦИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В РОССИИ XVI И XVII ВЕКОВ: ВЕРТОГРАДЫ, ФАРМАКОПЕИ, ЛЕЧЕБНИКИ

Ю.И. Зеликсон[1]*

Резюме. В статье дан обзор первых медицинских рукописных источников, регламентирующих изготовление лекарственных средств в России XVI и XVII веков: вертоградов, лечебников, фармакопей. Приведены сведения о первых аптечных учреждениях – зелейных лавках, об Аптекарском указе, в функции которого входил контроль изготовления лекарственных средств.

Ключевые слова: история фармации, регламентация изготовления лекарственных средств, ветрограды, зелейные лавки, Аптекарский указ.

REGULATION OF DRUGS PRODUCTION IN RUSSIA XVI AND XVII CENTURIES: VINEYARD, PHARMACOPOEIAS, LECHEBNIK

Y.I. Zelikson[1]*

Abstract. The article provides an overview of the first medical manuscript sources that regulate drugs production in Russia XVI and XVII centuries: vineyard, lechebnik, pharmacopoeias. Here are the details about the first pharmacies – Here are the details about the first pharmacies – green benches, an Pharmaceutical decree, which functions include control the drug production.

Keywords: history of pharmacy, regulation of the drug production, vineyard, green benches, Pharmaceutical decree.

ВВЕДЕНИЕ

До XVIII столетия официальных фармакопей в России не было. Предшественниками первых русских фармакопей являются различные рукописные травники и лечебники, имевшие распространение в России в XVI и XVII веках [1–6].

На основании различного происхождения и содержания их делят на несколько групп. Под названием «вертоград», «сад лекарственных растений» известны рукописи, в основе которых лежит перевод с немецкого сочинения «Ortus sanitatis», популярного в средние века в Германии и выдержавшего там несколько изданий. В одной из рукописей вертограда указано: «Божией милостию книга сия переведена бысть с немецкого языка на словенский, а перевел полонянин литовский, родом немчин, любчанин [т.е. из г. Любека]. Переведена книга сия лета 1534 года».

В основе рукописей, известных под названием «прохладный вертоград» («Книга, глаголемая прохладный вертоград, избранная от многих мудрецов о различных врачевских вещех, ко здравию человеческому пристоящих»), лежит печатная книга «Hortus Amoenus», переведенная на русский язык с немецкого или латинского оригинала в 1672 г. подьячим Земского приказа Андреем Никифоровым. Прохладные вертограды отличались от вертоградов кратким описанием растений, причем указаны растения в подавляющем большинстве отечественные, хотя и совпадающие с западноевропейской флорой. Переписчики прохладного вертограда перерабатывали его, пополняли новыми сведениями, в значительной степени русифицировали.

Основой рукописей «О перепущении вод» являлись напечатанные в XVI в. сочинения Иеронимуса Бруншвига. В XVI в. они были переведены на немецкий язык в Германии, а у нас на русский – в середине XVII в., возможно, первым фармацевтом Василием Шиловым.

В то время многочисленные травы для лечебных целей подвергались перегонке с водой или спиртом. В XVII в. при аптекарских огородах в Москве были установлены перегонные кубы, а работающие в этих лабораториях фармацевты («альхимисты») назывались «спиртовыми перепущиками» [7].

Большой интерес представляют медицинские рукописи второй половины XVII столетия, называвшиеся «фармакопеями». Они еще не являлись обязательными, официальными руководствами, а представля-

ли из себя сборники прописей распространенных лекарств. Составители этих фармакопей стремились в какой-то мере систематизировать методы их изготовления. Сохранились имена трех составителей фармакопей. Это лекари Аптекарского приказа Иван Венедиктов [8] и Даниил Гурчин, а также архиепископ Холмогорский Афанасий.

ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВ

А.М. Филькин изучил ассортимент и технологию изготовления лекарств в этих рукописях и установил, что русские рукописные фармакопеи конца XVII столетия составлены по отечественным источникам и на основе опыта русских врачей и аптекарей. Они положили начало обобщению и унификации технологических сведений о лекарственных средствах и их качестве. В этих фармакопеях можно обнаружить черты, характерные для фармакопей последующих столетий, в известной степени они послужили материалом для составления будущих государственных фармакопей [5, 9].

Представление о характере рецептов, приводимых в рукописях, дает пример из «Реестра из дохтурских наук» А.А. Любимова:

«Состав водки апоплетиковой. Взять корицы, гвоздики, имбирю, цитрону, ладану белого всего по 20 золотников, корени пиона, бобков масличных, корки лимонной, укропу, всего по 12 золотников, ягод можжевеловых, горчицы белой, кишнецу, кардамону толченного, цвету лавендового, розмарину, майорану, всего по четверть фунта, травы шалфею, иссопу, мяты, буквицы, рябинки, мелиссы, всего по горсти, цвету ландышевого фунт, то все столочь крупно, а траву изрезать, налить двумя ведрами вина простого [т.е. водки] или пополам с романейной водкой, настаивать две недели; как настоится, перегнать через кубик, тако выйдет водки ведро. Тех всех зелий взяти на три рубли. Та водка апоплетиковая силу содержит и имеет действо помогать тем, которые суть одержимы головной болезнию и параличем. Против паралича принимать ее с утра и вечером по ложке. В тое водку помочить горчицы белой толченой; как настоится, той водкой натирать параличные места в тепле гораздо часто» [10].

Некоторые рецепты были весьма лаконичны: «…веси [т.е. взвесь] воды дягиля 6 золотников, фирияку доброго 1 золотник, корени Дягилева толченного полтора золотника и разведи то вместе и дай болящему пити прежде спания» [11].

В травниках, вертоградах и других сочинениях XVI–XVII столетий были описаны свойства различных «зелий», правила заготовки, хранения и обнаружения примесей.

Рисунок 1. Травник [12]

Качество лекарственного растительного сырья определяли по внешнему виду, по вкусу и по запаху. В одном из рукописных лечебников описаны способы обнаружения подделки заграничной мандрагоры, гвоздики, галгана.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Первыми аптечными учреждениями в России являлись зелейные лавки [13]. Сведения большинства владельцев зелейных лавок о свойствах и качестве лекарств были еще очень примитивны. Ввиду недостаточности знаний для распознавания подлинности и доброкачественности лекарств и полного отсутствия контроля со стороны государства за работой зелейных лавок происходило немало случаев отравлений и злоупотреблений лекарствами, используемыми в качестве ядов. В 1700 г. знатный боярин Салтыков отравился лекарством, купленным в зелейной лавке.

Чтобы предотвратить отравление лекарствами, правительство издало ряд постановлений по упорядочению отпуска лекарств. Еще в 1672 г. было запрещено отпускать лекарства из зелейных лавок, однако отпуск продолжался ввиду совершенно недостаточного количества существовавших тогда аптек. Описаны и случаи отравления лекарствами, отпущенными из аптеки.

Только в царской аптеке изготовление лекарств контролировали. Делали это путем «надкушивания» боярами «пристойных про великого государя лекарств». Этот своеобразный органолептический контроль проводили из боязни отравления царя, не доверявшего иноземным лекарям и аптекарям [14].

Контроль за изготовлением лекарств в придворной, а позднее и в «вольных» аптеках осуществлял Аптекарский приказ, руководивший всей системой медицинской помощи в России. Первые упоминания о деятельности Аптекарского приказа относятся к 1620 г. В его функции входило наблюдение за качеством лекарств, чтобы «никакого внешнего, ни

Рисунок 2. **Рабочий стол аптекаря [12]**

Рисунок 3. **Аптечная посуда [12]**

внутреннего зла, ни смерти не навесть и не осквернить». В XVI столетии при Аптекарском приказе в Москве существовала довольно хорошо оборудованная лаборатория.

Специалисты Аптекарского приказа, лекари, алхимисты, аптекари изготовляли разнообразные лекарственные препараты. В этой лаборатории исследовали неизвестные травы, найденные у различных лиц.

Аптекарский приказ контролировал и лекарства, приготовленные так называемыми «диштилляторами» из трав, произраставших в аптекарском огороде. Одним из первых «химиков-диштилляторов» был Василий Шилов, следивший за тем, «чтобы всякая водка и состав совершенную силу по предписанному действию в рецептах дохтурских имела».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в XVI–XVII веках на Руси имелись травники, лечебники и другие рукописи медицинского и фармацевтического характера, которые историки считают предшественниками государственных фармакопей. Эти источники содержали описание и способы приготовления лекарственных препаратов того времени. В первую очередь сырьем для них служило растительное сырье. В аптечных учреждениях XVI–XVII века – зелейных лавках – доброкачественность лекарств не контролировалась. Контроль за изготовлением лекарств стал одной из функций Аптекарского приказа.

ЛИТЕРАТУРА

1. В.Ф. Груздев. Русские рукописные лечебники. – Л.: Изд-во Военно-морской медицинской академии. 1946. С. 5–54.
2. М.Ю. Лахтин. Медицина и врачи в Московском государстве (в допетровской Руси). – М. 1906. С. 63–82.
3. М.Ю. Лахтин. Старинные памятники медицинской письменности. – М. 1911.
4. Д.М. Российский. Первые русские фармакопеи и их предшественники. [Доклад на конференции, посвященной Государственной фармакопее, VIII изд. 9–11 июня 1949 г.] // Фармакология и токсикология. 1950. № 1. С. 43–49.
5. А.М. Филькин. Лекарственные формы и препараты в медицинских рукописях XVI–XVIII столетий // Аптечное дело. 1956. Т. 5. № 2. С. 31–35.
6. К.С. Гузев. Лечебник XVII века глазами современного провизора. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 2. С. 238-247.
7. Н.А. Богоявленский Древнерусское врачевание в XI–XVII вв. Источники для изучения истории русской медицины. – М.: Медгиз, 1960. С. 72–100.
8. М.Л. Гольдфарб, А.В. Пруссак. Русский лекарь-практик и писатель второй половины XVII века Иван Венедиктов // Фармакология и токсикология. 1952. № 3. С. 23–25.
9. А.М. Филькин. История создания русских фармакопей: автореф. дисс. … к.фарм.н. – М. 1963.
10. В.А. Невский. По поводу статьи проф. Д.М. Российского «Первые русские фармакопеи и их предшественники» // Фармакология и токсикология. 1952. № 1. С. 60-63.
11. Н.А. Богоявленский. О некоторых чертах лекарствоведения в Московской Руси // Советская медицина. 1952. № 2. С. 45–47.
12. Минские аптеки. С 16-го века до наших дней URL: http://littledoc.ru/minskie-apteki-s-16-go-veka-do-nashih-dney/ (дата обращения 19.03.2016).
13. А.М. Филькин. Аптекарский экзамен в XVII столетии // Фармация. 1969. Т. 18. № 1. С. 52-55.
14. И.С. Ткешелашвили. Русская фармация до возникновения первых вольных аптек в России. – М.: БИ, 1902. 245 с.

Федеральная сеть сервисных центров «Фармконтракт»

В рамках клиентского сервиса Вы получаете следующий комплекс услуг по техническому обслуживанию оборудования ведущих мировых производителей:

Инсталляция, IQ/OQ/PQ квалификационные работы и калибровка оборудования в соответствии с требованиями нормативов USP, FIP и GMP

Составление досье на оборудование

Сервисное обслуживание: настройка, поверка и калибровка, валидация, аттестация и идентификация оборудования

Обучение персонала работе на новых моделях оборудования, правилам текущего ремонта и обслуживания

Разработка методик анализа и их установка на конкретную модель прибора заказчика

Метрологическое обслуживание средств измерений

Гарантийное и пост гарантийное обслуживание оборудования от сертифицированных сервисных инженеров

Валидация чистых помещений

«Фармконтракт Сервис» - авторизованный сервисный центр

büchiglasuster · SKALAR · BUCHI · SYSTAG · ESCO · METTLER TOLEDO · OL pharm PRO

SCHMIZO · INTEGRA · ERWEKA · Agilent Technologies · CHRIST · Julabo · BINDER

Miele PROFESSIONAL · Nabertherm · CISA · Nabertherm · M · IKA · sigma

РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ

скидка 5%
до конца июня 2016 г.*

Всегда в наличии всегда расходные материалы и запчасти для оборудования, задействованного в процессах:

- **анализа и испытаний при создании, производстве и контроле качества фармацевтических и ветеринарных препаратов;**
- **диагностических и экспертных исследований в области клинической и судебной медицины, токсикологического и экологического анализа**

**О наличии товара на складе уточняйте у менеджеров*

+7 (499) 674-09-45 (центральный офис в Москве) 8 (800) 333-93-92 (бесплатный звонок) info@phct-service.ru wwwphct-service.ru

ИЗМЕРЕНИЕ TOC И КОНТРОЛЬ ПАРАМЕТРОВ ЖИДКИХ СРЕД ПРИ РАЗРАБОТКЕ И ПРОИЗВОДСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

АВТОР

Е. Рахова,

Менеджер по продукту,
Отдел промышленного
аналитического оборудования
«МЕТТЛЕР ТОЛЕДО СНГ»

ИЗМЕРЕНИЕ TOC

Измерение общего органического углерода (Total Organic Carbon, TOC) в режиме реального времени рекомендовано фармакопеями, так как это исключает загрязнение воды органическими примесями.

Все ведущие фармакопеи мира предупреждают о сложности определения содержания общего органического углерода в чистой воде вне линии ее производства, распределения и хранения. Независимо от опыта и компетенции специалистов, выполняющих пробоотбор, невозможно полностью исключить риск загрязнения пробы. Поэтому расхождения между результатами анализа, полученными лабораторными методами и аналитическими приборами, встроенными в линию, могут быть значительными.

По причине большого количества подобных разногласий Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) и другие организации рекомендуют производителям проводить непрерывный мониторинг качества чистой воды с использованием приборов контроля, встроенных в линии очистки и распределения. Данные рекомендации являются частью инициативы PAT (Process Analytical Technology – технология контроля встроенными средствами), проводимой FDA для обеспечения гарантии качества фармацевтической продукции.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

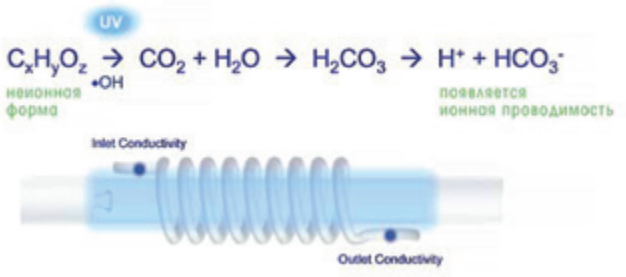
Рекомендации USP <643>

В редакции 1996 года глава <643> Фармакопеи США (USP) устанавливала определение TOC как дополнение к анализу общего содержания окисляемых веществ. Это довольно устаревший метод титрования, основанный на появлении или исчезновении розовой окраски, имеющий нечеткую конечную точку и не дающий точной количественной информации о содержании общего органического углерода. Определение содержания TOC таким методом часто приводило к появлению ложноположительных результатов.

В мае 1998 года USP изменила формулировку главы <643>, заменив методику титриметрического определения содержания окисляемых веществ на приборный метод определения содержания общего органического углерода. В главе <643> также приводятся требования к аналитическим приборам, которые могут использоваться как для мониторинга воды в потоке, так и для анализа отобранных проб.

Соответствие требованиям фармакопей в режиме реального времени

Анализаторы общего органического углерода 5000TOCi, 4000TOC и 450TOC от METTLER TOLEDO Thornton выполняют непрерывный анализ чистой воды в потоке. Принцип действия приборов – дифференциальная кондуктометрия с окислением молекул органических примесей УФ-излучением с длиной волны 180 нм. Поток пробы проходит по проточной кварцевой кювете спиральной формы и многократно облучается УФ-лампой, находящейся в центре спирали. Удельная электропроводность измеряется высокоточными титановыми датчиками. Конструкция измерительной ячейки обеспечивает очень быстрый отклик на изменения TOC. Непрерывность измерений позволяет вести трендинг и документирование данных. Приборы полностью соответствуют требованиям фармакопей USP, EP, ChP и JP.



ПОДДЕРЖАНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ В ПРОЦЕССЕ ФЕРМЕНТАЦИИ

Контроль pH, содержания растворенного кислорода и углекислого газа очень важен при создании идеальных условий для биопроцессов, применяемых в технологиях микробной ферментации и клеточных культур.

Новая технология ISM (цифровое управление датчиками), разработанная компанией METTLER TOLEDO , позволяет максимально упростить эксплуатацию и обслуживание системы контроля параметров среды в биореакторе.

Ошибки оператора, которые могут быть допущены при конфигурировании трансмиттера, полностью исключаются, так как вся информация о системе автоматически считывается с датчика при включении благодаря функции «Plug and Measure» («Подключи и измеряй»). Возможна предварительная калибровка датчика вне точки измерения с помощью ПО iSense, что обеспечивает простоту и удобство замены датчика. Система самодиагностики позволяет планировать техническое обслуживание или замену датчика, оптимизировать работу и снизить эксплуатационные затраты.

Все трансмиттеры METTLER TOLEDO имеют управляющие выходы для контроля работы перистальтических насосов, дозирующих кислоту и щелочь для поддержания необходимого уровня pH, или скорости вращения мешалок, регулирующих содержание растворенного кислорода.

Биореакторы Eppendorf BioFlo 320 поддерживают прямое подключение цифровых датчиков ISM METTLER TOLEDO к контрольному блоку.

Измерение pH

Ферментативная активность и клеточный метаболизм очень чувствительны к изменениям pH. Уровень кислотности является одним из основных факторов среды, определяющих рост и биосинтетическую активность продуцентов. Скорость биохимических реакций регулируется путем добавления кислоты или щелочи. Измерение pH должно быть точным (±0,02 единицы pH), потому что изменения pH несут важную информацию о кинетике процесса.

pH-электроды METTLER TOLEDO обладают требуемой точностью, а также очень стабильными параметрами и сохраняют нулевую точку и наклон характеристики даже после многих циклов стерилизации. Все pH-электроды комбинированные, имеют датчик температуры и растворозаземляющий контакт Solution Ground для работы самодиагностических функций ISM и измерения окислительно-восстановительного потенциала среды. Датчик pH модификации UD (UpsideDown) может быть установлен в дно биореактора в перевернутом положении (например, в реактор с рубашкой).

Измерение содержания растворенного кислорода

Растворенный кислород должен непрерывно поступать к клеткам в процессе ферментации. Для аэробных микроорганизмов приток кислорода обеспечивает аэробный метаболизм и ингибирует развитие анаэробов.

Для аэробных процессов содержание кислорода регулируют интенсивностью перемешивания или добавлением к газовой смеси кислорода с помощью компрессора. Управление воздушным компрессором или скоростью вращения мешалки с помощью сигналов датчика растворенного кислорода позволяет обеспечить подачу кислорода к клеткам или микроорганизмам точно в таком количестве, которое необходимо, а также сократить затраты на электроэнергию.

METTLER TOLEDO производит полярографические и оптические датчики растворенного кислорода с технологией ISM. Принцип оптического измерения основан на эффекте гашения флуоресценции и имеет ряд преимуществ по сравнению с полярографической технологией, таких как отсутствие необходимости предварительной поляризации датчика и существенно меньший дрейф, что немаловажно с учетом продолжительности процессов ферментации.

Измерение содержания углекислого газа

Энергетической основой аэробных форм жизни является окисление углеводов до CO_2 и воды. Помимо измерения уровня pH и концентрации растворенного кислорода, большое значение для успешного протекания процессов ферментации имеют надежность измерения и регулирования парциального давления CO_2. Новые системы измерения концентрации CO_2 METTLER TOLEDO обеспечивают получение точных значений в режиме реального времени, благодаря чему улучшается понимание важнейших процессов, связанных с клеточными культурами и ферментацией. Для успешного проведения процесса важное значение имеет надежность измерения содержания CO_2, так как при высоких концентрациях в жизнеспособных клетках происходит быстрое накопление этого газа, задерживается рост клеток и образование продукта в клетках млекопитающих, а также изменяется схема гликозилирования рекомбинантных белков. Поддерживая постоянный низкий уровень концентрации CO_2, можно существенно ускорить процесс получения фармацевтических препаратов, белков и антител.

В датчиках InPro 5000i использован принцип потенциометрической ячейки Северингхауса. В этой ячейке индикаторным электродом является специальный pH-электрод, отделенный от измеряемой среды газопроницаемой мембраной. CO_2 диффундирует сквозь мембрану во внутренний электролит до достижения равновесия с гидрокарбонат-ионами, изменяя уровень pH электролита, значение pH пересчитывается в концентрацию CO_2.

Конструкция датчиков серии InPro 5000i оптимизирована для измерения концентрации растворенного CO_2 *in situ* при проведении процессов, связанных с клеточными культурами и ферментацией.

Eppendorf поддерживает цифровой формат ISM от METTLER TOLEDO

Компания Eppendorf – всемирно известный производитель оборудования и материалов для биотехнологии и работы с образцами жидкостей и клеток – объявила о выпуске новой станции контроля биопроцессов BioFlo 320.

Станция BioFlo 320 может использоваться для микробной и клеточной культуры, наращивания и уменьшения масштабов, периодических, подпитываемых и непрерывных процессов. Обеспечивая максимальную функциональность, гибкость и улучшенный контроль, она находит применение во всех сегментах биотехнологической и фармацевтической отраслей.

BioFlo 320 имеет целый ряд характеристик, выделяющих эту станцию как новую альтернативу премиум-класса на рынке оборудования для биопроцессов. Среди самых значимых компания Eppendorf отмечает возможность использования автоклавируемых и одноразовых емкостей, коммуникацию через IP-сеть, а также интеллектуальные датчики pH, растворенного кислорода и углекислого газа. Контрольный блок биореактора поддерживает подключение до 4 цифровых датчиков ISM METTLER TOLEDO. В новой версии программного обеспечения BioFlo 320 реализована истинная интеграция платформы ISM с поддержкой полного набора функций цифровых датчиков.

ТИТРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИНКА В РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТАХ

АВТОР

А. Шайхлисламова,

руководитель направления
Аналитические приборы
«МЕТТЛЕР ТОЛЕДО СНГ»

ВВЕДЕНИЕ

Получение достоверных результатов титрования определяется качеством пробоподготовки и правильным выбором метода и датчика. В этой статье мы рассмотрим один типичный пример и покажем, как METTLER TOLEDO находит решения для самых нетривиальных практических задач.

В последние годы набирает популярность использование растительных лекарственных средств вместо традиционных фармацевтических препаратов. Например, препараты на растительной основе широко используются при обыкновенных простудах и все, что облегчает симптомы и сокращает период заболевания, пользуется популярностью.

ОТ ЛЕЧЕБНЫХ СРЕДСТВ ДОМАШНЕГО ПРИГОТОВЛЕНИЯ ДО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Одно из старейших и наиболее эффективных средств – это успокаивающее горячее питье из лимона и эхинацеи. Корень эхинацеи действует как иммуностимулятор, запускающий защиту организма от вирусных инфекций, которые обычно называют простудой, а лимонный сок действует как натуральный антисептик и может помочь снять болезненное воспаление горла. Эти средства настолько популярны, а их рынок растет настолько быстро, что крупные фармацевтические компании производят свои собственные варианты таких средств в форме порошков. Их состав обычно соответствует составу средств домашнего приготовления, но с добавлением цинка. Цинк жизненно важен для организма человека и принимает участие во многих биохимических процессах. Промышленное производство находится под строгим контролем регуляторных органов, для которых контроль качества готовой продукции является необходимым условием, и спецификации должны неукоснительно соблюдаться для каждого элемента. Определение содержания цинка часто проводят методами титрования, и все методики перед использованием должны пройти процесс валидации.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

ОБЗОР ТИТРИМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦИНКА

Цинк в растворе обычно определяют одним из описанных ниже методов титрования. Если отсутствует мешающее влияние окрашенных компонентов препарата, то можно применять прямое комплексонометрическое титрование раствором ЭДТА в присутствии индикатора. Перед титрованием раствор образца доводят до pH 9. Альтернативным способом проведения комплексонометрического титриметрического анализа будет обратное титрование избытка раствора ЭДТА, добавленного к образцу. Возможен анализ цинка титрованием с ион-селективным электродом в качестве индикаторного, или проводится осадительное титрование.

Использование ионселективного электрода ограничено высокими затратами на замену ионселективного электрода, срок службы которого невелик. Кроме этого, методика титрования с индикацией ионселективным электродом требует дополнительного этапа определения холостой пробы перед каждым испытанием.

При осадительном титровании требуется применение серной кислоты и поддержание высокой температуры раствора (60–70 °C) в процессе титрования. Такой способ опасен для оператора, а также требует повышенных трудозатрат для реализации.

ВЫБОР МЕТОДИКИ

Из перечисленных выше методик оптимальным является титриметрический анализ с фотометрической индикацией. При тщательном выборе индикатора, длины волны для индикации и буфера pH этот метод несложен в реализации, надежен и дает достоверные и прослеживаемые результаты. К недостаткам метода можно отнести мешающую индикации интенсивную окраску образца. Некоторые коммерчески доступные препараты «цинк – эхинацея – лимон» имеют интенсивный желтый цвет при растворении в горячей воде. Эта проблема, однако, легко решается выбором правильной степени разбавления.

ОПИСАНИЕ ТИТРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИНКА

Выпускаемый METTLER TOLEDO датчик для фотометрической индикации при титровании фототрод DP5 позволяет выбирать длину волны (520, 555, 590, 620 и 660 нм), на которой проводится индикация изменения цвета раствора. В сочетании с продуманным дизайном это позволяет применять DP5 для обнаружения изменения цвета любых индикаторов, практически применяемых в лаборатории для титрования.

Успешно прошла испытания и была принята следующая методика:

1. Отбирают образец массой 25 г (обычно из объединенной пробы нескольких пакетиков порошка «цинк – эхинацея – лимон») и растворяют в воде. Объем раствора доводят до 500 мл. Цвет этого маточного раствора размыт в достаточной степени для проведения фотометрического определения.
2. Отбирают аликвотную часть маточного раствора объемом 25 мл. Добавляют 20 мл воды, 10 мл буферного раствора NH_4Cl/NH_3 с pH 9 и несколько капель индикатора эриохром черный Т (0,1% спиртовой раствор).
3. Получившийся раствор титруют раствором ЭДТА 0,01 М, а конечную точку определяют по измерениям с помощью фототрода DP5 на длине волны 620 нм. В работе использован титратор новой серии Excellence T9. Метод также можно реализовать на титраторах T7 и T5.

В таблице 1 представлены результаты трех повторяющихся определений цинка в образце коммерчески доступного порошка. Расчет содержания цинка в мг/пакет проведен на основании средней массы пакета, указанной производителем.

Методика была дополнительно испытана на полноту определения путем добавления 1 мл стандартного раствора цинка к испытуемым аликвотам. В итоге был получен результат, соответствующий содержанию цинка 6,539 мг (таблица 2).

Рисунок 1. Стенд для титрования с использованием фототрода DP5

Таблица 1.

Результаты титрования содержания цинка в витаминных пакетах

Объем образца (мл)	Объем раствора ЭДТА (мл)	мг цинка/пакет
25,0	2,29094	5,58
25,0	2,26635	5,53
25,0	2,26015	5,51
	Среднее значение (n=3)	5,54
	Стандартное отклонение	0,03606
	Относительное стандартное отклонение	0,6508%

Таблица 2.

Результаты титрования после добавления стандартного раствора цинка

Объем образца (мл)	Объем раствора ЭДТА (мл)	Кол-во определенного цинка (мг)	Полнота определения (%)
20,0 + 1,0	2,1600	6,55	100,24
20,0 + 1,0	2,15226	6,53	99,79
20,0 + 1,0	2,15787	6,55	100,12
	Среднее значение (n=3)		100,05
	Стандартное отклонение		0,2330
	Относительное стандартное отклонение		0,233%

ИСПОЛЬЗОВАННОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

В работе были использованы титраторы Titration Excellence нового поколения производства METTLER TOLEDO. Приборы оснащены новым дисплеем высокого разрешения, встроенным считывателем SmartSample для беспроводной передачи веса навески и расширенной функциоальности методов по сравнению с предыдущей серией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты демонстрируют как превосходную воспроизводимость, так и полноту извлечения. Показано, что присущий раствору цвет не мешает анализу, поэтому титрование с фотометрической индикацией будет давать правильные результаты. Титрование с использованием фототрода DP5 – надежный метод, который можно использовать в качестве аналитического решения для титрования в широком круге образцов.

101000, Россия, Москва
Сретенский бульвар, д. 6/1, офис 6
Тел. +7 495 651 9886
E-mail: inforus@mt.com
http://www.mt.com

ПЕРИОДИЧЕСКОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК CHO-K1 В БИОРЕАКТОРЕ LABFORS 5 CELL ОТ INFORS HT

АВТОР

Р. Портнер (R. Pörtner),

д.т.н., профессор Института биотехнологий и биоинжиниринга Гамбургского технологического университета (Гамбург, Германия)

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторные биореакторы широко применяются для культивирования клеток животных и человека, например для получения клеток и продуктов на их основе в небольших масштабах, а также для процессов оптимизации или в качестве промежуточного этапа системы посевных ферментёров. В данной статье рассмотрен пример успешного периодического культивирования клеточных линий CHO-K1 (овариальные клетки китайского хомячка), адаптированных для роста в суспензии в лабораторном биореакторе Labfors Cell 5 (INFORS HT, г. Ботминген, Швейцария), представлен на рисунке 1.

Клеточные линии CHO широко используются в научно-исследовательской деятельности и промышленности в качестве экспрессирующих систем для лекарственных препаратов. Используемая клональная клеточная линия была предоставлена профессором Томасом Ноллом, Билефельдский университет (Германия).

Технические характеристики биореактора Labfors 5 Cell

- Емкость для культивирования: сосуд объемом 3,6 л с закруглённым днищем.
- Магнитная мешалка (30–300 об/мин).
- Наклонные лопасти в виде имплеллера.
- Контроль pO_2 посредством аэрации воздухом, O_2 и N_2.
- Контроль pH посредством регулирования CO_2.
- Устройство воздушного охлаждения (по умолчанию).
- Температурный контроль с помощью обогревающего мата на внешней стенке сосуда.
- Разбрызгивание: кольцевое обращающее устройство с порами микронного размера в нижней части.
- Асептическая система пробоотбора.
- Опциональный контроль уровня пены.
- Определение параметров в режиме реального времени с помощью программного обеспечения Iris.

МЕТОДЫ

а) Среда

Клетки CHO-K1 культивировались в бессывороточной и безбелковой среде CHOMACS CD (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) с добавлением L-глутамина в концентрации 4 мкмоль/л (PAA Laboratories, Германия).

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

b) Установленные параметры

Биореактор Labfors 5 Cell использовался с емкостью для клеточного культивирования и калиброванными pH- и pO_2-датчиками. Рабочий объем емкости составлял 2 л, температура поддерживалась на уровне 36,9 °C. Культивирование проводилось при скорости перемешивания 156 об/мин, соответственно время смешивания приблизительно Θ_{95} = 5 с (определяемой по методу изменения цвета – раствор крахмала / йодного калия / тиосульфата натрия), и окружной скорости конца лопасти смесителя 0,7 м/с. Данные значения находятся в пределах допустимого технологического диапазона, приведенного Platas et al. для лабораторных биореакторов (2012) [1].

Значение pO_2 при 30%-м насыщении воздуха поддерживалось с помощью прямой подачи воздуха, кислорода и азота со скоростью аэрации до 100 мл/мин (0,05 vvm). Значения pH поддерживались на уровне 7,15 путем разбрызгивания CO_2 или добавления 0,5 M $NaCO_3$ с помощью перистальтических насосов.

c) Периодическое культивирование

Для получения прекультур использовались качалочные колбы. Начальная концентрация жизнеспособных клеток после посева составляла $3x10^5$ клеток/мл. Процесс культивирования продолжался в течение 6 дней и оценивался по клеточному росту, потреблению субстрата и выработке метаболитов в асептически отобранных образцах.

d) Анализ

Для определения концентрации клеток использовался гемоцитометр (Neubauer Improved, Blue Brand, Германия), жизнеспособность определялась с помощью метода вытеснения трипанового синего. Глюкоза, лактат и глутамин анализировались с помощью YSI 7100 MBA (Yellow Springs Instruments, США), аммиак – спектрофотометра (Bio-Rad, Мюнхен, Германия) и комплекта Spectroquant 1.14752.0001 (Merck, Дармштадт, Германия) на длине волны 690 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Периодическое культивирование клеток CHO-K1 было успешно проведено за 6 дней. Зависимость от времени жизнеспособности и общей плотности клеток показана на рисунке 2.

На 5-й день максимальная концентрация жизнеспособных клеток составила $1,27x10^7$ клеток/мл, что соответствует коэффициенту размножения 36 (отношение максимальной и начальной плотности клеток). В течение фазы экспоненциального роста (до 3-го дня) средние показатели жизнеспособности клеток составляли 98%. Во время этой фазы скорость роста μ была на уровне 0,049/ч, а время удвоения – 14,1 ч (рисунок 3).

Рисунок 1. Биореактор Labfors 5 Cell

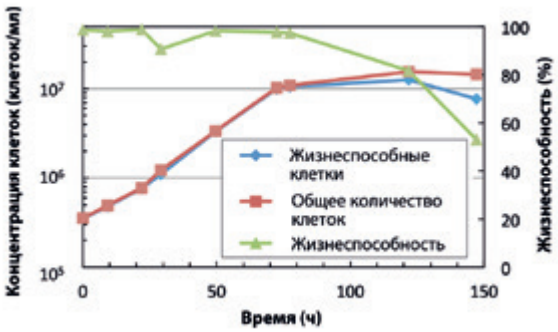


Рисунок 2. Зависимость жизнеспособности и общей плотности клеток от времени

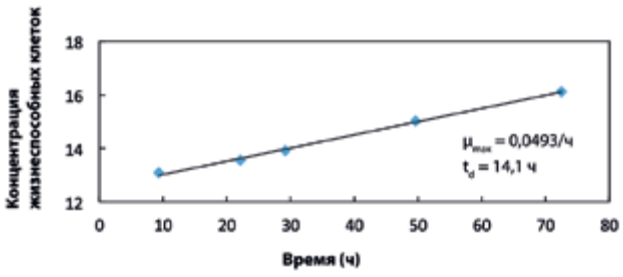


Рисунок 3. Определение максимальной скорости роста μ_{max} и времени удвоения t_d

Зависимости от времени основных субстратов (глюкоза и глутамин), а также основных метаболитов (лактат и аммиак) показаны на рисунках 4 и 5. В конце процесса культивирования глюкоза была полностью усвоена. При низкой концентрации глюкозы (начиная с 3-го дня) клетки начинали усваивать лактат. Глутамин был полностью усвоен после 3 дней, что соответствует окончанию фазы экспоненциального роста. Лак-

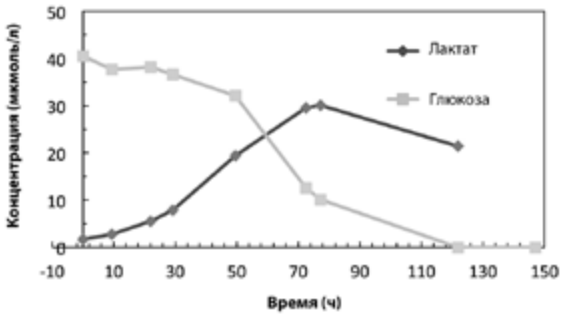


Рисунок 4. Зависимость концентрации глюкозы и лактата от времени

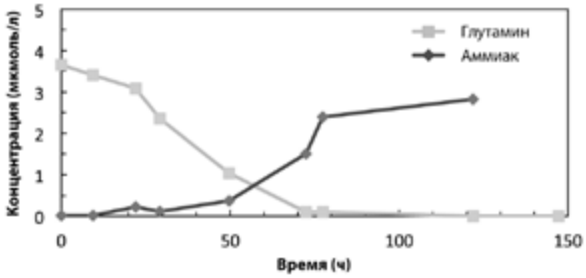


Рисунок 5. Зависимость концентрации глутамина и аммиака от времени

тат и аммиак не достигли уровня подавляющих рост концентраций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За 6 дней было успешно проведено периодическое культивирование суспендированных клеток CHO-K1. Характер роста клеток CHO-K1 был сопоставим с предыдущими экспериментами в различных системах культивирования. Максимальная концентрация на 5-й день составляла 1,27x10^7 клеток/мл.

В течение фазы экспоненциального роста средняя жизнеспособность составляла 98%. Темпы роста и время удвоения находились на ожидаемом уровне. Кислородного питания было достаточно даже при такой высокой плотности клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. O. Platas, U. Jandt, L. Phan, M. Villanueva, M. Schaletzky, A. Rath, S. Freund, U. Reichl, E. Skerhutt, S. Scholz, Th. Noll, V. Sandig, R. Pörtner, A. Zeng. Evaluation of criteria for bioreactor comparison and operation standardization for mammalian cell culture // Engineering in Life Sciences. 2012. № 12(5). P. 518–528. DOI: 10.1002/elsc.201100163.

Вы хотите быть
на шаг впереди?
www.phct-group.com
Оптимизируйте Ваши биопроцессы с биореакторами INFORS HT!
• Возможность дальнейшего масштабирования
• Оптимизированное управление для быстрого получения результатов
• Ориентированная на конкретное применение гибкая настройка
• Сенсорный дисплей и встроенный OPC-сервер
• Автоматическая очистка (CIP) и стерилизация (SIP) биореакторов объемом от 0,5 л до 1000 л
Multifors
Labfors
Techfors
QUALITY – MADE IN SWITZERLAND
INFORS HT
+7 (495) 252–00–98
(ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОФИС В МОСКВЕ)
8 800 700–96–26
(БЕСПЛАТНЫЙ ЗВОНОК ПО РОССИИ 24 ЧАСА)
info@phct.ru
www.phct.ru
Pharmcontract group of companies

TUBE MILL CONTROL ОТ IKA: ВОСПРОИЗВОДИМОЕ ЛАБОРАТОРНОЕ ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ БЕЗ КОНТАМИНАЦИИ

Материал предоставлен компанией IKA®-Werke GmbH & Co. KG

Рисунок 1. Мельница Tube Mill Control с мельничным стаканом

ВВЕДЕНИЕ

Немногие продукты так часто и интенсивно проверяются на качество и состав, как лекарственные препараты. Предписания надзорных органов, директивы GMP и внутренние инструкции требуют часто анализировать сырье, промежуточные и конечные продукты. При этом перекрестное загрязнение должно быть полностью исключено.

Раньше таблетки требовали проведения растворения, а в случае измельчения необходимо было проводить валидацию метода очистки. Это очень трудоемкий и времязатратный процесс.

Tube Mill Control – уникальная разработка компании IKA, это первая в мире мельница с одноразовыми мельничными стаканами для порционной загрузки продуктов, которая позволяет проводить серии опытов в стерильных и воспроизводимых условиях. Одноразовые мельничные стаканы устраняют необходимость очистки, экономя время и энергию, которые Вы можете направить на решение других, более важных задач. Кроме того, они предотвращают перекрестное загрязнение образцов, что является решающим преимуществом при обеспечении качества.

С помощью Tube Mill Control таблетки размалываются в мелкий порошок в одноразовых мельничных стаканах MT-40 объемом 40 мл. Для этого таблетки необходимо положить в стаканы, закрыть их и установить на привод. После этого настраивается требуемая частота вращения, указывается длительность опыта, а затем запускается измельчение. После завершения измельчения образец можно извлечь для анализа или оставить на хранение в надписанной мельничной камере. Далее можно определить ингредиенты таблеток с помощью таких методов, как высокоэффективная жидкостная хроматография, NIR-спектрометрия, газовая хроматография или титриметрия.

ОСОБЕННОСТИ МЕЛЬНИЦ TUBE MILL CONTROL И МЕЛЬНИЧНЫХ СТАКАНОВ

При разработке данной мельницы компания IKA особое внимание уделила обеспечению безопасности. Мельницы начинают работать только при условии, что крышка закрыта, а мельничный стакан надежно закреплен и подключен к приводу. Если одно из этих условий защиты не выполняется, то отображается сообщение об ошибке. Мельничный стакан не может быть открыт во время процесса измельчения.

Наличие лабиринтного уплотнения у привода и мельничного стакана означает, что пыль не может покинуть стакан или проникнуть внутрь привода.

Благодаря возможности произвольной настройки скоростей измельчения в диапазоне от 5000 до 25000 об/мин процесс обработки большинства образцов длится менее одной минуты.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Рисунок 2. Процесс измельчения образцов в мельнице Tube Mill Control

Одноразовые мельничные стаканы MT-40 и крышка изготовлены из прозрачного материала, что позволяет проводить наблюдение за процессом измельчения. Мельницами легко управлять благодаря удобному многоязычному OLED-дисплею и функции таймера.

Рисунок 3. Одноразовые мельничные стаканы MT-40

Эксплуатационная гибкость мельниц Tube Mill Control позволяет обрабатывать твердые (твёрдость до 5 по шкале Мооса), мягкие, сухие и хрупкие материалы. Использование сухого льда позволяет обеспечить тщательное измельчение влажных, маслянистых, эластичных и волокнистых материалов. Сухой лед добавляется непосредственно в камеру измельчения, чтобы сделать образец более хрупким. Теплоизоляционная способность пластиковой камеры позволяет использовать сухой лед в минимальном количестве. Холод сохраняется внутри камеры, позволяя пользователю работать с камерой даже после ее охлаждения. Это значительно увеличивает области применения мельниц Tube Mill Control.

Управление и документирование проводимых опытов осуществляется через USB-интерфейс.

В качестве дополнительной принадлежности для Tube Mill Control компания IKA предлагает мельничные стаканы с вкладышем из высококачественной стали для многоразового использования MMT40.1.

Многоразовый мельничный стакан MMT40.1 с максимальным объемом 40 мл можно использовать многократно, а мыть в посудомоечной машине. В комплект поставки входит большой набор запасных частей, что

Рисунок 4. Многоразовый мельничный стакан MMT40.1

позволяет при необходимости быстро заменить изношенные детали. Благодаря этому в зависимости от свойств образца можно выполнять множество опытов с использованием мельничной камеры.

Характерные особенности Tube Mill Control:

- Удобный многоязычный OLED-дисплей
- Настраиваемый таймер: от 5 с до 3 мин
- USB-интерфейс для управления и документирования всех параметров
- Интервальный режим работы
- Регулируемая скорость в диапазоне от 5000 до 25000 об/мин
- Различные режимы эксплуатации
- Настраиваемая максимальная скорость
- Настраиваемая максимальная продолжительность работы
- Возможность программирования и хранения условий эксперимента
- Индикация кода ошибки
- Воспроизводимые результаты экспериментов
- Простота управления с помощью сенсорной панели
- Пылезащищенный герметичный корпус
- Бесшумная работа

ПРЕОДОЛЕНИЕ ПРОБЛЕМ ОПТИЧЕСКОЙ ФОКУСИРОВКИ В ПОРТАТИВНЫХ РАМАНОВСКИХ СИСТЕМАХ ДЛЯ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Материал предоставлен компанией Metrohm AG

АННОТАЦИЯ

Данная статья описывает преимущества применения техники оптической фокусировки – the Orbital-Raster-Scan (ORS), используемой в портативных рамановских (КР) спектрометрах Mira от Metrohm, по сравнению с классическими методами. На практических примерах продемонстрированы преимущества использования ORS-технологии для идентификации и количественного анализа лекарственных средств. ORS дает более высокую воспроизводимость рамановского сигнала от целевого активного фармацевтического ингредиента и позволяет использовать известные спектральные библиотеки лекарственных средств. При этом длительность анализа не превышает нескольких секунд и не изменяется.

ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Развитие компактных и переносных рамановских систем позволило применить практически неизвестный ранее метод для решения рутинных задач в промышленности. Благодаря уникальному спектральному профилю рамановская спектроскопия является мощным аналитическим инструментом. Каждое вещество имеет характеристическое положение пиков и интенсивностей, что позволяет легко идентифицировать неизвестное вещество с помощью спектральных библиотек. Как известно, интенсивность прямо пропорциональна концентрации. С помощью мультиплексных моделей можно проводить определение концентраций компонентов в пробах. Однако большинство выпускаемых компактных и портативных рамановских систем имеет схожую конструкцию измерительной части, которая затрудняет идентификацию и количественный анализ проб в полевых условиях. Данная конструкция дает ряд преимуществ: низкое значение потребляемой мощности, малый размер и разрешение для идентификации широкого диапазона веществ. Основной особенностью данной конструкции является очень малый фиксированный размер лазерного пучка, т.е. точки в анализируемой пробе, что достаточно для анализа чистых веществ. Однако на сегодняшний день для большинства областей применений портативных устройств требуется более высокое спектральное разрешение и большая площадь пучка, поскольку большинство веществ и проб являются ге-

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

терогенными. Помимо этого, узкий лазерный фокус повышает удельную мощность, что, в свою очередь, приводит к локализованному нагреванию пробы. Интенсивное нагревание может разрушить образец, что наблюдается при использовании подложек поверхностно-усиленного рамановского рассеяния (Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS) или темных материалов.

РЕШЕНИЕ

Портативные системы Mira от Metrohm решают данную проблему благодаря применению технологии Orbital-Raster-Scan (ORS) (рисунок 1). Стандартные конструкции спектрометров с широкой оптической пропускной способностью и большей площадью анализа (широким лазерным пучком) не позволяют добиться требуемого для идентификации высокого спектрального разрешения. Эта важная спектральная концепция называется «оптический фактор», который отвечает за чувствительность, разрешение и площадь анализа спектрометра.

Преимущества технологии ORS наглядно продемонстрированы при анализе гетерогенного образца, помещенного на твердую подложку (рисунок 1). В дисперсионных спектрометрах узкая фокусировка луча позволяет добиться высокого разрешения, но приводит к полному пропуску анализируемого компонента. Широкий пучок дисперсионной системы требует большой диафрагмы, что приводит к ухудшению спектрального разрешения. В то же время технология ORS позволяет увеличить площадь анализа при сохранении необходимого высокого спектрального разрешения, требуемого для идентификации пробы. Большая площадь анализа является важным преимуществом в случаях, когда требуется идентификация сложных гетерогенных или темных гомогенных образцов. Таким случаем является анализ лекарственных средств, представляющих собой смесь наполнителя и активного фармацевтического ингредиента в определенной пропорции. Например, шипучие лекарства от простуды содержат три активных ингредиента: аспирин против боли, хлорфенирамина малеат как антигистаминное средство и фенилэфрина битартрат как противоотечное средство. Состав таблетки – это результат гомогенного распределения активных ингредиентов. Размер каждой частицы ~25 мкм. Рамановская спектроскопия является быстрым и эффективным методом определения распределения активных ингредиентов. Тем не менее малый размер частиц и малая площадь анализа для большинства рамановских систем делают этот анализ сложным и трудозатратным. Одним из путей решения является достижение большей площади анализа с помощью автоматического XYZ-сканирования и перемещения образца. Данный способ хотя и повышает эффективность анализа, но достаточно дорог. Быстрый, простой и экономичный метод – это приборы с использованием преимуществ технологий ORS.

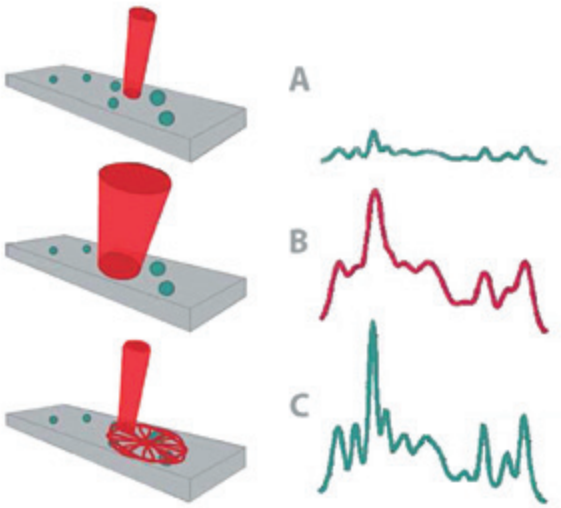


Рисунок 1. Технология оптической фокусировки. Дисперсионные спектрометры используют плотно сфокусированный луч (A). Это дает высокое спектральное разрешение, но не позволяет обнаруживать отдельные компоненты в гетерогенных образцах. Расширение пучка приводит к снижению спектрального разрешения (B). Технология ORS (C) позволяет анализировать большую площадь образца, что повышает вероятность захвата дисперсных частиц в образце. В то же время это позволяет сохранить высокое разрешение, требуемое для аналитической идентификации

ПРЕИМУЩЕСТВА ORS

Воспроизводимость

Для демонстрации высокой воспроизводимости спектрального сигнала, достигаемой с применением технологии ORS спектрометров Mira M-1, анализировались несколько образцов шипучих лекарств от простуды. Использованный прибор Mira M-1 показан на рисунке 2. Образцы таблеток помещались на рабочий стол, анализ проводился без пробоподготовки. Анализ проводился в пятнадцати случайных точках образца. Параметры эксперимента: время интегрирования – 1 с, мощность лазера – 75 мВт, ORS выключено. Полученный 3D-спектр показывает широкий разброс интенсивности пиков (рисунок 3).

Затем образец анализировался с использованием системы Mira M-1 с применением технологии ORS и пространственного усреднения. Параметры эксперимента были аналогичны, также проведен анализ 15 спектров в различных локациях на образце. Полученный 3D-спектр демонстрирует повышение воспроизводимости КР-спектра при увеличении площади сканирования (рисунок 4).

Рисунок 2. Портативный рамановский (КР) спектрометр Mira M-1

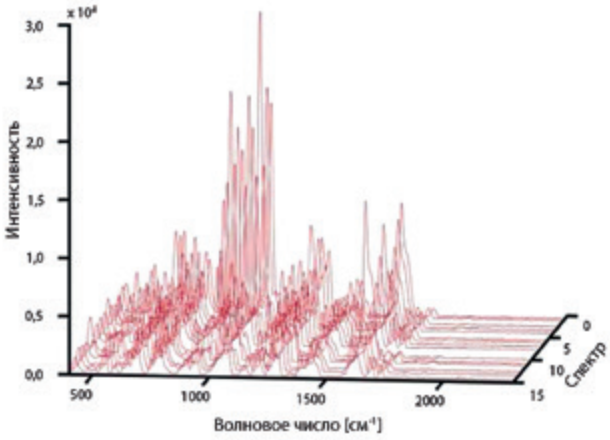


Рисунок 3. 15 Рамановских спектров, полученных в различных позициях на образце без применения ORS-технологии. Несмотря на одинаковое положение пиков, наблюдаемый сигнал значительно меняется

Количественный анализ

Были проанализированы три пробы образцов шипучих таблеток против простуды с известным содержанием аспирина – Severe Cold and Flu, Original (325 мг) и Extra Strength (500 мг). Получено пять спектров каждого образца (всего 15) с использованием Mira M-1 без применения ORS. Параметры анализа: время интегрирования – 1 с и мощность лазера – 75 мВт, ORS выключено. Полученные данные обработаны с использованием регрессии методом дробных наименьших квадратов без какой-либо дополнительной обработки. Результат построения перекрестной проверки достоверности R^2=0,9263.

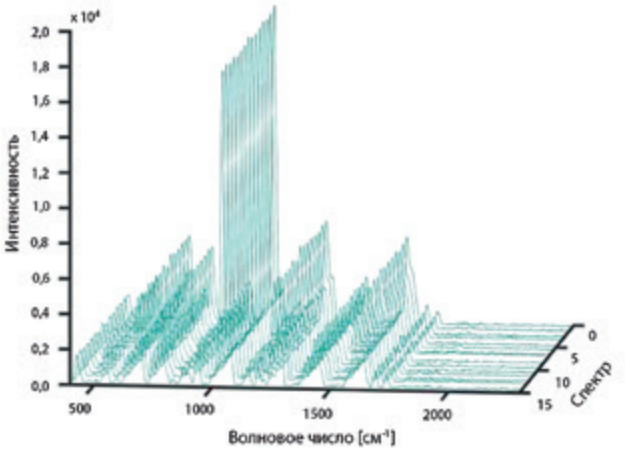


Рисунок 4. На этом рисунке, как и на рисунке 3, показаны 15 спектров, полученных со случайных локаций на одном образце. Однако в данном примере применена технология ORS для площади диаметром 3 мм. Как видно, спектры полностью совпадают

Аналогичный эксперимент был проведен с применением технологии ORS. Полученные данные обработаны с использованием регрессии методом дробных наименьших квадратов без какой-либо дополнительной обработки. Результат построения перекрестной проверки достоверности R^2=1,0. Результаты приведены на рисунке 5.

Точная идентификация

Преимущество использования ORS-технологии во время анализа демонстрирует сравнение известного лекарственного средства с библиотекой спектров. Для измерения с отключенным ORS требуется в среднем снятие 15 спектров. Сравнение с одним спектром при включенном режиме ORS приведено на рисунке 6.

Средний спектр 15 отдельных измерений при отключенном ORS практически идеально соответствует одному спектру с применением ORS, значение Hit Quality Index (HQI) = 0,99. Для сравнения режимов выбраны четыре образца и сняты 16 спектров. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Сравнение коэффициента корреляции

Образцы	Совпадения при включенном ORS	Совпадения при отключенном ORS
Образец 1	0,993298	0,987448
Образец 2	0,993080	0,987290
Образец 3	0,992688	0,95454

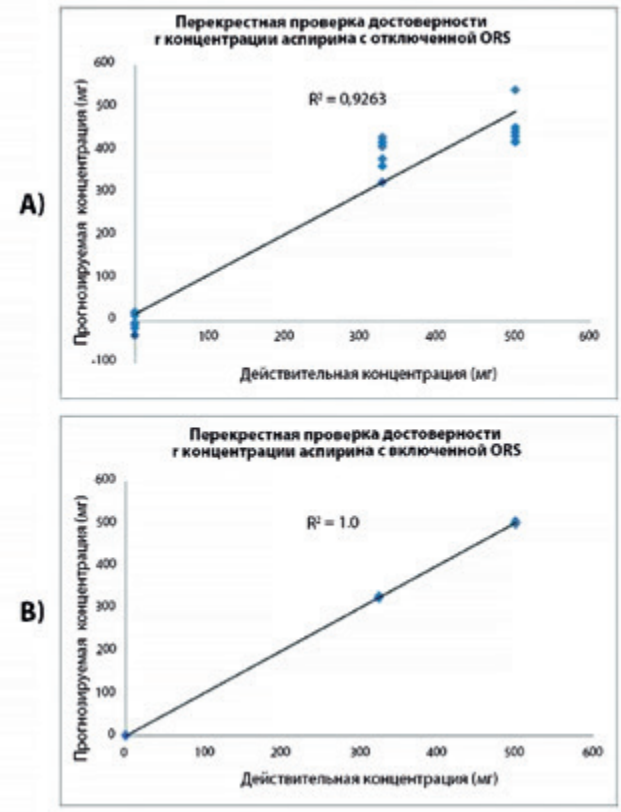


Рисунок 5. A) построение перекрестной проверки достоверности r концентрации аспирина с отключенной ORS; B) аналогичное построение перекрестной проверки достоверности с включенной ORS. Это повышает воспроизводимость полученных результатов и, следовательно, обеспечивает более точный количественный анализ

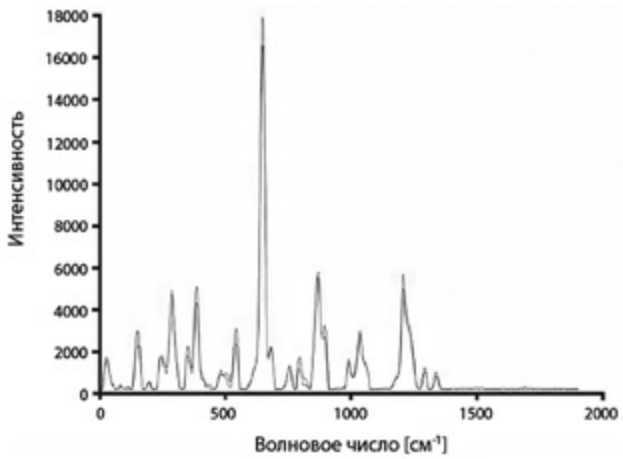


Рисунок 6. Наложение одного спектра, полученного с применением ORS, и среднего из 15 спектров без применения ORS демонстрирует практически идеальное соответствие

Для режима без применения ORS значение HQI лежит в диапазоне от 0,94 до 0,98, а для анализа с применением ORS значение HQI превышает 0,99 для всех образцов. Это демонстрирует возможности ORS для идентификации известных лекарственных средств. Использование более продвинутых методов, например метода главных компонент, обеспечивает соответствие большинству требований фармацевтических задач.

Значительное повышение скорости анализа при применение ORS очевидно, так как для анализа в режиме без ORS требуется сбор 15 спектров, в то время как при использовании ORS достаточно лишь одного спектра, следовательно, данная технология снижает время анализа на 95%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально показаны преимущества применения технологии ORS как для простой идентификации, так и для количественного анализа лекарственных средств. При анализе с применением ORS лазерный пучок перемещается, что обеспечивает сбор данных с большей площади. В то же время при отключенном ORS сбор спектральных данных происходит только на очень ограниченном объеме образца. Спектры различных активных ингредиентов могут отличаться за счет их гетерогенного распределения в образце. Следовательно, требуется усреднение нескольких спектров, полученных от одного образца лекарства, что является достаточно длительной по времени процедурой. Этот простой пример показывает, почему другие рамановские системы не способны адекватно охарактеризовать различные вещества фармацевтической и химической промышленности. Использование портативного рамановского (КР) спектрометра Mira M-1 с преимуществами технологии ORS дает быстрые, воспроизводимые и надежные результаты, что экономит Ваше время и деньги.

Metrohm

NATOLI
YOU DEMAND. WE DELIVER.

ИННОВАЦИИ В УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОЧИСТКЕ: ЭФФЕКТИВНАЯ И БЕРЕЖНАЯ ОЧИСТКА ПРЕСС-ИНСТРУМЕНТОВ NATOLI

АВТОР

Ник Кристиансен (Nick Kristiansen),
технический директор
Natoli Scandinavia
www.natoli.dk

ВВЕДЕНИЕ

Контаминация продукции является второй из трех наиболее часто встречающихся причин отзыва фармацевтических препаратов в Европейском союзе (ЕС). Поэтому неудивительно, что комиссия ЕС недавно опубликовала обновления к главам 3 («Производственные помещения и оборудование») и 5 («Производство») GMP ЕС, в которых особое внимание уделила минимизации риска перекрестной контаминации.

При производстве различных фармацевтических продуктов с использованием одних и тех же производственных мощностей потенциальная возможность возникновения перекрестной контаминации становится серьезной проблемой. Активные субстанции, которые могут остаться после очистки производственного оборудования и контактирующих с продуктом поверхностей, представляют собой источник загрязнения других производимых лекарственных препаратов.

В соответствии с принципами GMP ЕС по использованию оборудования многоцелевого назначения и снижению риска перекрестной контаминации новые требования ЕС уделяют больше внимания этому вопросу. Пресс-инструмент таблеточных прессов, обычно используемый для таблетирования различных субстанций, также может являться источником возникновения перекрестной контаминации.

Существует множество причин, вызывающих перекрестную контаминацию, которые связаны как с техническими, так и с организационными недоработками. Неудовлетворительная очистка оборудования – это одна из наиболее очевидных и легко устранимых причин.

С помощью ультразвуковой очистки можно обеспечить надежное и тщательное очищение всех поверхностей, значительно снижая риск перекрестной контаминации.

Silent Sonic – это ультразвуковая очистительная машина с сертификатом соответствия ЕС, разработанная специально для заказчиков, которые не смогли найти необходимое решение среди существующего очистительного оборудования. Для решения их задач требовалась система очистки с дружественным интерфейсом и простой валидацией, отвечающая нормам гигиены труда и техники безопасности и применимая даже в условиях небольшой лаборатории. Кроме того, многие компании хотели внедрить в свое производство экологически чистые технологии.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЧИСТКА

При использовании ультразвуковой очистительной машины очищаемый объект погружается в камеру, содержащую чистящий раствор. Встроенный в камеру ультразвуковой датчик генерирует ультразвуковые волны с частотой в диапазоне от 21,5 до 100 кГц. Колебания оказывают высокие нагрузки на загрязняющие вещества, приставшие к объектам из металла или пластика. Данный процесс позволяет удалить загрязнения даже из небольших отверстий или углублений очищаемого объекта. Процесс очистки продолжается приблизительно 3–10 мин.

Производитель установки Silent Sonic, компания Anmasi (Дания), ставит перед собой задачу обеспечить высочайший уровень очистки и валидации, требуемый в фармацевтической промышленности, и в то же время предложить решения для очистки, не оказывающие негативного воздействия на условия работы персонала.

В прошлом существующие на рынке установки ультразвуковой очистки создавали шум, негативно влияющий на персонал и рабочий процесс, что являлось одной из причин отказа научно-исследовательских отделов использовать системы ультразвуковой очистки.

Благодаря инновационной конструкции и использованию специальной изоляции PureSound установка ультразвуковой очистки Silent Sonic производит шум на уровне 48–55 дБ, который ниже уровня шума нормальной беседы. Значительно более тихое функционирование Silent Sonic по сравнению со стандартными системами ультразвуковой очистки обеспечивает более комфортные условия работы персонала.

Рисунок 1. **Пуансоны до ультразвуковой очистки**

Рисунок 2. **Пуансоны после ультразвуковой очистки**

Рисунок 3. **Система SilentSonic для ультразвуковой очистки от Anmasi**

ЗАЖИМЫ – ЭТО КЛЮЧ К УСПЕХУ

Большинство стандартных систем ультразвуковой очистки используют простые проволочные корзины для размещения очищаемых объектов в камере. Такой подход работает по отношению ко многим твердым объектам простой формы, но при очистке более сложного оборудования необходимы специальные зажимы, гарантирующие фиксацию оборудования в оптимальной позиции и обеспечивающие одинаковые условия при каждой операции очистки, что упрощает дальнейшее проведение процедуры валидации.

Показательным примером является очистка пресс-инструмента для производства микротаблеток (размером менее 3 мм). Пресс-инструмент данного типа обычно изготавливается в конфигурации с множеством насадок – до 50 хрупких специальных наконечников. Прибавьте к этому держатели насадок, шпоночные пазы и вращающиеся головки, и Вы столкнетесь с отнимающей очень много времени операцией очистки. Альтернативой разборке всего пуансона будет его непосредственное размещение в специальном зажимном приспособлении и дальнейшая загрузка в ультразвуковую очистительную машину Silent Sonic. Так достигается надежная и тщательная очистка при значительной экономии времени.

Компания Natoli, ведущий производитель пресс-инструмента, рекомендует использование ультразвуковой очистки, как наиболее эффективного и бережного метода. Интеллектуальная конструкция системы Silent Sonic предлагает новые возможности для успешной минимизации риска перекрестной контаминации. Данная инновация в стандартной процедуре – это только один из способов обеспечения соответствия требованиями ЕС.

NATOLI
YOU DEMAND. WE DELIVER.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫБОРУ МНОГОПОЗИЦИОННОГО ПРЕСС-ИНСТРУМЕНТА

АВТОР

Д. Натоли (D. Natoli),
Вице-президент
компании Natoli Engineering
Company, Inc.

АННОТАЦИЯ

В этой статье, подготовленной Дейлом Натоли, вице-президентом компании Natoli Engineering Company, Inc, представлен краткий обзор многопозиционный пресс-инструмента, а также рекомендации по выбору наиболее подходящего вида оборудования.

ВВЕДЕНИЕ

Многопозиционный пресс-инструмент давно не является новинкой в фармацевтической отрасли. Уникальная конструкция пресс-инструмента используется уже более 150 лет. На начальном этапе развития таблеточного прессования для производства таблеток использовались однопуансонные таблеточные прессы, оборудованные в основном многопозиционым пресс-инструментом, который позволил увеличить производительность и сократить потребности в рабочей силе, техническом обслуживании, энергопотреблении, пространстве, а также количестве прессов. Когда в конце XIX века был представлен высокоскоростной роторный таблеточный пресс на 16 станций, однопуансонные таблеточные прессы и многопоционный пресс-инструмент утратили свою популярность.

Вскоре после появления роторного таблеточного пресса в пищевой промышленности стал активно внедряться многопозиционный пресс-инструмент. В настоящее время фармацевтическая промышленность перенимает ее опыт.

МНОГОНАСАДОЧНЫЙ ПРЕСС-ИНСТРУМЕНТ

Наиболее распространены два вида конструкции многопозиционный пресс-инструмента: сборный (состоящий из множества элементов) и цельный. При выборе конструкции следует учитывать тип пресс-инструмента, размер таблеток и количество насадок на пуансон. Также следует принять во внимание практику обращения с пресс-инструментом, очистки и инспектирования. Поставщики пресс-инструмента, большинство из которых имеют готовые рекомендации, помогут Вам выбрать наиболее подходящий для Вашей задачи вид конструкции.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Сборный пресс-инструмент состоит из корпуса пуансона, колпачка и индивидуальных насадок (рисунок 1). Самым большим преимуществом сборной конструкции является возможность замены насадок пуансона: если одна из насадок будет повреждена, то ее можно легко заменить, а пуансон быстро вернуть в эксплуатацию. Если одна из насадок в цельном пуансоне (рисунок 2) будет повреждена, то нужно менять весь пуансон.

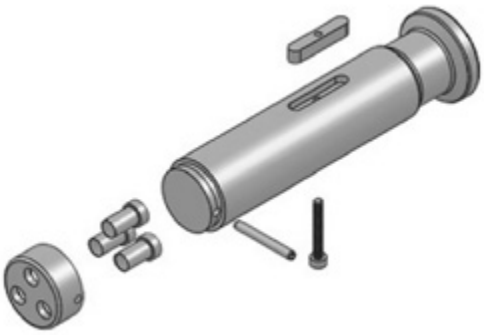


Рисунок 1. Сборная конструкция, состоящая из корпуса пуансона, колпачка и индивидуальный насадок

Рисунок 2. Цельная конструкция, изготовленная из одного куска материала

Для проведения очистки и стерилизации сборного пресс-инструмента необходимо отделить насадки пуансона от корпуса, очистить и осушить каждый элемент и затем повторно собрать. Несмотря на быстроту и легкость разборки пресс-инструмента, в случае если какая либо из сопряженных деталей будет повреждена или даже поцарапана или при попадании небольшого количество частиц железа или ржавчины наконечник пуансона нельзя будет установить в нужном положении. Если таблеточный пресс с установленным в неправильном положении пуансоном будет введен в эксплуатацию, то возможен преждевременный выход из строя пресс-инструмента или поломка всего таблеточного пресса.

Цельный многонасадочный пресс-инструмент (рисунок 2), вырезанный из одного куска материала, становится все более популярным. Он не требует разборки для проведения очистки, устраняя необходимость в повторной сборке, и обеспечивает правильное расположение насадок пуансона в матрице таблет-пресса. С другой стороны это позволяет использовать меньшее количество насадок пуансона по отношению к размеру таблеток.

Перед инвестированием в многопозиционный пресс-инструмент, убедитесь, что направляющие револьверного пуансона и матриц таблеточного пресса находятся в хорошем состоянии и не имеют избыточного износа. Из-за изношенности копиры и/или матриц возможно смещение от заданного направления насадок пуансона, которое в свою очередь может вызвать преждевременное истирание насадок, чрезмерное изнашивание головки и колпачка, а также зажатие инструмента в направляющих пуансона и защемление насадок в матрице. Состояние турели можно легко проверить, используя специальный набор приборов и инструментов для осмотра турели, который доступен у большинства производителей пресс-инструмента. Периодический осмотр турели на наличие износа требуется вне зависимости от используемого однонасадочного или многонасадочного пресс-инструмента. Осмотр поможет заранее предупредить вас о преждевременном износе деталей и возможном выходе из строя пресс-инструмента.

Для таблеточных прессов с системой отбраковки таблеток множество компаний используют валидационные пуансоны, которые идентичны обычным пуансонам за исключением небольшой девиации в их рабочей и общей длине. Валидационные пуансоны позволяют контролировать систему отбраковки путем контроля усилия прессования.

Пока одни компании исследуют влияние многонасадочного пресс-инструмента на расход продукта, усилие прессования и усилие выталкивания (в том числе на систему отбраковки таблеток), другие активно переходят на его использование. Многонасадочный пресс-инструмент действительно может быть рентабельным. Например, одна из фармацевтических компаний США, используя однонасадочный пресс-инструмент, производила приблизительно 8540 пеллет в минуту. После перехода на использование 9-ти насадочного пресс-инструмента объем производства компании увеличился приблизительно до 76860 пеллет в минуту. Это увеличение производительности на 800% без использования дополнительного оборудования и персонала!

NATOLI
YOU DEMAND. WE DELIVER.

ОДЕЖДА ДЛЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

АВТОР

С.С. Денисов,
научный консультант
«УНИКА инжиниринг»

ВВЕДЕНИЕ

Одним из основных источников загрязнений в чистых помещениях является персонал, в них работающий. Поэтому, чтобы ограничить распространение частиц и микробиологических загрязнений, выделяемых персоналом, в чистых производственных помещениях носят специальную технологическую одежду.

В фармацевтической промышленности уделяется особое внимание минимизации количества микрочастиц, выделяемых одеждой, то есть используются ткани с ограниченным отделением частиц и повышенным требованием к чистоте. Если одежда выполнена из натуральных (например, хлопчатобумажных) тканей, то она является источником большого количества частиц. Причина заключается в том, что натуральные материалы состоят из коротких, легко разрушающихся волокон. Поэтому одежда для чистых помещений, как правило, изготавливается из тканей, состоящих из синтетических нитей, таких как полиэфирные и нейлоновые. При использовании производственной одежды из этих тканей в чистых помещениях установлено, что они редко рвутся и их доля в общем количестве частиц, выделяемых персоналом, не более 5%, а основное количество частиц генерируется кожным покровом или нижним бельем.

Следует иметь в виду, что при движении персонала в чистом помещении под его одеждой возникает давление воздуха, которое возрастает с уменьшением воздухонепроницаемости ткани. Частицы, находящиеся под одеждой, могут выталкиваться наружу через застёжки на шее или на запястьях. Поэтому застёжки должны быть надёжной конструкции, плотными, но в то же время не создавать дискомфорт. Если в одежде есть разрывы или неплотности, частицы могут через них легко попадать наружу. Если предусмотрено использование халатов, следует помнить, что они не полностью закрывают операторов и частицы могут выходить из-под халата и попадать в чистое помещение.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Что касается микроорганизмов, то пути их распространения через одежду те же самые, что и в случае инертных частиц. То есть это могут быть поры в тканях, некачественные застёжки и повреждения тканей. Более плотные ткани значительно эффективнее снижают количество микроорганизмов, чем количество инертных частиц. Это связано с тем, что средний размер частицы, отделяющейся от кожи и несущей микроорганизмы, больше среднего размера взвешенных в воздухе инертных частиц. В воздушной среде чистых помещений частицы-носители микроорганизмов имеют диаметр от 1 мкм до 100 мкм при среднем значении приблизительно 10–20 мкм. Следовательно, многие из этих частиц достаточно малы, чтобы проходить сквозь поры тканей одежды для чистых помещений.

Наиболее эффективной для чистых помещений является одежда, которая полностью закрывает оператора. Такая одежда должна быть изготовлена из ткани, обладающей свойством эффективной фильтрации, и иметь надёжные застёжки на манжетах рукавов, воротнике и брюках. Выбор одежды зависит от того, что производят в чистом помещении. Более низкий класс чистоты помещения допускает использование шапочки, халата, застёгивающегося застёжкой-молнией, и бахил. Для чистого помещения более высокого класса типичны комбинезон с застёжкой-молнией, бахилы до колен и шлем, заправленный под воротник одежды. Весь спектр существующих моделей одежды для чистых помещений базируется на этих двух основных типах.

ТКАНИ ДЛЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Тип ткани – важный фактор при выборе одежды для чистых помещений. Ткани, из которых она изготавливается, должны быть устойчивыми к повреждениям и обладать минимальным ворсоотделением. Более важное свойство такой ткани – её способность отфильтровывать загрязнения, генерируемые кожей и нижним бельём. Эффективность ткани может оцениваться её воздухонепроницаемостью, способностью задерживать частицы и размером пор. Самый распространённый тип одежды изготавливается из синтетических тканей, из которых самые типичные – это полиэфирные. Такая одежда используется в производственном процессе, затем обрабатывается в специальной прачечной и вновь передаётся для использования на производстве. Нетканые материалы, такие как, например F. Tyvek используются для изготовления одежды одноразового или ограниченного использования. Очень эффективны мембранные барьерные ткани, в которых используются «дышащие» мембраны, располагаемые на синтетической ткани или между слоями ткани. Такие ткани достаточно дороги и поэтому используются в помещениях с более высоким классом чистоты.

Перемещения персонала вызывают повышение давления воздуха под тканью одежды: чем более плотная ткань, тем выше давление. Это приводит к тому, что нефильтруемый воздух выталкивается наружу через застёжки. Это означает, что застёжки на воротнике, манжетах рукавов и в нижней части брюк должны быть надёжными.

Количество естественных отверстий, а также разрывов на одежде должно быть минимальным. Если это не контролировать, то загрязнения от нижнего белья и кожи будут просачиваться наружу через неплотности. Поэтому производственную одежду для чистых помещений следует тщательно осматривать как в прачечной, так и перед тем, как её надевать. Следует минимизировать количество естественных отверстий в одежде путём выбора надлежащего дизайна.

ОСОБЕННОСТИ ДИЗАЙНА ОДЕЖДЫ ДЛЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Для того чтобы обеспечить надлежащий дизайн одежды, следует предусмотреть следующее:

– для предотвращения выделения частиц срезы тканей должны быть закрыты или обмётаны либо запаяны с применением термообработки;

– для уменьшения загрязнения швейные нитки должны быть изготовлены из непрерывных синтетических нитей;

– для минимизации выделения частиц молнии, застёжки и подошвы бахил не должны крошиться или ломаться, они должны выдерживать многократную очистку, а при необходимости стерилизацию;

– для предотвращения скопления загрязнений на одежде не должно быть карманов, складок, швов или острых застёжек;

– для минимизации загрязнений манжеты на рукавах должны быть выполнены с т.н. «резинкой».

ВЫБОР ОДЕЖДЫ ДЛЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Тип одежды для чистых помещений в фармацевтической промышленности определяется в зависимости от класса чистоты следующим образом:

Рисунок 1. **Примеры комплектов одежды**

Класс D: волосы должны быть убраны. Рекомендуется носить обычный защитный костюм и соответствующую обувь или бахилы.

Класс C: волосы должны быть закрыты. Рекомендуется комбинезон или костюм с брюками с высоким воротом, а также соответствующая обувь или бахилы. Эти элементы одежды и обуви не должны выделять волокна или частицы.

Класс A/B: головной убор должен полностью закрывать волосы; он должен заправляться под воротник костюма; необходимо носить лицевую маску, чтобы предотвратить выделение капель. Следует также носить стерильные перчатки и стерильную или дезинфицированную обувь. Брючины должны быть заправлены в обувь, а рукава костюма – в перчатки. Одежда не должна выделять волокна или частицы материала, а также задерживать частицы, отделяющиеся от тела.

УДОБСТВО

Одежда для чистых помещений иногда может вызывать перегрев и быть неудобной, поэтому нужно постараться сделать её комфортность максимальной. Очень важен точный выбор размеров. Если применяется одежда многоразового использования, необходимо составить список персонала с указанием размеров одежды для каждого оператора.

Бахилы могут создавать различные проблемы. Простые бахилы из тонкого материала могут рваться, спадать с ног и прилипать к полам чистого помещения. Если выбираются более прочные бахилы, подошвы не должны оставлять следов и скользить по влажному полу. Важно выбрать хорошую систему завязывания, чтобы прочно закрепить бахилы на ноге.

ОБРАБОТКА ОДЕЖДЫ ДЛЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ И ЧАСТОТА ЕЁ СМЕНЫ

В процессе использования одежда загрязняется и должна заменяться. Если используется одноразовая одежда, то она просто выбрасывается, хотя некоторые типы такой одежды можно несколько раз обработать. Если применяется одежда многоразового использования, то её обрабатывают в специальной прачечной. В таких прачечных можно проводить и другие операции, например антистатическую обработку, дезинфекцию или стерилизацию. Чистые прачечные предназначены исключительно для обработки одежды чистых помещений. В такой прачечной должна быть так называемая «грязная» зона, куда одежда поступает и где она сортируется, чтобы минимизировать перекрёстные загрязнения. Бахилы должны быть отделены. Затем одежда помещается в проходную стиральную машину, в которой грязная одежда загружается с одной стороны машины, а чистая одежда выгружается с другой стороны – в зоне складирования. Для стирки используется вода очищенная. Когда одежда выгружается из стиральной машины, она поступает в чистую зону, в которой операторы работают уже в одежде для чистых помещений. Затем одежду тщательно просушивают, гладят и просматривают, чтобы обнаружить возможные повреждения. После этого одежду складывают и помещают в специальные пакеты. Эти пакеты тщательно запечатывают и передают из участка складирования в зону упаковки через передаточное окно для дальнейшего распределения.

Если одежда должна быть свободной от микроорганизмов, её необходимо стерилизовать или дезинфицировать. Стерилизация, т.е. уничтожение всех микроорганизмов, может проводиться тепловым методом или методами газовой обработки или облучения. Тепловая обработка в автоклаве может вызывать образование складок и постепенное ухудшение свойств ткани. Обработка оксидом этилена оказывает более мягкое воздействие на ткань, но токсичность подобного способа обработки может вызвать проблемы, связанные с остатками газа в одежде. В таком случае должна быть произведена тщательная дегазация. Распространённым методом является гамма-облучение, хотя такой способ может вызывать обесцвечивание ткани и через какое-то время разрушение материала. Ещё одним методом

является применение дезинфицирующих веществ при стирке. Этот метод не вызывает разрушения ткани и более экономичен. Однако следует иметь в виду, что некоторые микроорганизмы могут остаться на одежде и, следовательно, такой метод не всегда может быть применён.

Эффективность процесса очистки, как правило, контролируется подсчётом количества частиц на поверхности обработанной одежды. Пробы обычно берутся на участке складирования на специальном рабочем месте.

Рекомендуемая частота смены одежды для различных классов помещений:

- ИСО 7 и 8 – 2 раза в неделю;
- ИСО 6 – 2–3 раза в неделю;
- ИСО 5 – ежедневно;
- ИСО 4 – при каждом входе или 2 раза в день;
- ИСО 3 – при каждом входе.

Что касается эффективности задержания частиц, то обычно лучше всего в этом смысле подходит новая одежда, поскольку при старении ткань становится всё более проницаемой и пропускает больше частиц. Существует также проблема появления в одежде разрывов и повреждений, которые могут иметь разнообразное происхождение, поэтому, прежде чем надевать одежду, персонал должен её тщательно проверить; осмотр одежды необходим также в чистой прачечной.

ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОДЕЖДЫ

Антистатические свойства одежды очень важны для определённой части чистых производственных помещений. В процессе перемещения операторов по помещениям при трении их одежды об оборудование, а также нижнего белья о тело на ткани генерируются электростатические заряды. Поэтому ткани одежды для чистых помещений изготавливаются с использованием непрерывных токопроводящих нитей, введённых в структуру ткани. Для выбора одежды, обеспечивающей минимальный электростатический заряд, рекомендуется проводить следующие испытания:

– измерение сопротивления или проводимости;

– измерение падения напряжения;

– измерение напряжения, возникающего при движении оператора в одежде.

Существует несколько методов определения поверхностного сопротивления тканей. Чем ниже сопротивление, тем лучше ткань, т.е. статическое электричество легче отводится.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из вышеизложенного, можно сделать следующие выводы: производственная одежда для чистых помещений должна

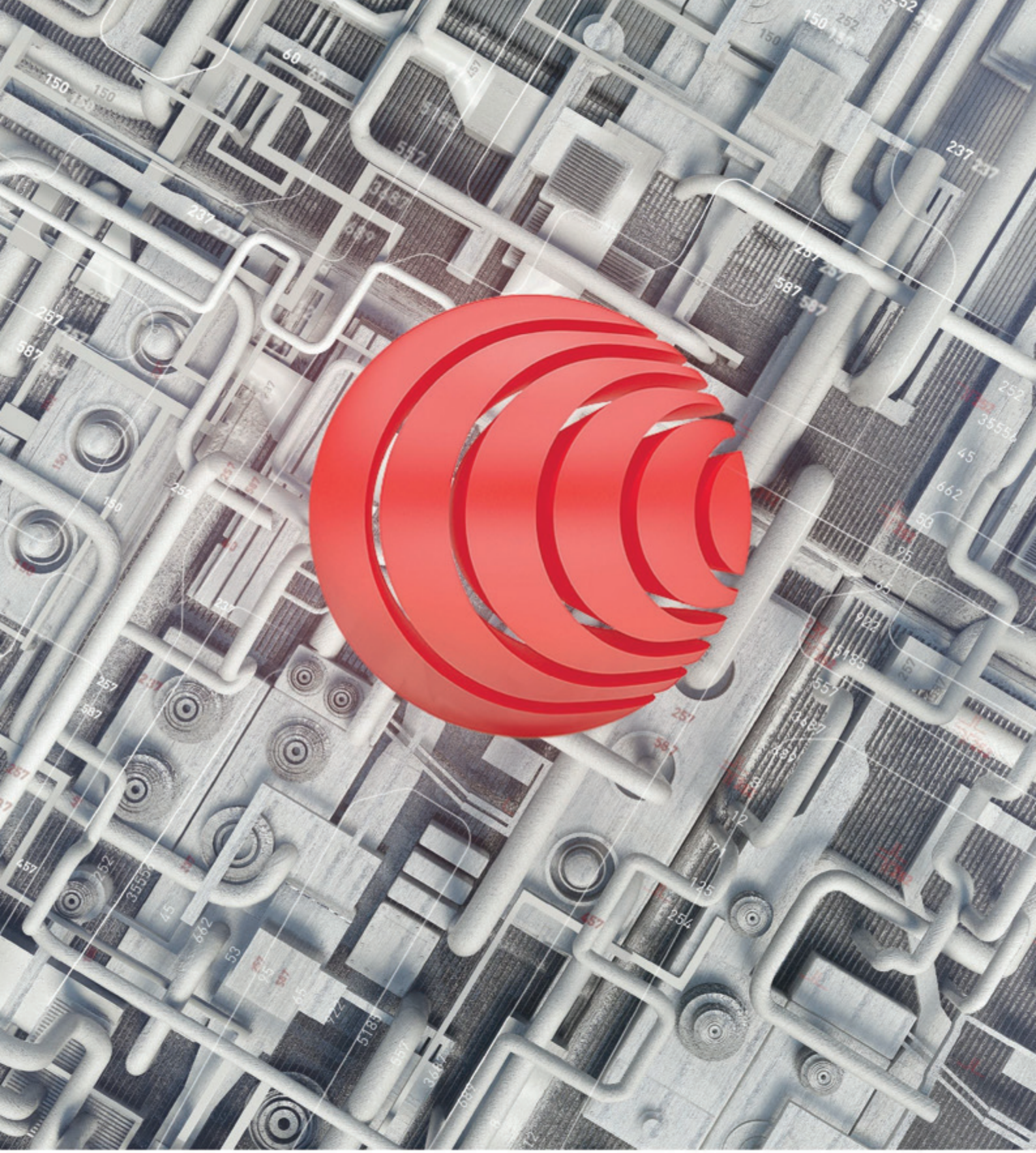
– защищать технологический процесс и окружающую среду от загрязнений, выделяемых человеком;

– защищать человека от вредного воздействия окружающей среды, в том числе технологического процесса, используемых сырья и материалов, а также продуктов производства;

– создавать комфортные условия для работы персонала.

Следует иметь в виду, что одежда для чистых помещений, будучи фильтром для загрязнений, имеет высокие значения теплового сопротивления и препятствует нормальному теплообмену между человеком и окружающей средой. Поэтому обязательным условием для чистых помещений является эффективное кондиционирование воздуха и поддержание температуры в помещении в соответствии с типом одежды и скоростью движения воздуха. Нарушение этого правила приводит к дискомфорту, снижению внимания персонала, повышенному потоотделению и, как следствие, общему повышению уровня загрязнений в чистом помещении.

UNICA
ENGINEERING



UNICA
ENGINEERING

- СТРОИТЕЛЬСТВО
- ПРОЕКТИРОВАНИЕ
- ЧИСТЫЕ ПОМЕЩЕНИЯ
- РЕКОНСТРУКЦИЯ

ООО “УНИКА инжиниринг”

Адрес: 127015, Россия, г. Москва,
ул. Новодмитровская, д. 2, корп. 1

Тел./факс: + 7 (495) 661-04-20
Сайт: www.unica-eng.com

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА АЭРОЗОЛЬНЫХ И НАЗАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

АВТОР

А.С. Кузнецов,

продакт-менеджер
ГК «Фармконтракт»

ВВЕДЕНИЕ

Устройства, используемые для ингаляционной и назальной доставки лекарственных средств (ЛС), в совокупности называют «орально-ингаляционные и назальные лекарственные средства» (OINDPs). Наиболее распространенными лекарственными формами, относящимися к данной группе являются MDI (Metered Dose Inhalers) и DPI (Dose Powder Inhaler). MDI – аэрозольно-дозированные ингаляторы, представляют собой баллончик с дисперсной системой «жидкость-газ». DPI, в свою очередь, представляют собой дисперсную систему «порошок-газ». Безопасность, качество и эффективность OINDPs зависит от четырех важных показателей качества:

- доставляемая доза ЛС (количество лекарственного средства, которое пользователь фактически получает);
- аэродинамическое распределение частиц по размерам дозы (или, точнее, доля введенной дозы соответствующего размера, необходимая для того, чтобы достичь целевого органа/ткани);
- наличие и возможность ингаляционного или микробного загрязнения;
- в некоторых случаях модель спрея или геометрия тестируемого устройства.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Помимо обязательного тестирования на кислотность среды, существуют два важных показателя, признанных в качестве критических показателей качества (CQAs) в тестировании орально-ингаляционных и назальных лекарственных средств в процессе фармацевтической разработки и контроле качества при выпуске серии:

- Доза излучаемого лекарственного препарата (ЛП) – общее количество препарата, излучаемого из устройства и, следовательно, доступного для пациента.
- Размер частиц (аэродинамический размер распространения) – размер частиц или капель, которые составляют излучаемое аэрозольное облако. Размер частиц определяется как процент от общей выпущенной дозы, которая фактически достигает легких или слизистой оболочки носа при вдохе, и таким образом определяется терапевтическая эффективность препарата.

Именно эти два физических испытания формируют основу многих параметров, используемых для того, чтобы охарактеризовать ингаляционные и назальные ЛП.

Copley Scientific предлагает целый ряд решений для определения вышеупомянутых параметров ингаляционных и назальных лекарственных средств.

ДОСТАВЛЕННАЯ ДОЗА

Параметр «доставленная доза» измеряется путем перемещения аэрозоля из тестируемого устройства в пробоотборник, содержащий фильтр. В процессе сэмплинга отбирается доза ЛС, полученную пробу количественно растворяют в подходящем растворителе и аликвоту анализируют, как правило, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Во время тестирования газовая смесь втягивается через пробоотборник дозирующего устройства, имитируя ингаляцию. Способ, с помощью которого воздух поступает через устройство, зависит от тестируемого устройства. Аэрозольно-дозированные ингаляторы (MDIs) относительно нечувствительны к изменениям в скорости потока, потому что механизмы аэрозолизации и образования дисперсии зависят в основном от силы пропеллента.

Таким образом, для аэрозольно-дозированных ингаляторов скорость воздушного потока фиксируется на значении 28,3 л/мин, что эквивалентно 1 фут^3 в мин. Для порошковых ингаляторов (DPIs) данный анализ является более сложным, т.к. аэрозолизация DPIs зависит от силы и длительности вдоха пациента.

При вдохе типичный взрослый пациент обеспечивает перепад давления на устройстве примерно 4 кПа. В зависимости от сопротивления потока, устройство обеспечивает расход аэрозоля, типичный для средней скорости потока ингаляции пациента, который затем используется для всех необходимых испытаний этого устройства. Кроме того, продолжительность испытания определяется общим объемом воздуха, вдыхаемого взрослым человеком за один вдох, который принимается за 4 л в случае Американской и Европейской фармакопей и за 2 л в случае директив FDA.

В случае небулайзеров пользователь вдыхает лекарство периодически, останавливаясь во время выдоха. В этом случае дыхательный цикл имитируется *in vitro* с помощью имитатора дыхания.

ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ MDIs

Пробоотборник дозирующего устройства (DUSA–Delivered Uniformity Sampling Apparatus) используется для определения количества и равномерности до-

Рисунок 1. **Пробоотборник дозирующего устройства для аэрозольно-дозированных ингаляторов**

ставленной дозы для аэрозольно-дозированных и порошковых ингаляторов (MDIs, DPIs). Данный аппарат был первоначально разработан Charles Thiel в 3M Laboratories, Миннеаполис, США.

Минимальная установка для постановки теста «доставляемая доза» для аэрозольно-дозированных ингаляторов содержит пробоотборник дозирующего устройства (пробирки) с установленным (на одном конце трубки) соответствующим адаптером мундштука, необходимым для подсоединения ингалятора. С другого конца трубка соединена с вакуум-насосом, способным непрерывно обеспечивать поток газовой смеси, скоростью 28,3 л/мин через всю собранную систему (в том числе через фильтр и ингалятор). Расходомер потока должен быть использован, чтобы обеспечивать и регулировать необходимую скорость потока на входе с использованием адаптера расходомера (в комплекте).

После того как устройство успешно произвело тест и было завершено тестирование, пробоотборник дозирующего устройства вместе с фильтром должны быть удалены. Добавляют растворитель, закрывают систему и затем перемешивают с целью проведения растворения лекарственного средства для последующего анализа.

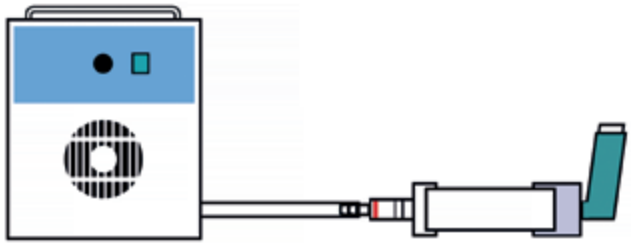


Рисунок 2. Схема установки для анализа аэрозольно-дозированных ингаляторов

ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ DPIs

Другой, более массивный прибор – пробоотборник дозирующего устройства для ингаляторов сухих порошков – был введен для «сухих» аэрозольных ингаляторов, разработан на основе аналогичной конструкции Byron и Hindle. Оба типа аппаратов регламентируются Европейской фармакопеей в статье <0671> «Dosage Forms – Preparations for Inhalation» и в Фармакопее США (USP) в соответствии с разделом <601>. Как и пробоотборники для MDIs, пробоотборник дозирующего устройства DUSA для DPIs используется для выполнения регламентируемых Фармакопеей тестов контроля качества ингаляторов – «доза излучаемого ЛП» и «аэродинамический размер распространения».

В случае системы для DPIs необходим электрически управляемый, контролируемый таймером двусторонний электромагнитный соленоид, расположенный на линии между пробоотборником и вакуумным насосом для контроля потока воздуха, поступающего в ингалятор. Это позволяет настроить тестер на определенный объемный поток, например 4 л за вдох, что эквивалентно естественным условиям. Необходимость соленоида заключается в том, что в отличие от MDIs большинство DPIs являются пассивно распыляющими устройствами, которые в основном работают и поставляют дозу за счет вдоха пациента, а не пропеллента для излучения и доставки дозы.

Тестирование DPIs осложняется тем, что разные ингаляторы обеспечивать различную степень сопротивления потоку, то есть некоторые требуют больше усилий, чтобы вдохнуть, чем другие. Такие инструменты, как критический регулятор потока модели TPK 2000, расположенный между пробоотборником DUSA и вакуумным насосом, позволяют упростить на-

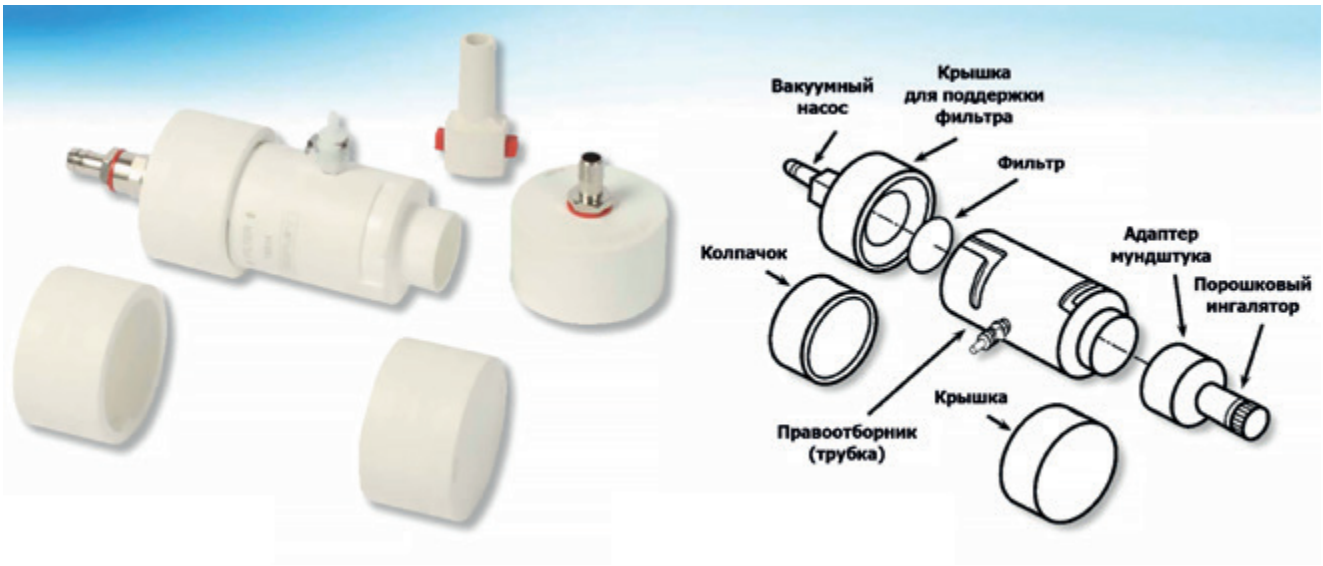


Рисунок 3. Пробоотборник для порошковых ингаляторов

Рисунок 4. **Система для анализа высвобождаемой дозы порошковых ингаляторов, включающая насос, контроллер критических параметров потока и пробоотборник для порошковых ингаляторов**

стройку в соответствии с фармакопейными требованиями по измерению и регистрации всех параметров, необходимых для тестирования и контроля потока, обеспечивающих необходимые условия во время тестирования.

Пробоотборник дозирующего устройства для DPIs включает элементы и материалы, аналогичные тем, которые используются в MDIs. Пробоотборники дозирующих устройств ЛС DUSA для DPIs состоят из пробоотборника (трубки), двух промывных колпачков, крышки для поддержки фильтра, адаптера потока и стартового пакета фильтров, поставляемых в удобном чехле. Набор пробоотборников для DPIs также отличается от такового набора для MDIs наличием входа (точки контроля давления, P1) в его стенке, которая используется в сочетании с контроллером критического потока для измерения перепада давления на устройстве.

Запасные пробоотборники без точки контроля давления (P1) также применимы для отбора последующих фракций дозы, собираемых после того, как скорость потока была определена и первая доза уже собрана.

Минимальный набор оборудования для осуществления теста «доставляемая доза» для DPIs является таким же, как и для тестирования MDIs, описанного в предыдущем разделе, а именно: пробоотборник дозирующего устройства DUSA, мундштук-адаптер, насос и расходомер потока; плюс добавление критического контроллера потока (например, ТПК) для измерения расхода и падения давления на устройстве, а также для контроля параметров потока во время тестирования.

РАЗМЕР ЧАСТИЦ (АЭРОДИНАМИЧЕСКИЙ РАЗМЕР РАСПРОСТРАНЕНИЯ)

Для определения аэродинамического распределения частиц, излучаемых в процессе использования ингалятора, Copley Scientific разработан каскадный импактор Андерсона, который является удобным инструментом, соответствующим требованием и Американской, Европейской и Российской фармакопеям, предъявляемым к процессу проведения соответствующих тестов.

Аэродинамическое распределение частиц аэрозольного облака определяет то, как частицы в этом облаке дезинтегрируются после ингаляции. Общепринято, что, например для достижения терапевтической эффективности размер частиц должен варьироваться в диапазоне от 1 до 5 мкм (условия достижения лекарственным препаратом легких человека). Частицы менее 5 мкм, как правило, описываются как мелкие частицы (терапевтически неэффективные).

Частицы, имеющие аэродинамический размер свыше 5 мкм, как правило, оседают в ротовой полости или в глотке и могут быть проглочены. Для частиц размером менее 1 мкм существует вероятность того, что они будут увлечены потоком воздуха и будут выдохнуты.

Термин «импактор», как правило, используется для инструмента, где частицы «оседают» на сухую поверхность пластины или чашки. Если поверхность «оседания» представляет собой жидкость, как в случае с мультистадийным жидким импингером (MSLI), то используется термин «импингер». Общие принци-

пы инерциального столкновения относятся к обоим типам импакторов и импингеров.

В настоящий момент три каскадных импактора для оценки аэродинамического распределения тонкодисперсных частиц в аэрозольных и порошковых ингаляторах встречаются и в Ph.Eur. и USP:

- Многоступенчатый жидкостный импингер (MSLI).
- Каскадный импактор Андерсена(ACI).
- Импактор следующего поколения (NGI).

Каскадные импакторы работают по принципу инерционного соударения. Каждый «этаж» импактора включает один или серию сопел (отверстий), через которые втягивается поток аэрозоля, направляя любые частицы смеси к поверхности пластины сбора.

Осядет ли конкретная частица на данной пластине зависит от ее аэродинамического диаметра. Частицы, имеющие достаточную массу, оседают на конкретных «этажах» импактора, в то время как более мелкие частицы с недостаточной инертностью будут увлекаться потоком воздуха и переходить к следующему «этажу», где процесс повторяется.

«Этажи» обычно собраны в стопку в порядке убывания размера частиц. Когда сопла становятся все меньше, скорость воздуха увеличивается и более мелкие частицы оседают. Любые оставшиеся частицы собираются на фильтре, следующим после ступени.

В конце теста массу частиц, осевших на каждой ступени, извлекают с использованием подходящего растворителя, а затем анализируют, как правило, с использованием ВЭЖХ для определения количества лекарственного средства.

КАСКАДНЫЙ ИМПАКТОР АНДЕРСЕНА (ACI)

Каскадный импактор Андерсена является, пожалуй, наиболее широко используемым в фармацевтической промышленности для тестирования ингаляционных продуктов.

8-ступенчатый импактор Андерсена был первоначально разработан в качестве бактериологического пробоотборника, а затем начал использоваться в фармацевтической промышленности для тестирования ингаляторов. Многие сферы использования лекарств изучены на основе данных, полученных с помощью ACI за долгое время его использования в промышленности.

Преимущества ACI:

- В общей сложности 8 отдельных этапов между 0,4 и 9 мкм.
- Выбор материала: алюминий, нержавеющая сталь 316 или титан.
- Исполнения аппарата с конверсией потока 60 и 90 л/мин, доступные для тестирования высокой скорости потока, сохраняют стандартные размеры базового аппарата с конверсией 28.3 л/мин.
- Можно обеспечить низкое сопротивление потока при высоких скоростях потока, если удалить промежуточные ступени.
- Компактность.
- Уменьшение количества ступеней каскада для работы с назальными аэрозолями и спреями.
- Простое удаление и замена поврежденных и не соответствующих ступеней каскада.
- Демократичные цены.

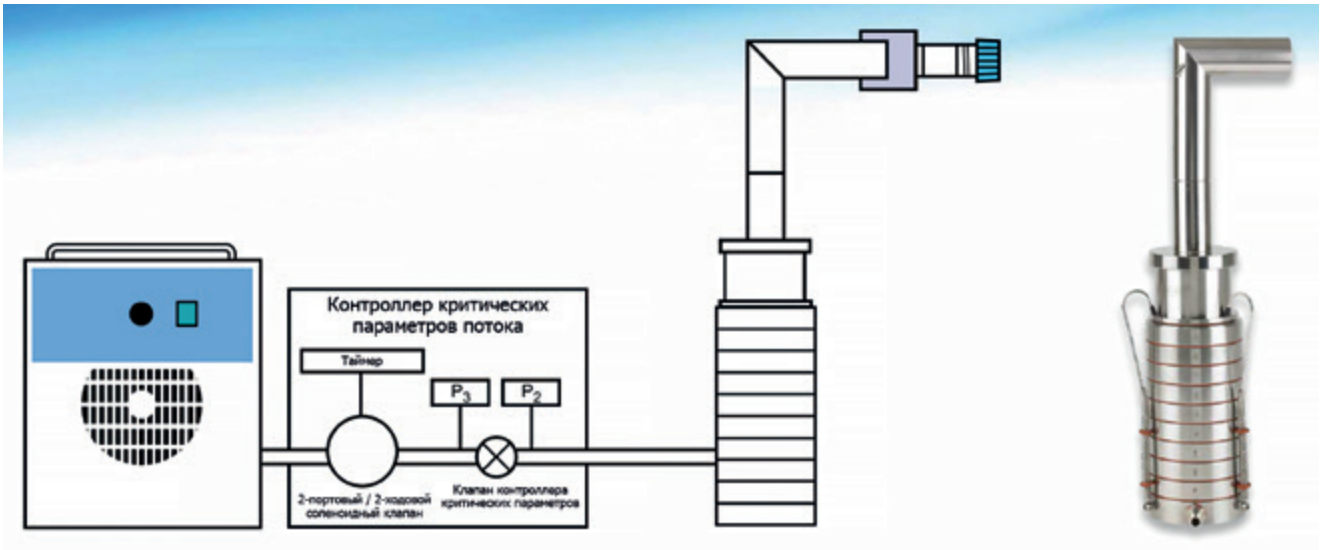


Рисунок 5. **Схема каскадного импактора Андерсона для порошковых ингаляторов с предварительной сепарацией, контроллером критических параметров потока и насос. Слева – система для оценки аэродинамического распределения частиц: насос HCP5, контроллер критических параметров потока TPK 2000, импактор Андерсена. Справа – импактор Андерсена в сборе**

ПРИМЕНЕНИЕ МСД 5977A КОМПАНИИ AGILENT ДЛЯ АНАЛИЗА ОСТАТОЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ (USP, СТАТЬЯ 467) С ПОМОЩЬЮ ПАРОФАЗНОГО ПРОБО - ОТБОРНИКА AGILENT 7697A И ГХ AGILENT 7890B

АВТОРЫ

Р.Л. Фирор (R.L. Firor),
М. Желевски (M. Szelewski),

Agilent Technologies, Inc.
Уилмингтон, штат Делавэр, США

АННОТАЦИЯ

Парофазный пробоотборник Agilent 7697A и система ГХ-МСД серии 5977 использовались для анализа остаточных растворителей с их предельной концентрацией в водном растворе согласно процедуре A методики 467 USP. Данные сканирования для растворителей классов 1, 2A и 2B продемонстрировали воспроизводимость с ОСО меньше 2,5%. Для ввода пробы из кварцевой парофазной транспортной линии использовался многорежимный испаритель (MMI) с лайнером Ultra Inert (внутренний диаметр 1 мм). Было рассмотрено несколько вариантов настройки для сбора данных, включая Atune и Etune, с температурой источника и квадруполя равной 250 и 200 °C соответственно. Для анализа данных использовалось программное обеспечение MassHunter Quant.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ остаточных растворителей в фармацевтической промышленности имеет исключительное значение для безопасности пациентов. Для такого анализа лаборатории контроля и обеспечения качества обычно используют методику 467 USP [1]. Базовая методика используется по всему миру для контроля и обеспечения качества. Она согласована с отраслевым руководством ICH Q3C по примесям.

Agilent Technologies

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Газовый хроматограф Agilent Technologies 7890B

В фармацевтической продукции возможно присутствие остаточных растворителей после процесса производства активных фармацевтических ингредиентов или конечных продуктов. Эти растворители не имеют терапевтического значения, поэтому их необходимо по возможности удалять. Контроль и управление уровнем остаточных растворителей осуществляются по многим причинам, среди которых безопасность, влияние на форму кристаллов, растворимость, биодоступность и стабильность. Контролировать необходимо все лекарственные вещества, носители и лекарственные препараты.

Анализ проводился в соответствии с методикой 467 USP [1]. Была проведена модификация и оптимизация параметров паровой фазы с целью использования расширенных возможностей парофазного пробоотборника 7697A. Допускается использование методик анализа, производных от монографии USP, однако при этом может требоваться валидация и сличение с оригинальными процедурами USP. Для ясности анализ каждого класса растворителей проводился отдельно.

В методике 467 USP указаны три следующие процедуры для остаточных растворителей класса 1 и класса 2:

1. Процедура A: идентификация и испытание на предельное содержание.
2. Процедура B: контрольное испытание.
3. Процедура C: количественное испытание.

В процедуре A используется фаза G43 (колонки Agilent 624, VF-624ms или DB-624), а в процедуре B – фаза G16 (HP-INNOWax). В целом аналиты, коэлюирующие на одной из этих фаз, не коэлюируют на другой. Так как основной целью данной публикации является оценка чувствительности и воспроизводимости, использовалась только колонка VF-624ms. Другие конфигурации с использованием двойных ПИД (колонки 624 и INNOWax) или ПИД-МСД также возможны и описаны ранее [2–5].

Методика на основе паровой фазы ранее отличалась плохой воспроизводимостью при анализе растворителей, концентрация которых соответствовала или была ниже предельной, указанной в статье 467 USP. Использование усовершенствованной пневматики, отличный контроль термических зон и точная синхронизация повышают воспроизводимость и точность анализа остаточных растворителей. Возможности систем ГХ-МСД серии 5977A, например инертный источник экстракции, также вносят свой вклад в улучшение воспроизводимости.

Методику 467 USP хорошо знают лаборатории контроля качества фармацевтической продукции по всему миру и широко применяют ее на парофазных системах ГХ с ПИД. Парофазные системы ГХ-МСД предлагают дополнительные возможности для анализа остаточных растворителей, особенно когда обнаруживаются неизвестные соединения. Селективный мониторинг ионов (SIM) помогает преодолевать сложности коэлюирования и достигать лучшей чувствительности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В данной публикации используется процедура A методики 467 USP для оценки производительности системы ГХ-МСД серии 5977 в сочетании с 7890B-7697A. В ГХ Agilent Technologies 7890B был настроен многорежимный испаритель (MMI). Использовался прямой деактивированный лайнер с внутренним диаметром 1 мм (каталожный номер 5190-4047).

Были подготовлены остаточные растворители классов 1, 2A и 2B с предельной концентрацией в очищенной воде. Для правильной подготовки стандартов необходимо использовать чистую воду, не содержащую органических веществ. Для каждого класса были подготовлены растворы объемом 250 мл в окончательной концентрации, а затем с помощью автоматической пипетки 6 мл каждого раствора помещались в виалы объемом 20 мл. Использовались только септы, покрытые ПТФЭ. Соль в раствор не добавлялась. Каталожные номера Agilent для стандартов остаточных растворителей:

Класс 1: каталожный номер 5190-0490.

Класс 2A: каталожный номер 5190-0492.

Класс 2B: каталожный номер 5190-0513.

Парофазный пробоотборник 7697A соединялся с испарителем с помощью деактивированной кварцевой трубки с внутренним диаметром 0,53 мм. Соединение с MMI осуществлялось через септу. Для этой задачи использовалась колонка VF-624ms длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм, так как она обеспечи-

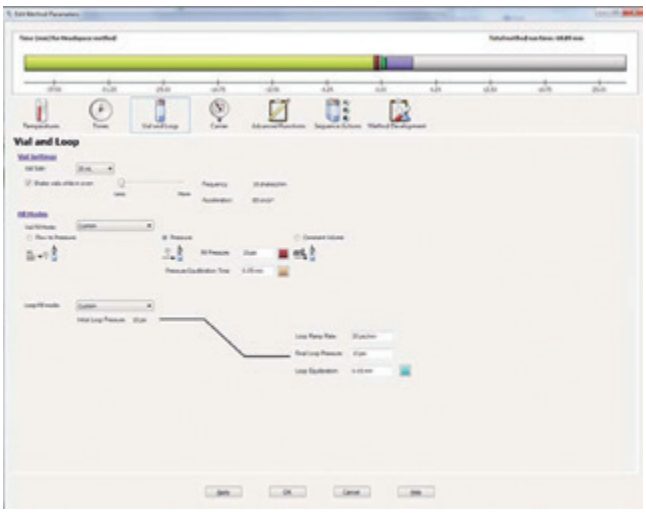


Рисунок 1. Параметры для виал объемом 20 мл, где в парофазной виале давление поднимается до 1,03 бар и снижается до 0,69 бар со скоростью 1,38 бар/мин

вает оптимальное сочетание разрешения, скорости, емкости и удобства использования.

Давление в виале контролируется с блока управления пневматикой парофазного пробоотборника 7697A, а поток носителя направляется из системы электронного управления пневматикой (EPC) испарителя в парофазный пробоотборник и обратно в испаритель устройства 7890B. Управление этапами отбора проб с помощью EPC позволяет контролировать все аспекты отбора проб в парофазную виалу в рамках краткой и воспроизводимой методики с минимальным эффектом памяти. В блоках EPC также реализована компенсация барометрического давления. Параметры можно настроить с помощью клавиатуры пробоотборника 7697A или встроенного ПО. На рисунке 1 показана панель отбора проб в парофазную виалу программы ChemStation для МСД.

Использование управляемой продувки в парофазном пробоотборнике 7697A дает возможность выбирать конечное давление в виале при заполнении петли дозатора. Такое управление улучшает воспроизводимость и в зависимости от значения параметра k (коэффициента распределения) аналита может также повышать чувствительность [6]. В парофазном пробоотборнике 7697A доступно три режима создания давления в виалах: 1) ограничение расхода по давлению, 2) по давлению, регулируемому при расходе 200 мл/мин и 3) фиксированный объем. Во всех экспериментах использовался режим «по давлению». На рисунке 1 показана панель программы ChemStation для МСД с параметрами отбора проб в виалу. Давление в парофазной виале спадает с 1,03 до 0,69 бар.

Влагоуловитель, предназначенный для уменьшения конденсации, установлен в дренажной линии и продувается между циклами. Объем парофазной петли-дозатора составляет 1,0 мл. В качестве носителя и для создания давления в виале используется гелий. В таблице 1 приведены параметры для конкретного применения.

ПО MASSHUNTER

Вместе с системой ГХ-МСД серии 5977 можно использовать программное обеспечение MassHunter (MH), аналогичное ПО для тандемной ГХ-МС Agilent 7000B. Усовершенствован сбор данных, например упрощена настройка таблиц SIM. Параметры SIM, сканирования и температуры теперь отображаются на одном экране, что упрощает их просмотр. Текущие методы сбора данных Chemstation для МСД можно импортировать и использовать непосредственно в MH.

Анализ данных выполняется с помощью предусмотренных в MH функций качественного (Qual) или количественного (Quant) анализа. Для целей этой статьи при отображении хроматограмм использовалась функция Qual. Функция Quant использовалась для интеграции соединения, а последующий расчет относительного стандартного отклонения (ОСО) осуществлялся в Excel. Текущие базы данных функции Quant программы Chemstation для МСД (калибровочные таблицы) можно легко преобразовать для использования в MH Quant с помощью поставляемой в комплекте программы конвертирования.

Использование функций MH Qual и Quant не является обязательным. Программа сбора данных для системы ГХ-МСД серии 5977 автоматически сохраняет данные в обоих форматах MH и в классическом формате Chemstation для МСД. Лаборатории могут выбирать подходящий пакет для анализа данных.

В этой работе использовались следующие версии программного обеспечения: ПО для сбора данных ChemStation B.07.00 для МСД, MassHunter B.05.01 Quant и ПО для управления парофазным пробоотборником B.01.04.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 2 показан график полного ионного тока (ПИТ) остаточных растворителей класса 1 с предельной концентрацией, приготовленных в очищенной воде. Растворители класса 1, бензол и 1-дихлорэтилен, разделены на базовой линии на колонке VF-624ms.

Как видно из таблицы 2, представлены ОСО сканирования для всех классов и ОСО SIM для класса 2A. Большая часть ОСО ниже 2,5%. Растворители с более высокими значениями обычно отличаются более низким значением k. Вариабельность пробоподготовки может сильнее влиять на растворители с более низким значением k. Другие системы растворителей, такие как диметилсульфоксид (ДМСО), диметилацетамид (DMAC), 1,3-диметил-2-имида-золинон (DMI) или смешанные, например ДМСО с водой, конечно, изменят

картину, однако относительные стандартные отклонения должны быть такими же или лучше, чем продемонстрированные в этой работе системы с использованием водного разбавителя.

Таблица 1.

Системные параметры для анализа остаточных растворителей

Газовый хроматограф	**ГХ Agilent 7890B**
Вход испарителя	Многорежимный испаритель
Лайнер	Ultra Inert, внутренний диаметр 1 мм (каталожный номер 5190-4047)
Температура испарителя	140 °C
Расход испарителя	Постоянный расход, 1,3 мл/мин
Коэффициенты разделения	20:1, 100:1
Температурная программа	От 40 °C (5 мин) до 240 °C (2 мин) со скоростью изменения температуры 18 °C/мин
Колонка	VF-624ms, 30 м × 0,25 мм, 1,4 мкм
МСД	**Система ГХ-МСД Agilent серии 5977A**
Транспортная линия	190 °C
Источник ионов МС	250 °C
Квадруполь МС	200 °C
Настройка	Использовались настройки etune, atune и bfb
Сканирование	От 29 до 150 а.е.м., 10,3 сканирований/с
Коэффициент усиления	1,00
Паровая фаза	**Парофазный пробоотборник Agilent 7697A**
Газ для создания давления в виале	Гелий
Размер петли инжектора	1,0 мл
Расход в виале в режиме ожидания	20 мл/мин
Транспортная линия	Деактивированный кварц, 0,53 мм
Температура в парофазном термостате	85 °C
Температура в парофазной петле инжектора	85 °C
Температура в парофазной транспортной линии	100 °C
Виалы	20 мл, септа ПТФЭ/силикон
Встряхивание виалы	Уровень 1
Режим наполнения виалы	До достижения давления
Давление наполнения виалы	1,03 бар
Режим наполнения петли инжектора	Настраиваемый
Скорость изменения давления петли инжектора	1,38 бар/мин
Конечное давление в петле инжектора	0,69 бар
Период установки равновесия петли инжектора	0,05 мин
Режим управления носителем	Управление носителем в ГХ
Продувка после экстракции	ВКЛ
Продувка после инжекции	100 мл/мин в течение 3 мин

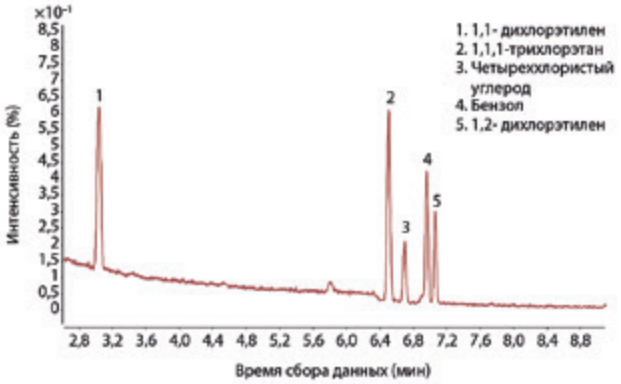


Рисунок 2. График ПИТ остаточных растворителей класса 1 с предельной концентрацией в очищенной воде

Представительный полный ионный ток для растворителей класса 2А показан на рисунке 3. На рисунке 4 представлен увеличенный фрагмент хроматограммы, демонстрирующий небольшие пики.

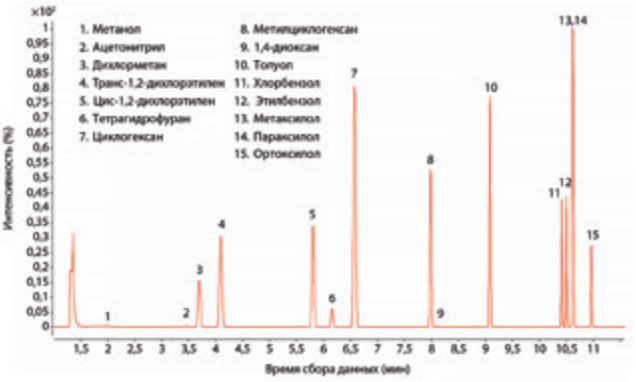


Рисунок 3. График ПИТ для растворителей класса 2А

Таблица 2.

Воспроизводимость остаточных растворителей классов 1, 2A и 2B. Представлены данные сканирования для всех классов и данные SIM для класса 2A. Подготовлены в предельных концентрациях в водном разбавителе

	Соединение	Предел USP (ppm)	ОСО сканирования (%)	ОСО SIM (%)
Класс 1	n=8			
	1,1-дихлорэтилен	8	0,9	
	1,1,1-трихлорэтан	1500	1,9	
	Четыреххлористый углерод	4	1,5	
	Бензол	2	0,7	
	1,2-дихлорэтан	5	0,9	
Класс 2A	n=10			
	Метанол	3 000	2,8	2,4
	Ацетонитрил	410	3,3	2,3
	Дихлорметан	600	2,5	2,2
	транс-1,2-дихлорэтилен	1 870	2,4	2,2
	цис-1,2-дихлорэтилен	1 870	2,1	2,1
	Тетрагидрофуран	720	3,0	2,2
	Циклогексен	3 880	2,7	1,3
	Метилциклогексан	1 180	4,3	1,6
	1,4-диоксан	380	2,6	2,3
	Толуол	890	0,7	2,0
	Хлорбензол	360	1,9	2,1
	Этилбензол	2 170	1,9	2,1
	м-ксилол, *п*-ксилол	2 170	2,1	1,8
	о-ксилол	2 170	2,1	1,8
Класс 2B	n=9			
	Гексан	290	3,2	
	Нитрометан	50	3,8	
	Хлороформ	60	2,5	
	1,2-диметоксиэтан	100	2,7	
	Трихлорэтилен	80	2,5	
	Пиридин	200	3,9	
	2-гексанон	50	2,4	
	Тетралин	100	2,5	

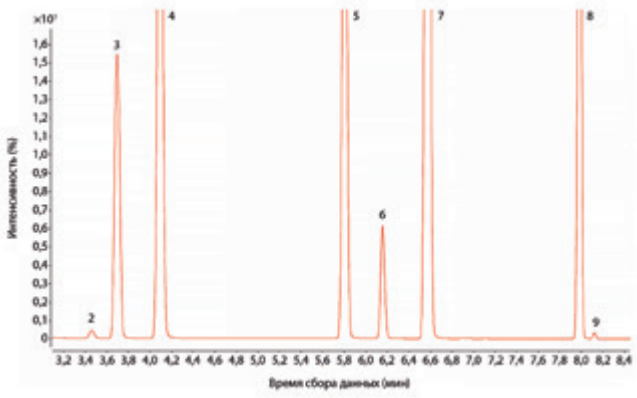


Рисунок 4. Увеличенный фрагмент хроматограммы, демонстрирующий соединения с низким откликом – ацетонитрил и 1,4-диоксан. Пиковые значения см. на рисунке 3

На рисунке 5 и в таблице 3 представлена хроматограмма SIM и использованные ионы SIM соответственно. В этом анализе использован коэффициент разделения 100 к 1. Более быстрая развертка лайнера ведет к значительному улучшению симметрии пика метанола. Даже при высоком коэффициенте разделения демонстрируется отличное соотношение «сигнал – шум». На рисунке 6 показана панель настройки SCAN/SIM (класс 2A) программы для сбора данных ChemStation для МСД.

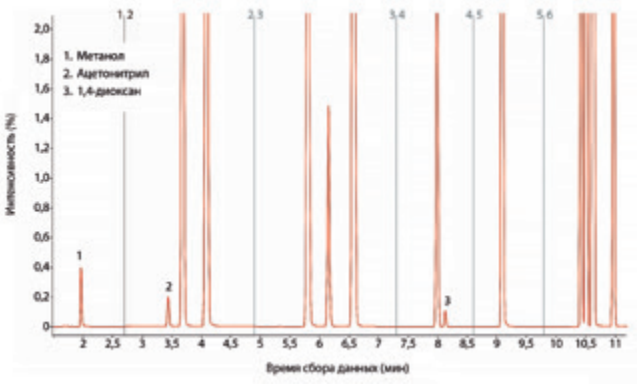


Рисунок 5. Хроматограмма SIM класса 2A и использованные временные рамки группы SIM

Рисунок 7 демонстрирует типичный цикл SIM для растворителей класса 2B. Коэффициент разделения 20 к 1. Для нитрометана видно хорошее соотношение «сигнал – шум». Пиридин, обнаружение которого всегда затруднено из-за его полярности, демонстрирует минимальное размывание пика на колонке VF-624 ms. В таблице 4 представлены использованные параметры SIM, а на рисунке 8 приведена панель настройки ПО ChemStation для МСД.

На фазе 624 может происходить коэлюирование, если рассматриваются все три класса растворителей.

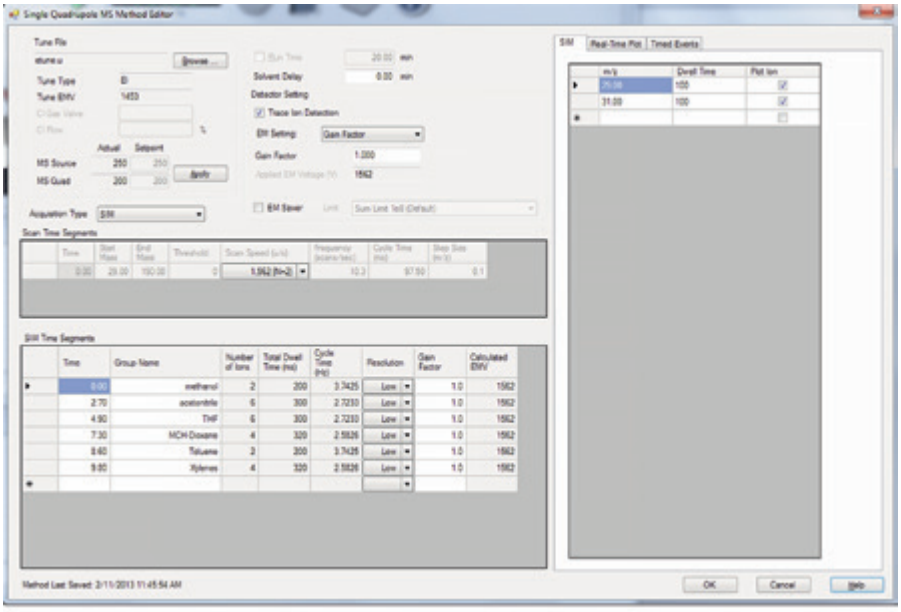


Рисунок 6. Панель настройки SCAN/SIM (класс 2A) программы сбора данных ChemStation для МСД

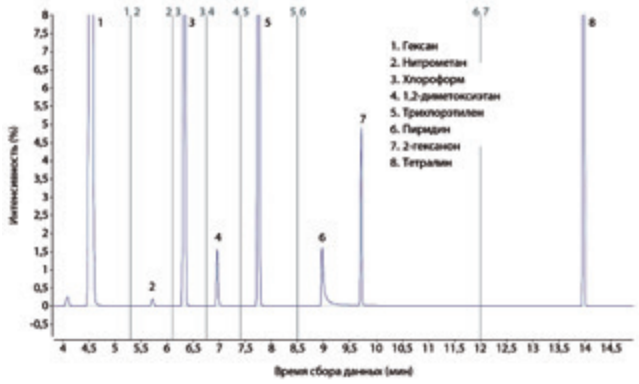


Рисунок 7. Типичный цикл SIM для растворителей класса 2B

Это обычно встречается в системах ПИД при использовании конфигурации с двумя колонками, где для второго канала используется колонка INNOWax, обеспечивающая другой порядок элюирования по сравнению с фазой 624. Использование МСД в SIM решает эту проблему при применении только фазы 624.

Система ГХ-МСД серии 5977 может быть мощным инструментом для разработки новых препаратов и серийного производства новых рецептур. Эта система также отлично подходит для разработки стандартных методик, которые необязательно должны соответствовать статье 467 USP. При наличии неизвестных пиков или растворителей эта система может стать наи-

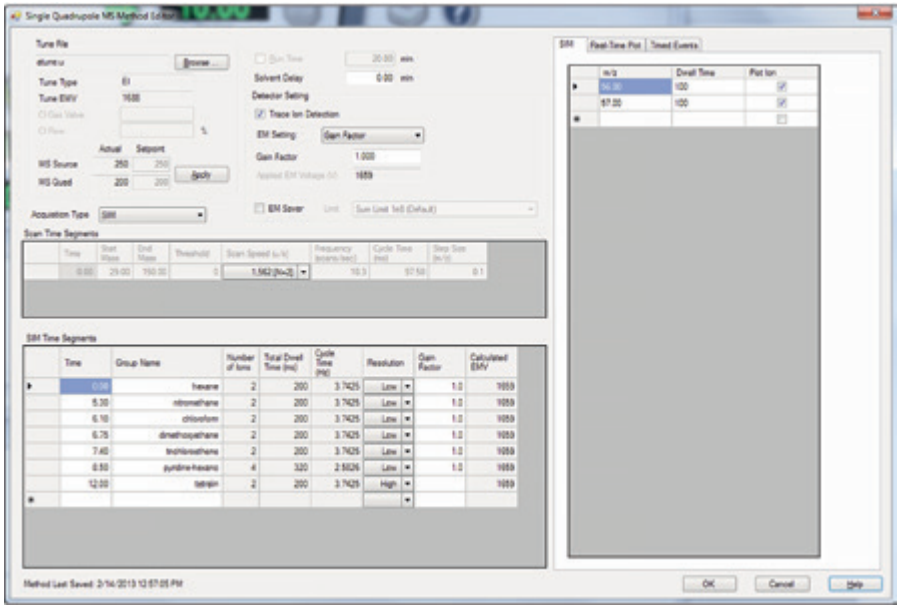


Рисунок 8. Панель настройки SCAN/SIM программы сбора данных ChemStation для МСД для растворителей класса 2B

лучшим решением. Чувствительность в режиме SIM также является значительным преимуществом при поиске низких содержаний примесей, известных или неизвестных.

Таблица 3.

Группы SIM для растворителей класса 2A

Группа	Соединение	Ионы SIM
1	Метанол	31,29
2	Ацетонитрил Дихлорметан Транс-1,2-дихлорэтилен Цис-1,2-дихлорэтилен	39,41,84,86,96,98
3	Тетрагидрофуран Циклогексен Метилциклогексан	56,71,72,84,96,98
4	1,4-диоксан	58,83,88,98
5	Толуол	91,92
6	Хлорбензол Этилбензол *m*-ксилол, *p*-ксилоло-ксилол	91,106,112,114

Таблица 4.

Группы SIM для растворителей класса 2B

Группа	Соединение	Ионы SIM
1	Гексан	56,57
2	Нитрометан	46,61
3	Хлороформ	83,85
4	Диметоксиэтан	45,60
5	Трихлорэтилен	130,132
6	Пиридин, 2-гексанон	52,58,79,85
7	Тетралин	104,132

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система ГХ-МСД серии 5977, ГХ 7890B и парофазный пробоотборник 7697A производства Agilent обеспечивают исключительную воспроизводимость при анализе остаточных растворителей. МСД – мощный аналитический инструмент для оценки примесей растворителей в исходных фармацевтических материалах, включая АФИ и носители. Он особенно эффективен при исследовании лекарственных препаратов и запуске серийного производства в тех случаях, когда необходима идентификация неизвестных соединений.

В характеристики системы также вносят вклад такие параметры парофазного пробоотборника 7697A, как инертный путь прохождения пробы, термические зоны с отклонением от заданного значения менее ±0,1 °C и гибкий отбор проб в виалы под управлением EPC. Эффект памяти в этой системе, по сути, отсутствует. Программируемая (скорость потока и время) очистка иглы/петли инжектора и дренажной линии используется для эффективной очистки системы между циклами.

Методики, использованные в этой статье, иллюстрируют возможные варианты анализа остаточных растворителей с помощью системы ГХ-МСД серии 5977. Лаборатории должны провести исследование пригодности и выполнять валидацию предлагаемых методик согласно руководству USP или ICH. Конфигурация с МСД особенно полезна, когда возникает необходимость в идентификации неизвестных соединений или для однозначного подтверждения в лабораториях контроля и обеспечения качества.

ЛИТЕРАТУРА

1. USP 32-NF 27. General Chapter USP <467> Organic volatile impurities // United States Pharmacopeia. Rockville, MD: Pharmacopoeia Convention Inc. 2009. № 8.
2. A.E. Gudat and R.L. Firor. Improved Retention Time, Area Repeatability, and Sensitivity for Analysis of Residual Solvents // Agilent Application Note. Publication number 5989-6079EN.
3. R.L. Firor. Analysis of USP<467> Residual Solvents with Improved Repeatability Using the Agilent 7697A Headspace Sampler // Agilent Application Note. Publication number 5990-7625EN.
4. B. Tienpont, D. Frank, S. Pat, and R.L. Firor. Analysis of USP<467> Residual Solvents using the Agilent 7697A Headspace Sampler with the Agilent 7890B Gas Chromatograph // Agilent Application Note. Publication number 5991-1834EN.
5. R.L. Firor. Fast Analysis of USP 467 Residual Solvents using the Agilent 7890A GC and Low Thermal Mass (LTM) System // Agilent Application Note. Publication number 5990-5094EN.
6. R.L. Firor. Optimizing Vial Pressurization Parameters for the Analysis of USP<467> Residual Solvents Using the 7697A Headspace Sampler // Application Note. Publication number 5990-9106EN.

АНАЛИЗ ОСТАТОЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ (USP, СТАТЬЯ 467) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПАРОФАЗНОГО ПРОБООТБОРНИКА AGILENT 7697A И ГАЗОВОГО ХРОМАТОГРАФА AGILENT 7890B

АВТОРЫ

Б. Тиенпонт (B. Tienpont),
Ф. Дэвид (F. David),
П. Сандра (P. Sandra),

Научно-исследовательский институт хроматографии, Кортрейк, Бельгия

Р.Л. Фирор (R.L Firor),

Agilent Technologies, Inc.
Уилмингтон, штат Делавэр, США

АННОТАЦИЯ

Анализ остаточных растворителей, определенных в статье 467 USP, успешно проведен с использованием статического парофазного метода на парофазном пробоотборнике Agilent 7697A и газовом хроматографе Agilent 7890B. Этот метод, ранее выполненный на ГХ Agilent 7890A, был перенесен на ГХ 7890B. Получены эквивалентные результаты и показано превосходное хроматографическое разделение в соответствии с установленными в статье 467 USP пределами. Данный тест показывает, что методы можно напрямую перенести с ГХ Agilent 7890A на ГХ 7890B без какой-либо модификации.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ остаточных растворителей – крайне важная процедура контроля качества в фармацевтической промышленности. Отбор проб, как правило, выполняется с помощью парофазного пробоотборника. Анализ выполняется на ГХ с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и специальной колонкой. Часто проводится также двухканальный анализ на параллельной колонке с использованием ГХ-ПИД или ГХ-ПИД-МСД. В предыдущих исследованиях были проверены воспроизводимость, чувствительность и разрешение других конфигураций [1].

Описанный двухканальный метод ГХ-ПИД был оценен на ГХ Agilent 7890B. Оригинальный метод был перенесен на другую ГХ-систему без модификации. Выполнен анализ воспроизводимости, чувствительности и разрешения с использованием водных растворов остаточных растворителей класса 1, класса 2A и класса 2B.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Agilent Technologies

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растворы

Использованы три следующих базовых раствора остаточных растворителей в диметилсульфоксиде.

- остаточный растворитель для метода USP, статья 467, класс 1 (p/n 5190-0490);
- остаточный растворитель для метода USP, статья 467, класс 2A (p/n 5190-0492);
- остаточный растворитель для метода USP, статья 467, класс 2B (p/n 5190-0513).

Базовые растворы были разведены в воде в соответствии с установленными в USP пределами по следующей схеме.

Растворители класса 1

- Виала с базовым раствором объемом 1,0 мл плюс 9 мл диметилсульфоксида с разведением до 100 мл.
- 1,0 мл из этапа 1 с разведением водой до 100 мл.
- 10 мл из этапа 2 с разведением водой до 100 мл.
- 1,0 мл из этапа 3 плюс 5 мл воды в парофазной виале объемом 20 мл.

Растворители класса 2A

- Виала с базовым раствором объемом 1,0 мл с разведением до 100 мл.
- 1,0 мл из этапа 1 плюс 5 мл воды в парофазной виале объемом 20 мл.

Растворители класса 2B

- Виала с базовым раствором объемом 1,0 мл с разведением до 100 мл.
- 5,0 мл из этапа 1 плюс 1 мл воды в парофазной виале объемом 20 мл.

Таким образом, общий объем пробы был постоянным – 6 мл в парофазных виалах объемом 20 мл. Окончательные концентрации остаточных растворителей соответствовали пределам USP с допущением, что парофазная виала содержала пробу лекарственного вещества массой 50 мг (таблица 1).

Конфигурация системы

Анализы проводились на парофазном пробоотборнике Agilent 7697A, соединенном с ГХ Agilent 7890B. На рисунке 1 показана конфигурация с двумя параллельными колонками.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Выполнен парофазный статический анализ при температуре 85 °C в течение 40 мин, в соответствии с ранее описанным методом [1]. Условия эксперимента для ГХ приведены в таблице 2. В испаритель с делением и без деления установлен лайнер Ultra Inert (p/n 5190-2295) без стекловолокна.

Таблица 1.

Остаточные растворители, номера пиков, пределы концентрации по USP (ppm = мг/кг) и воспроизводимость (n=6). Данные получены на ГХ-ПИД с парофазным пробоотборником на колонке 1 (VF624)

	Вещество	Предел USP (ppm)	ОСО (%)
Класс 1			
1	1,1-дихлорэтилен	8	2,3
2	1,1,1-трихлорэтан	1500	1,7
3	Четыреххлористый углерод	4	1,9
4	Бензол	2	1,7
5	1,2-дихлорэтан	5	2,1
Класс 2A			
1	1 Метанол	3000	0,8
2	Ацетонитрил	410	0,8
3	Дихлорметан	600	0,3
4	*Транс*-1,2-Дихлорэтилен	1870	0,8
5	*Цис*-1,2-дихлорэтилен	1870	1,4
6	Тетрагидрофуран	720	1,1
7	Циклогексан	3880	1,4
8	Метилциклогексан	1180	1,5
9	1,4-диоксан	380	1,4
10	Толуол	890	1,7
11	Хлорбензол	360	0,4
12	Этилбензол	2170	0,6
13, 14	*м*-ксилол, *п*-ксилол	2170	2,2
15	*о*-ксилол	2170	2,2
Класс 2B			
1	Гексан	290	3,1
2	Нитрометан	50	4,3
3	Хлороформ	60	1,7
4	1,2-диметоксиэтан	100	1,5
5	Трихлорэтилен	80	2,0
6	Пиридин	200	1,4
7	2-гексанон	50	1,6
8	Тетралин	100	1,7

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунках 2–4 представлены хроматограммы, полученные для остаточных растворителей классов 1, 2A и 2B соответственно. Пики на хроматограммах можно определить, используя обозначения в таблице 1. Результаты разделения очень похожи на те, что получены в проведенном ранее эксперименте с ГХ 7890A [1]. Порядок элюирования, разрешение и чувствительность в обоих экспериментах эквиваленты.

Растворители класса 1 бензол и 1,2-дихлорэтилен разделены на базовой линии на колонке VF-624. Соотношение «сигнал – шум» для растворителей класса 1:

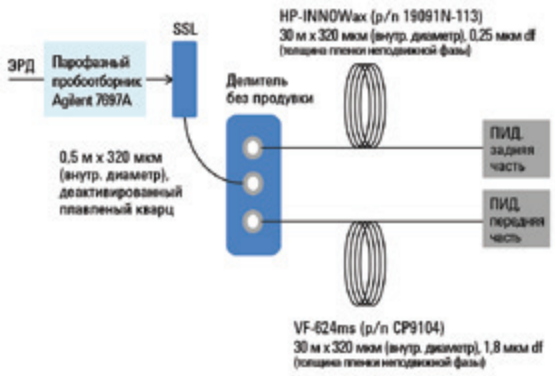


Рисунок 1. **Конфигурация системы**

18 – для 1,1-дихлорэтилена, 31 – для 1,1,1-трихлорэтана, 4 – для четыреххлористого углерода, 42 – для бензола, 19 – для 1,2-дихлорэтана. Во всех случаях соотношение «сигнал–шум» было больше 3 (минимальный порог). Эти значения получены с детектированием на параллельных колонках (разделение между колонками 1:1). Значения с использованием одной колонки были бы в 2 раза больше.

Таблица 2.

Условия ГХ

Условия	ГХ Agilent 7890A
Колонка A	30 м × 0,32 мм (внутр. диаметр), 1,8 мкм VF-624ms (p/n CP9104)
Колонка B	30 м × 0,32 мм (внутр. диаметр), 0,25 мкм HP-INNOWax (p/n 19091N-113)
Газ-носитель	Гелий, 104 кПа
Введение	С разделением и без разделения, 140 °C, коэффициент разделения 1:5
Температура термостата	От 40 °C (5 мин.) до 240 °C (2 мин.) при скорости изменения температуры 18 °C/мин
Детектирование (оба канала)	ПИД, 250 °C при 20 Гц

Анализ был повторен шесть раз. Значения ОСО, полученные на колонке VF-624, приведены в таблице 1. Среднее ОСО составило 1,6%, что является превосходным значением для статического парофазного отбора проб с данными концентрациями. Такая высокая эффективность может быть связана с отбором проб под контролем электронного регулятора давления (ЭРД), полностью инертным путем прохождения пробы, стабильными однородными термическими зонами и технологией капиллярных потоков CFT (Cappilary Flow Technology).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методы, разработанные для анализа остаточных растворителей (USP, статья 467) на парофазном пробоотборнике Agilent 7697A с ГХ Agilent 7890A, можно перенести на ГХ Agilent 7890B с сохранением разрешения, чувствительности и воспроизводимости. Для трех

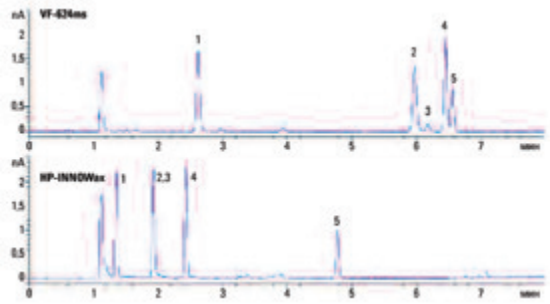


Рисунок 2. **Двухканальный профиль ГХ-ПИД для растворителей класса 1 в пределах спецификации USP, полученный с использованием парофазного пробоотборника Agilent 7697A и ГХ Agilent 7890B (обозначения пиков см. в таблице 1)**

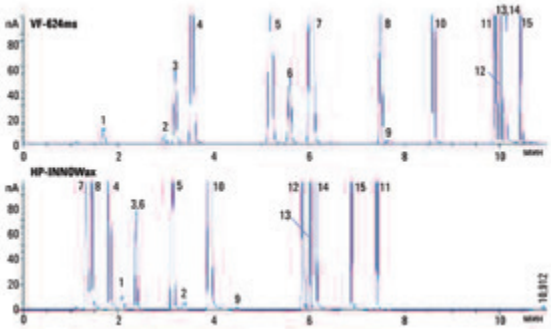


Рисунок 3. **Двухканальный профиль ГХ-ПИД для растворителей класса 2A в пределах спецификации USP, полученный с использованием пробоотборника Agilent 7697A и ГХ Agilent 7890B (обозначения пиков см. в таблице 1)**

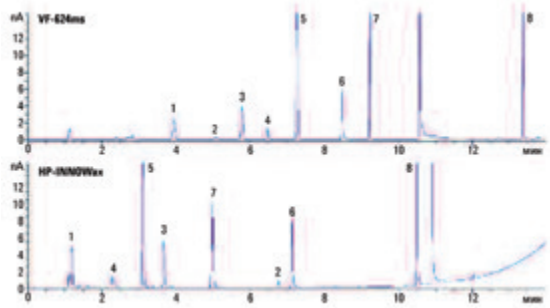


Рисунок 4. **Двухканальный профиль ГХ-ПИД для растворителей класса 2B в пределах спецификации USP, полученный с использованием парофазного пробоотборника Agilent 7697A и ГХ Agilent 7890B (обозначения пиков см. в таблице 1)**

классов остаточных растворителей получены превосходные результаты в пределах концентраций, определенных в USP, в статье 467.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р.Л. Фирор. Улучшение воспроизводимости при анализе остаточных растворителей (USP, статья 467) с помощью парофазного пробоотборника Agilent 7697A / Техническая информация Agilent Technologies 5990-7625EN, август 2012 г.
2. USP 32-NF 27. Общий раздел 467. Летучие органические примеси / USP. – Роквилл. 2009.

УЛУЧШЕННЫЙ АНАЛИЗ ЖИДКИХ ПРОБ С ПОМОЩЬЮ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРА CARY 630 С ПРИСТАВКОЙ DIALPATH

Специализированные реактивы

АВТОРЫ

Ф. Хиггинс (F. Higgins),
А. Рейн (A. Rein),

Agilent Technologies, Inc.
Данбери, штат Коннектикут, США

Agilent Technologies

АННОТАЦИЯ

Измерение пропускания жидкостей и метод НПВО

Обеспечение качества поступающего сырья, а также готовой продукции является важнейшим требованием в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности. Для этой цели широко используются методы ИК-фурье-спектроскопии. Если исследуемые компоненты находятся в жидкой фазе, то специалист может выбрать один из двух методов спектроскопии – метод исследования пропускания или метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).

До 1980 г. для спектроскопического анализа жидкостей в среднем ИК-диапазоне широко использовался только метод исследования пропускания. Ячейки для измерения коэффициента пропускания обычно делились на два типа, с фиксированной или с изменяемой длиной оптического пути. Ячейки с фиксированной длиной оптического пути изготавливались из различных прозрачных материалов в зависимости от применения. Пробы жидкости обычно вводились в такие ячейки с помощью шприцев и фитингов с замками Люэра. Такие ячейки подходили для жидкостей с низкой вязкостью, но при исследовании жидкостей с более высокой вязкостью возникали сложности по заполнению и очистке ячеек. Ячейки с изменяемой длиной оптического пути содержали сменные стекла, что позволяло специалисту по анализу в зависимости от конкретного применения устанавливать требуемую длину оптического пути с помощью предварительно изготовленных проставок, обычно выполненных из ПТФЭ. Такие ячейки обеспечивали большую гибкость по сравнению с ячейками с фиксированной длиной оптического пути, но их эффективность снижали проблемы с утечками и интерференционными явлениями.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

После 1980 г. для жидкостей массово стали использоваться ячейки типа НПВО. Поскольку применение этих устройств было намного проще, их популярность возросла до современного уровня, когда НПВО является наиболее широко используемым методом в спектроскопии среднего ИК-диапазона как для твердых веществ, так и для жидкостей. При измерении по методу НПВО длина оптического пути определяется глубиной проникновения затухающей волны, которая зависит от произведения длины волны на количество отражений. Таким образом, максимальная длина оптического пути, которая может быть достигнута для типичного вещества элемента НПВО (алмаз или ZnSe), обычно не превышает значений от 12 до 15 мкм. Метод НПВО достаточно эффективен для измерений со сравнительно короткой длиной оптического пути (чистые жидкости или непрозрачные в среднем ИК-диапазоне растворы с высокой концентрацией аналитов), тогда как для измерений с большей длиной оптического пути в среднем ИК-диапазоне стандартом остается применение описанных выше ячеек с фиксированной или переменной длиной оптического пути.

DialPath — это революция в анализе жидкостей методом ИК-фурье

DialPath — это уникальная инновационная технология исследования жидкостей, которая совмещает возможности изменения длины оптического пути классической ячейки пропускания с удобным и простым в использовании методом НПВО. Метод DialPath (рисунок 1) использует оптическую головку, которую можно поворачивать для выбора одного из трех вариантов фиксированного оптического пути от 30 до 250 мкм (опционально – 1000 мкм) с заводской калибровкой. При проведении анализа пробы капля жидкости помещается на установленное на верхней поверхности анализатора стационарное окно, прозрачное в ИК-диапазоне, после чего второе окно поворачивается в рабочее положение, при этом проба оказывается между двумя окнами (рисунок 2). Так с высокой воспроизводимостью формируется фиксированная длина оптического пути между двумя окнами. Для проб с низкой концентрацией выбирается ячейка с большей длиной оптического пути, для более концентрированных проб используются более короткие длины оптического пути. Растворителем очищаем устройство для анализа следующей пробы. В сравнении с предшествующим методом классической ячейки пропускания такой анализатор имеет следующие преимущества:

- позволяет при необходимости практически мгновенно устанавливать три различные длины оптического пути;
- не требуется разборка для изменения длины оптического пути;
- не используются проставки, что исключает утечку и интерференционные явления;

Рисунок 1. ИК-Фурье-спектрометр Agilent Cary 630 с оригинальной приставкой DialPath. Cary 630 – сверхкомпактный и удобный в использовании спектрометр ИК-Фурье с выдающимися характеристиками. Сочетание с технологией DialPath дает исключительно мощный инструмент для анализа жидкостей

Рисунок 2. Технология DialPath позволяет за несколько секунд выбрать одно из трех фиксированных значений длины оптического пути с заводской калибровкой

- для ввода пробы не нужен автосамплер;
- жидкости различной вязкости могут обрабатываться с одинаковой эффективностью;
- летучие аналиты и растворы исследуются с большой точностью;
- очень быстрая очистка от следов пробы;
- возможность быстрого анализа проб;
- не требуются запчасти и расходные материалы (стекла ячеек, очищающие растворы и т. д.).

ЭКСПЕРИМЕНТЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

С помощью технологии DialPath был проведен анализ жидкостей, используемых в качестве добавок в пищевых продуктах, лекарственных препаратах и косметике, – пропиленгликоля, глицерола, триацетина и дипропиленгликоля – для подтверждения их идентичности и общей чистоты. С целью получения высококачественных спектрограмм в среднем ИК-диапазоне был выбран короткий оптический путь длиной 30 мкм, обеспечивающий оптическую прозрачность пробы. Спектрограммы (рисунок 3) состоят из 64 совмещенных интерферограмм с разрешением 4 $см^{-1}$, для получения которых потребовалось 30 с. Затем эти спектрограммы сравнивали с опорными спектрограммами, содержащимися во встроенной библиотеке; сравнение показало качество совпадения более 0,99 для каждой пробы (шкала от 0 до 1,000, где значению 1,000 соответствует полное совпадение). Качество совпадения

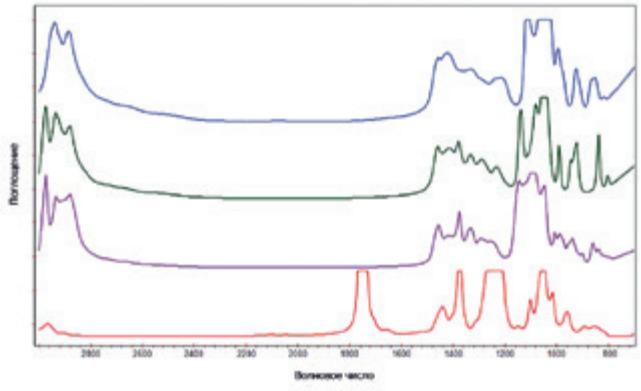


Рисунок 3. Спектры образцов, полученные с помощью технологии DialPath с использованием оптического пути длиной 30 мкм. Синий – глицерол, красный – триацетин, зеленый – пропиленгликоль и пурпурный – дипропиленгликоль

подтверждает идентичность и чистоту этих четырех жидкостей.

Содержащиеся в пищевых добавках примесные составляющие подлежат измерению, так как для продуктов народного потребления установлены конкретные пороговые значения, которые не должны быть превышены. При установке окон в положение оптического пути длиной 30 мкм были исследованы чистые образцы двух основных примесей – этиленгликоля и диэтиленгликоля. Спектры этих примесей схожи между собой (рисунок 4) и со спектрами чистых соединений. Для определения уровня этих примесей был приготовлен ряд калибровочных проб, в каждой из таких смесей изменялось количество обеих примесей. Поглощение в полосах инфракрасного спектра для этих примесей в соответствии с законом Бера возрастает пропорционально их концентрации. Для каждой из примесей в смесях была построена собственная калибровочная кривая с использованием метода наименьших квадратов (МНК). Хемометрия с использованием МНК позволяет точно моделировать молярную абсорбционную способность исследуемых полос поглощения этиленгликоля и диэтиленгликоля в каждой смеси.

Для измерения были использованы конкретные области длин волн, поскольку спектрограммы примесей и добавок весьма схожи. Например, для глицерола области спектра от 875 до 905 $см^{-1}$ и от 1130 до 1200 $см^{-1}$ были обнаружены в качестве эффективных полос для измерения примесей. Однако 100-мкм длина оптического пути оказалась слишком большой и привела к скрытию исследуемых областей (рисунок 5), а длина оптического пути 30 мкм не обеспечивала уровень чувствительности, необходимый для измерений содержания примесей. По этой причине для проведения анализа была выбрана длина оптического пути 75 мкм. Эта длина оптического пути обеспечивает достаточную прозрачность в анализируемой области спектра и позволяет проводить измерения содержания примесей. Было обнаружено, что калибровочные значения коэффициента корреляции R^2 при использовании МНК равны 0,9895 и 0,9745 для этиленгликоля и диэтиленгликоля соответственно. На основании этих калибровочных данных были получены значения пределов количественного определения (Limit of Quantitation, LOQ) прибл. 0,075 объемного процента и пределов обнаружения (Limits of Detection, LOD) в 0,04 объемного процента. Поскольку предел количественного определения значительно ниже предела FDA (0,1 объемного процента), пользователь может быть уверен в чистоте глицерола, а значительно более низкий предел обнаружения позволяет оптимизировать процесс производства для минимизации примесей в этих составах соединений. Программное обеспечение для ИК-фурье-спектроскопии MicroLab от Agilent Technologies представляет эти результаты в количественном виде, а также кодирует результаты цветовым кодом (например, красный цвет – выход за допустимый диапазон, зеленый – в диапазоне; рисунок 7). Разрабатывающий методику анализа специалист может выбирать, настраивать или при необходимости изменять пороговые значения выделения цветом.

Измерение уровня примесей в глицероле – показательный пример важности выбора правильной дли-

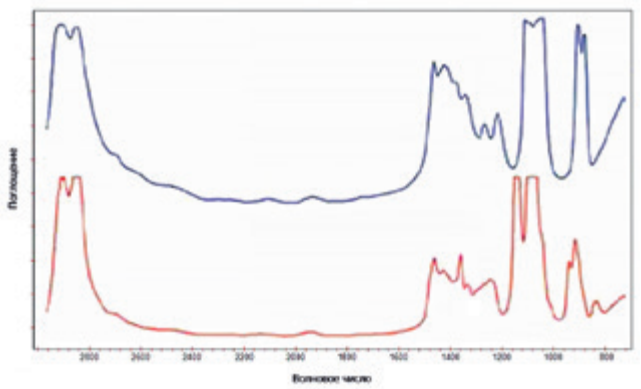


Рисунок 4. Спектрограммы примесей этиленгликоля (синий) и диэтиленгликоля (красный), снятые с использованием оптического пути длиной 30 мкм. Спектрограммы схожи между собой и со спектрограммами составляющих продукта

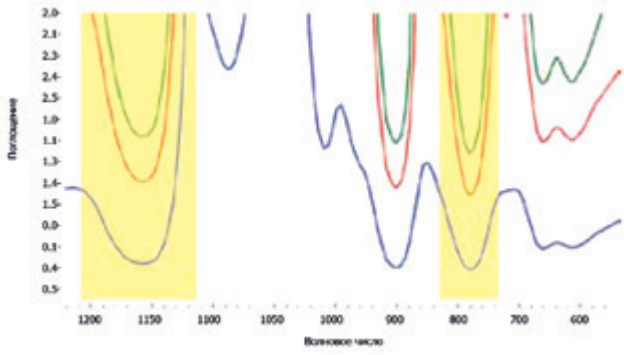


Рисунок 5. Для глицерола оптический путь длиной 100 мкм (зеленый) приводит к значительному поглощению, а оптический путь длиной 30 мкм (синий) не обеспечивает требуемых пределов обнаружения примесей. Оптический путь длиной 75 мкм (красный) обеспечивает необходимые значения чувствительности и уровня обнаружения примесей

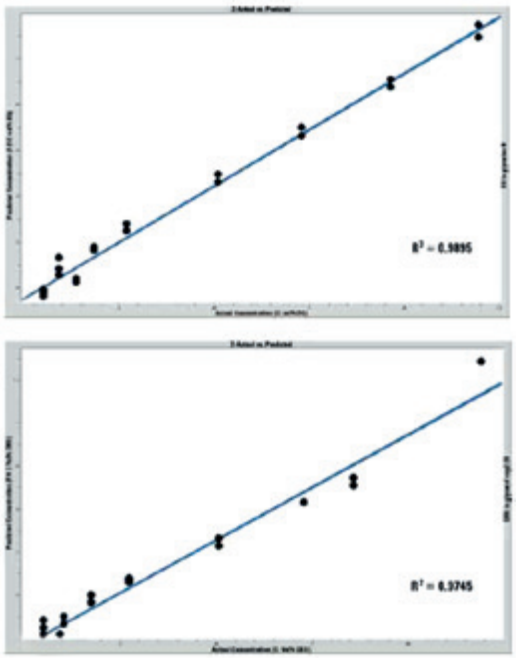


Рисунок 6. **Градуировочная кривая для этиленгликоля (верхняя) и диэтиленгликоля (нижняя) в глицероле. Градуировочная кривая для примесей в глицероле показывает очень хорошие значения R^2 и пределов обнаружения (0,04 объемного процента) для каждой примеси**

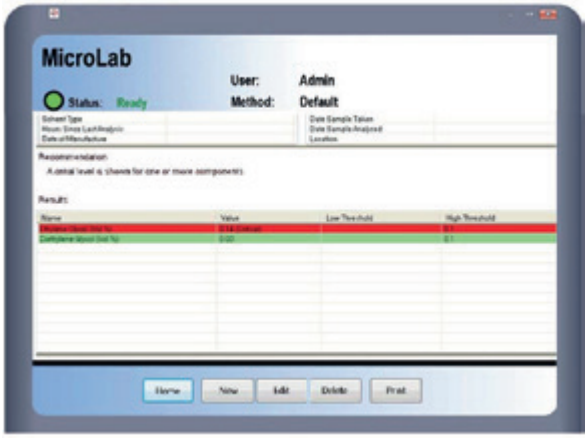


Рисунок 7. **ПО MicroLab отображает результаты анализа уровня примеси этиленгликоля в глицероле. Выделение красным цветом показывает, что уровень примеси находится вне допустимых спецификацией пределов**

ны оптического пути для получения оптимальной чувствительности в критически важных исследованиях. Учитывая вязкость глицерола, специалист по анализу может выбрать для проведения измерений метод НПВО, в то время как традиционные жидкостные ячейки трудно заполнять жидкостью высокой вязкости. С помощью метода НПВО можно получать высококачественный спектр чистого глицерола, но, так как длина оптического пути в этом методе ограничена, не могут быть получены такие уровни количественного определения, которые достигаются с 75 мкм длиной оптического пути. Кроме того, технология DialPath столь же удобна в использовании, как и метод НПВО, как при вводе пробы, так и при очистке системы от пробы.

Для определения уровня примесей этиленгликоля и диэтиленгликоля в триацетине, пропиленгликоле и дипропиленгликоле были использованы одинаковые процедуры. Например, длина оптического пути 100 мкм позволила получить оптимальные результаты по обнаружению этих примесей в триацетине. Причина этого заключается в том, что триацетин имеет сравнительно прозрачные области спектра в диапазонах между 812 и 939 $см^{-1}$ и между 1100 и 1200 $см^{-1}$, которые хорошо подходят для обнаружения спектральных составляющих примесей. Триацетин в этой области имеет даже меньшее оптическое поглощение, чем глицерол в предыдущем примере, позволяя использовать большие значения длины оптического пути. Калибровка примесей в триацетине с помощью МНК позволила получить для этиленгликоля и диэтиленгликоля значения R^2 на уровне 0,9997 и 0,9998 с пределами обнаружения 0,04 и 0,02 объемного процента соответственно. Измерения в пробах триацетина с использованием этих калибровочных данных показывают, что уровни примесей находятся в разрешенном спецификацией диапазоне; однако диэтиленгликоль обнаруживается при низких уровнях (0,04%, или 400 ppm), что обеспечивает возможность более точного анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общая простота является основной причиной популярности использования метода НПВО для чистых жидкостей и аналитов с высокой концентрацией. Однако метод НПВО предлагает ограниченный выбор длины оптического пути и менее эффективен для исследования аналитов с низкой концентрацией. Это хорошо иллюстрируют приведенные в данном обзоре примеры анализа, целью которых было количественное измерение в аналитах низкоуровневых примесей со спектрами, схожими со спектрами основных продуктов, для обеспечения соответствия поступающих добавок спецификациям производителя. В этом примере для достижения заданных пределов количественного определения необходимо было провести измерения коэффициента пропускания, но их выполнение с использованием традиционных ячеек пропускания затруднительно и потенциально менее точно, в частности, для таких вязких жидкостей, как глицерол.

Технология DialPath позволяет быстро и точно выбрать правильную длину оптического пути, необходимую для обнаружения примесных аналитов, а также обеспечить возможность выбора более короткой длины оптического пути для общей идентификации жидкостей. В то же время эта технология позволяет проводить такие измерения легко и быстро, как и по методу НПВО, для случаев с более короткими длинами оптического пути. Фактически технология DialPath устраняет необходимость проведения измерений жидкостей по методу НПВО с целью подтверждения идентичности, сохраняя присущие методу НПВО простоту и быстроту.

ОБЗОР ЛИОФИЛИЗАЦИОННЫХ СИСТЕМ MARTIN CHRIST

По материалам компании Martin Christ

АННОТАЦИЯ

Высокопроизводительные системы сублимационной сушки, позволяющие получить большие объемы продуктов (например, быстрорастворимого кофе), крайне необходимы для пищевой промышленности. Однако для биотехнологической и фармацевтической промышленности более важное значение имеют системы, отвечающие самым высоким стандартам качества и обеспечивающие работу с окисляющимися, термолабильными и дорогостоящими лекарственными веществами (антибиотики, ферментные препараты, сыворотки и вакцины). Благодаря широкому ассортименту систем лиофилизации производства компании Martin Christ специалисты самых разных отраслей могут найти готовое оптимальное решение для лиофилизации или заказать разработку системы по индивидуальным требованиям.

ВВЕДЕНИЕ

Сублимационная сушка или лиофилизация – это эффективный и бережный способ сушки веществ. Она основана на физическом явлении сублимации, заключающемся в прямом переходе от твердого в газообразное состояние без прохождения через жидкую фазу. Чтобы добиться этого эффекта, замороженный продукт сушится в условиях вакуума без размораживания. Данный процесс подходит для самых разнообразных вариантов применения:

- сохранение исходных характеристик вещества (например, фармацевтического препарата, молока);
- сохранение исходной формы (например, таксидермия, сохранение археологических находок или цветов);
- стабилизация веществ (например, сублимированные фрукты в йогурте);
- химический анализ (например, анализ следов органических соединений в пищевых продуктах, глинах, почвах).

Лиофилизация успешно используется для обработки более чем 30 категорий субстанций и материалов. Наиболее значимыми рынками для лиофилизации являются фармацевтическая, биотехнологическая, а также пищевая промышленности.

Как правило, различают лиофилизаторы периодического режима работы и непрерывно используемые системы лиофилизации. Системы периодического действия предназначены для технологических процессов производительностью приблизительно от 2 кг до 1000 кг. Именно на разработке и производстве лиофилизационных систем данного типа специализируется компания Martin Christ. Являясь мировым лидером в данном направлении, компания предлагает широкий ассортимент оборудования, начиная от настольных лабораторных систем и пилотных лиофилизаторов и заканчивает системами для крупносерийного производства.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Лабораторные лиофильные сушилки

- Конденсатор емкостью от 2 кг до 24 кг льда.
- Система воздушного охлаждения.
- Широкий выбор дополнительных аксессуаров для широкого диапазона применений.

Пилотные лиофильные сушилки

- Конденсатор емкостью от 6 до 16 кг льда.
- Воздушное или водяное охлаждение.
- Замораживание, основная сушка, конечная сушка внутри одной камеры на полках с контролем температуры.

Промышленные лиофильные сушилки

- Конденсатор емкостью от 20 кг до 1000 кг льда и больше.
- Холодильная установка с водяным охлаждением.
- Замораживание, основная сушка, конечная сушка внутри одной камеры на полках с контролем температуры.
- Однокамерная или двухкамерная система.
- SIP, CIP, IQ/OQ.
- Интеграция процессов (система загрузки, дополнительное оборудование).

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ

Принцип сублимации может быть объяснен на основании фазовой диаграммы (диаграммы состояния). Процесс обычно проводится в водных системах, несмотря на то, что в последнее время все большее значение приобретают лиофилизаторы для сушки растворов с использованием специальных растворителей.

Диаграмма состояния графически показывает фазовое превращение веществ в пространстве основных термодинамических параметров – температуры и давления.

Например, она показывает, что точка кипения воды при нормальном атмосферном давлении точно соответствует температуре 100 °C. При более низком давлении точка кипения снижается (принцип, на котором основана вакуумная дистилляция), и наоборот, при более высоком давлении точка кипения повышается (принцип, на котором основана работа термобарокамеры).

Если давление выше чем 6,11 мбар, то при повышении или понижении температуры вода (H_2O) проходит все три стадии (твердое, жидкое и газообразное состояние). Ниже этой точки, т.е. если давление меньше чем 6,11 мбар, вода переходит из твердого непосредственно в газообразное состояние. При давлении ровно 6,11 мбар кривая плавления, кривая парообра-

зования и кривая сублимации встречаются в так называемой тройной точке. В тройной точке вещество может существовать во всех трех состояниях.

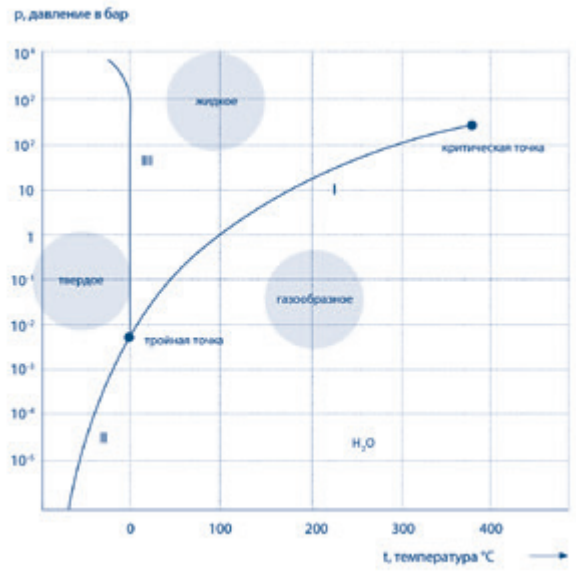


Рисунок 1. **Кривая парообразования и кривая сублимации**

Таблица 1.

Часть значений кривой сублимации

°C	мбар	°C	мбар	°C	мбар	°C	мбар
0	6,110	–20	1,030	–40	0,120	–60	0,011
–1	5,620	–21	0,940	–41	0,110	–61	0,009
–2	5,1700	–22	0,850	–42	0,100	–62	0,008
–3	4,760	–23	0,770	–43	0,090	–63	0,007
–4	4,370	–24	0,700	–44	0,080	–64	0,006
–5	4,020	–25	0,630	–45	0,070	–65	0,0054
–6	3,690	–26	0,570	–46	0,060	–66	0,0047
–7	3,380	–27	0,520	–47	0,055	–67	0,0041
–8	3,010	–28	0,470	–48	0,050	–68	0,0035
–9	2,840	–29	0,420	–49	0,045	–69	0,0030
–10	2,560	–30	0,370	–50	0,040	–70	0,0026
–11	2,380	–31	0,340	–51	0,035	–71	0,0023
–12	2,170	–32	0,310	–52	0,030	–72	0,0019
–13	1,980	–33	0,280	–53	0,025	–73	0,0017
–14	1,810	–34	0,250	–54	0,024	–74	0,0014
–15	1,650	–35	0,220	–55	0,021	–75	0,0012
–16	1,510	–36	0,200	–56	0,018	–76	0,0010
–17	1,370	–37	0,180	–57	0,016	–77	–
–18	1,250	–38	0,160	–58	0,014	–78	–
–19	1,140	–39	0,140	–59	0,012	–79	–

Давление

$$1 \text{ мбар} = 100 \text{ Па} = 1 \text{ гПа}$$

$$1 \text{ Па} = 0{,}010 \text{ мбар}$$

Температура

$$T = t + 273$$

$$t = T - 273$$

$$t_F = 1{,}8 \times t + 32$$

$$t = \frac{t_F - 32}{1{,}8},$$

где T – термодинамическая температура Кельвина, K; t – температура по шкале Цельсия, °C; t_F – температура по шкале Фаренгейта, °F.

КОНСТРУКЦИЯ ЛИОФИЛЬНЫХ СУШИЛОК

Обычно лиофильная сушилка состоит из емкости (камеры продукта), в которой размещается субстанция, конденсатора льда и вакуумного насоса. Однако под влиянием различных технических требований конструкция сушилок подвергалась существенным изменениям, благодаря чему в настоящее время доступна широкая линейка систем лиофилизации.

Основные компоненты лиофильных сушилок:

1. Вакуумная сушильная камера.
2. Вакуумный насос для удаления отработанного воздуха из сушильной камеры.
3. Конденсатор льда, работающий при температуре от –55 °C до –105 °C (в зависимости от типа системы), для удаления водяных паров из камеры.
4. Нагреваемые или ненагреваемые полки для сушки в различных сосудах (опционально).
5. Полки с системой укупорки флаконов (опционально).
6. Резиновые вентили для подсоединения круглодонных колб, широкогорлых колб и т.д. (опционально).
7. Манифолды для подсоединения круглодонных колб, широкогорлых колб и т.д. (опционально).

И лабораторные, и производственные лиофильные сушилки подразделяются на однокамерные и двухкамерные системы.

Лабораторные системы

Как показано на рисунке 4, в однокамерных системах замораживание и дальнейшая сушка продукта проводятся внутри камеры конденсатора. Заморозка образцов обусловлена низкой температурой

Рисунок 2. Лиофильная сушилка с сушильной камерой из акрилового стекла и резиновыми вентилями

Рисунок 3. Лиофильная сушилка с системой укупорки флаконов (размещаемых внутри системы во время процесса)

ледового конденсатора (–55 °C для однокомпрессорной системы или –85 °C для двухкомпрессорной системы). Внутреннее пространство может охлаждаться до –20 °C или –40 °C соответственно. Подача воздуха во время этапа заморозки обеспечивает эффективность переноса энергии между образцом и конденсатором. Во время этапа первичной сушки необходимо подавать достаточное количество энергии к замороженным образцам, что обеспечивается нагревом полок. Подключение специального устройства позволяет после досушки укупоривать флаконы под вакуумом или в атмосфере инертного

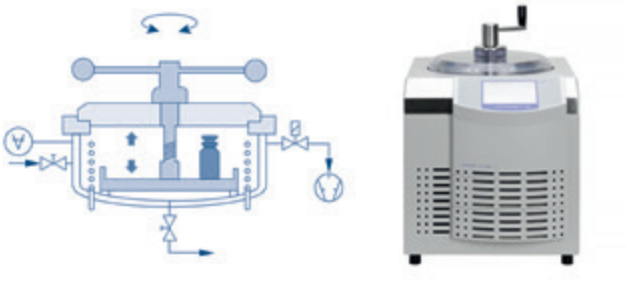


Рисунок 4. Лабораторная система лиофилизации с одной камерой

газа, исключая контакт сублимированных образцов с окружающей средой.

На рисунке 5 показана лиофильная сушка, в которой полки расположены в акриловой камере вне камеры конденсатора. Такая конструкция характерна для двухкамерных систем. Преимущество данной конструкции в том, что она обеспечивает большую производительность при той же площади занимаемого пространства. Более того, благодаря отделению камеры продукта от конденсатора (с помощью промежуточного клапана, как показано на рисунке) можно проводить так называемое испытание путем повышения давления для установления окончания процесса сушки. Недостаток этого способа в том, что требуется дополнительная обработка образцов, которые должны быть заранее заморожены во внешнем морозильнике. После размещения продукта сушилке акриловая камера устанавливается на место и начинается процесс лиофилизации.

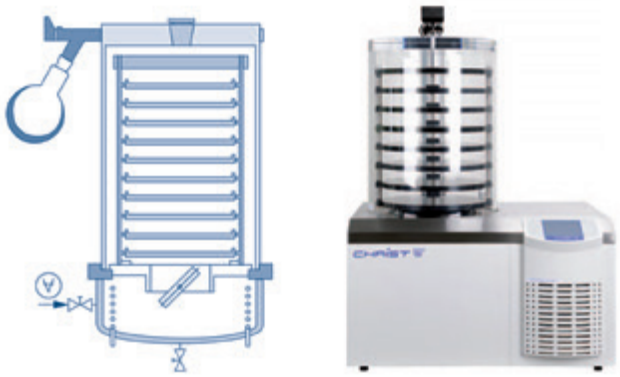


Рисунок 5. Лабораторная система лиофилизации с двумя камерами

Все лабораторные системы компании Christ, которые оборудованы полками с температурным контролем, могут работать как в однокамерных, так и двухкамерных системах.

ПОСТАНОВКА МЕТОДИКИ АНАЛИЗА ОСТАТОЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ В СООТВЕТСТВИИ С ФАРМСТАТЬЕЙ №467 АМЕРИКАНСКОЙ ФАРМАКОПЕИ (USP <467>) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШПРИЦЕВОГО ПАРОФАЗНОГО ПРОБООТБОРНИКА GERSTEL MPS 2

АВТОР

Дж.Р. Стафф (J.R. Stuff),
Компания GERSTEL, Inc.

АННОТАЦИЯ

Общая фармацевтическая статья USP <467> содержит описание методики определения остаточных растворителей в фармацевтической продукции, активных ингредиентах, а также в наполнителях. В первоначальном варианте статьи указаны параметры работы с дозатором равновесного пара в петлевой модификации. Однако в дальнейших редакциях статья была дополнена данными для работы и со шприцевым дозатором пара.

ВВЕДЕНИЕ

В этой статье рассматривается постановка методики анализа остаточных растворителей в соответствии с USP <467> на базе автосамплера GERSTEL MPS 2. Модельный раствор для анализа – супензия ацетаминофена в детской дозировке – приобреталась в ближайшей аптеке. Затем в нее искусственно вносили ацетонитрил до уровня 2000 мкг/г (чем добивались пятикратного превышения предельно допустимого уровня содержания этого вещества).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование

Анализ проводили на газовом хроматографе Agilent 6890, оснащенном пламенно-ионизационным детектором, инжектором с программированием температуры испарения (CIS4, Gerstel), а также автосамплером MPS 2 с 2,5 мл шприцем для отбора паровой фазы.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Условия анализа

Парофазный пробоотборник	80 °C (образец) 90 °C (шприц)
CIS 4	деление потока, 140 °C
Колонка	30 м ZB-624 (Phenomenex®) x 0,32 мм x 1,8 мкм 30 м ZB-WAXPlus (Phenomenex®) x 0,32 мм x 0,25 мкм
Пневматика	He, P=10,0 psi, постоянный поток, 2,2 мл/мин
Термостат (программа)	40 °C (20 мин), 10 °C/мин 240 °C (20 мин) для ZB-624 50 °C (20 мин), 6 °C/мин 165 °C (20 мин) для ZB-WAXPlus
Детектор	ПИД, 250 °C

Подготовка стандартных образцов

Стандартный образец смеси остаточных растворителей USP Class 1 (#36279), Class 2 – смесь A (#36271) и Class 2 – смесь B (#36280) были приобретены в компании Restek. Эти стандартные образцы разбавляли в соответствии с процедурой, указанной в USP <467> (процедура A).

Пробоподготовка

В суспензию ацетаминофена детской дозировки, приобретенную в ближайшей аптеке, искусственно вносили ацетонитрил до уровня 2000 мкг/г. Разведения для парофазного анализа готовили в соответствии с процедурой A USP <467>.

Парофазный анализ

Образцы выдерживали (инкубировали) в 10 мл флаконах при температуре 80 °C в течение 60 мин. Затем 1 мл равновесной паровой фазы вводили в CIS 4 (140 °C) в режиме с делением потока с коэффициентом 2,5:1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описание анализа методом газовой хроматографии в фармстатье USP <467> дано в трех частях: процедуры A, B и C. Процедуры A и B используются для идентификации и полуколичественного анализа остаточных растворителей. Процедура C используется для количественного анализа. Каждая из процедур включает расчет критерия пригодности системы перед анализом образцов. Метод полностью валидирован, поэтому для проведения анализа достаточно только нескольких критериев.

Процедура A

Тестирование пригодности системы подразумевает анализ трех растворов: раствора контроля пригодности системы Class 1, стандартного раствора Class 1 и смеси A стандартного раствора Class 2. Операции по пробоподготовке этих растворов указаны в самом методе. Полученные в ходе анализа результаты должны удовлетворять следующим значениям:

1. Пик каждого соединения, обнаруживаемого на хроматограмме раствора контроля пригодности системы Class 1, должен иметь соотношение сигнал/шум не менее трех.
2. Пик 1,1,1-трихлорэтана, обнаруживаемый на хроматограмме стандартного раствора Class 1, должен давать соотношение сигнал/шум не менее пяти.
3. Разрешение между пиками ацетонитрила и метиленхлорида, обнаруживаемыми на хроматограмме стандартного раствора Class 2, должно составлять не менее одного.

На рисунке 1 представлена хроматограмма раствора контроля пригодности системы Class 1, полученная на колонке Zebron™ ZB-624.

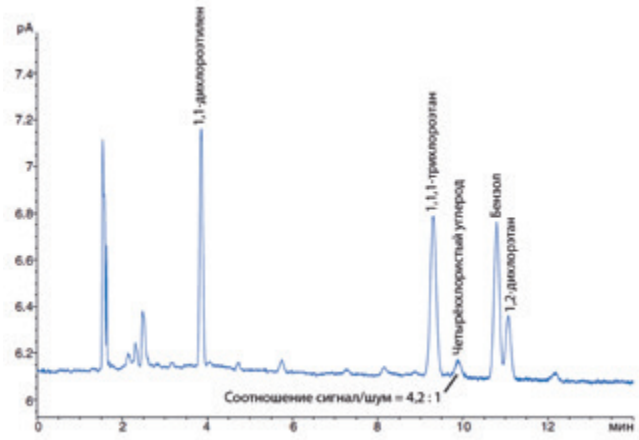


Рисунок 1. Хроматограмма раствора контроля стабильности системы на колонке Zebron™ ZB-624

На хроматограмме указано соотношение сигнал/шум для четыреххлористого углерода. Это самый маленький из пиков, а значение соотношения сигнал/шум составляет более трех.

На рисунке 2 представлена хроматограмма стандартного раствора Class 1, причем пик 1,1,1-трихлорэтана имеет соотношение сигнал/шум 14:1.

На рисунке 3 представлена хроматограмма смеси A стандартного раствора Class 2 на колонке Zebron™ ZB-624 с разрешением 1,7 для пиков ацетонитрила и метиленхлорида. Таким образом, система удовлетворяет критериям пригодности, что делает возможным

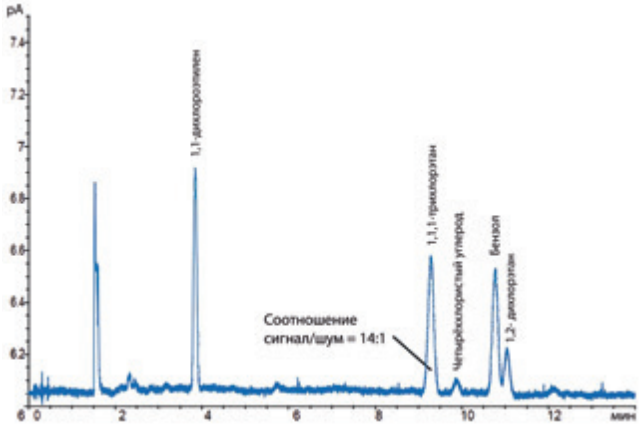


Рисунок 2. Хроматограмма стандартного раствора Class 1 на колонке Zebron ZB-624

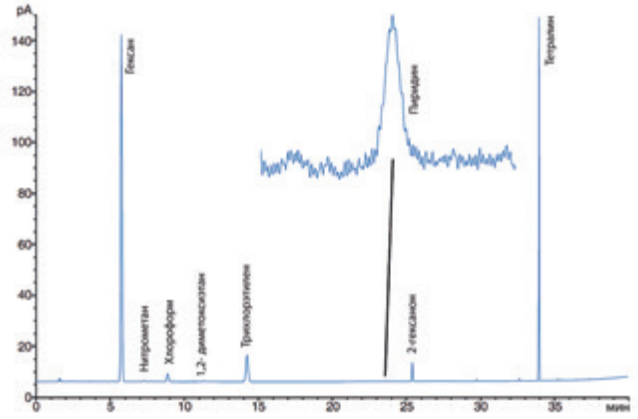


Рисунок 4. Хроматограмма смеси B стандартного раствора Class 2 на колонке Zebron™ ZB-624

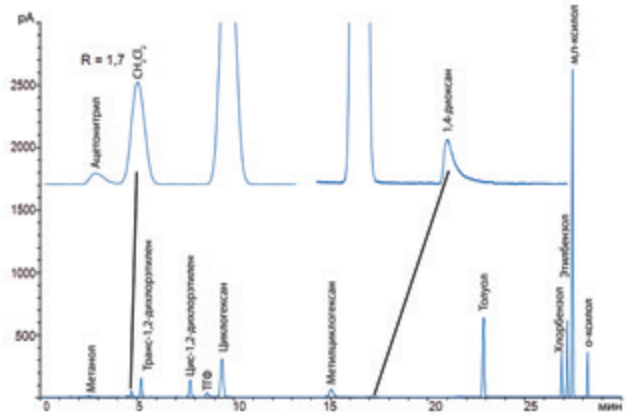


Рисунок 3. Хроматограмма смеси A стандартного раствора Class 2 на колонке Zebron™ ZB-624

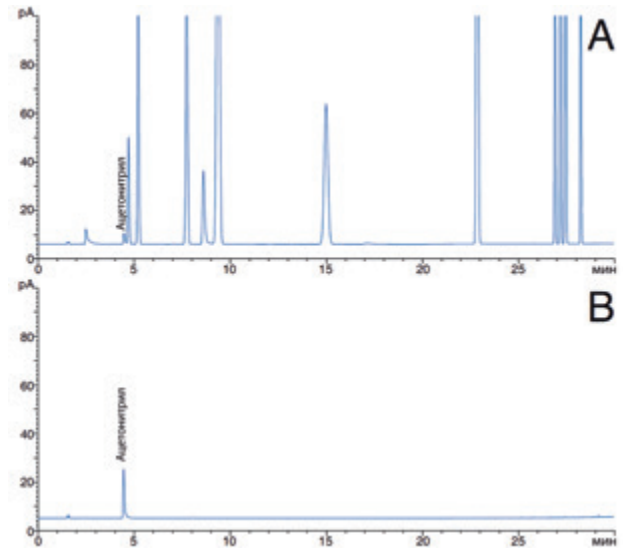


Рисунок 5. Наложение хроматограмм смеси A стандартного раствора Class 2 (A) и тестового раствора (B)

проведение дальнейшего анализа в соответствии с процедурой A.

В соответствии с процедурой A стандартный раствор Class 1, смеси A и B стандартных растворов Class 2, а также тестовый раствор анализируют при тех же условиях хроматографирования и парофазного анализа, при которыхпроводят тестирование пригодности системы. Любой пик в тестовом растворе, который имеет площадь, большую или равную соответствующему пику на любой из хроматограмм стандартных растворов, должен пройти верификацию в соответствии с процедурой B.

На рисунке 4 представлена хроматограмма смеси B стандартного раствора Class 2 на колонке Zebron™ ZB-624.

На рисунке 5 показано наложение хроматограмм смеси A стандартного раствора Class 2 и тестового раствора. В этом случае пик ацетонитрила больше, чем пик этого же соединения на хроматограмме смеси A стандартного раствора Class 2, что означает необходимость его верификации в соответствии с процедурой B. Измерения для всех указанных стандартных растворов проводили в трех повторностях, что не требуется по оригинальной методике. Результаты приведены в таблицах 1–3 соответственно. Диапазон точности определения составляет 0,65–15,7% со средним значением 4,7%.

Эти результаты показывают, что автосамплер MPS 2, сконфигурированный для парофазного анализа по методу USP <467>, соответствует требуемым критериям пригодности системы.

Процедура B

По процедуре B тестирование пригодности системы требует анализа трех растворов: стандартного раствора контроля пригодности системы Class 1, стандартного раствора Class 1, смеси A стандартного раствора Class 2 на колонке со специальной фазой WAX. В нашем эксперименте использовалась колонка Zebron™ ZB-WAXPlus, 30 м x 0,32 мм x 0,25 мкм. Этапы пробоподготовки описаны в методе [1]. Критерии, предъявляемые к результатам, следующие:

1. Пик каждого соединения, обнаруживаемого на хроматограмме раствора контроля пригодности системы Class 1, должен иметь соотношение сигнал/шум не менее трех.
2. Пик бензола, обнаруживаемый на хроматограмме стандартного раствора Class 1, должен давать соотношение сигнал/шум не менее пяти.
3. Разрешение между пиками ацетонитрила и цис-дихлорэтана, обнаруживаемыми на хроматограмме стандартного раствора Class 2, должно составлять не менее одного.

Согласно процедуре B стандартный раствор Class 1, смеси A и B стандартных растворов Class 2, а также тестовый раствор анализируют при тех же условиях хроматографирования и парофазного анализа, при которых проводят тестирование пригодности системы.

Таблица 1.

Данные точности измерений в трех повторностях для стандартного раствора Class 1

Соединение	Относительное стандартное отклонение, %
Бензол	2,61
CCl_4	3,34
1,2-дихлорэтан	5,15
1,1-дихлорэтан	0,69
1,1,1-трихлорэтан	0,65

Таблица 2.

Данные точности измерений в трех повторностях для смеси A стандартного раствора Class 2

Соединение	Относительное стандартное отклонение, %
Метанол	6,02
Ацетонитрил	15,7
CH_2Cl_2	3,81
Транс-1,2-дихлорэтилен	2,62
Цис-1,2-дихлорэтилен	3,17
ТГФ	6,26
Циклогексан	6,37
Метилциклогексан	6,23
1,4-диоксан	13,6
Толуол	2,67
Хлорбензол	3,52
Этиленбензол	2,86
м,п-ксилол	2,90
О-ксилол	3,14

Таблица 3.

Данные точности измерений в трех повторностях для смеси B стандартного раствора Class 2

Соединение	Относительное стандартное отклонение, %
Гексан	2,87
Нитрометан	10,8
Хлороформ	2,37
1,2-диметоксиэтан	3,61
Трихлорэтилен	1,23
Пиридин	6,47
2-гексанон	4,27
Тетралин	3,03

На рисунке 6 представлена хроматограмма стандартного раствора тестирования пригодности системы Class 1 на колонке WAXPlus. Самый маленький пик – это 1,2-дихлорэтан, соотношение сигнал/шум для него составляет 28, что означает соответствие первому критерию.

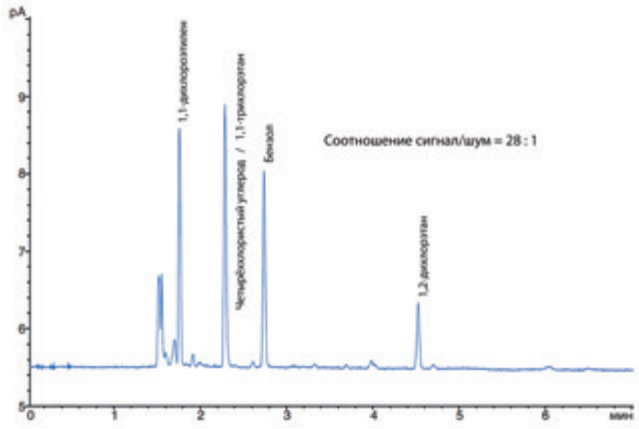


Рисунок 6. Хроматограмма стандартного раствора тестирования пригодности системы Class 1 на колонке Zebron™ ZB-WAXPlus

На рисунке 7 представлена хроматограмма стандартного раствора Class 1 на колонке с фазой WAX. Соотношение сигнал/шум для бензола составляет 90, что означает соответствие второму критерию.

На рисунке 8 представлена хроматограмма смеси A стандартного раствора Class 2 на колонке с фазой WAX. Разрешение между пиками ацетонитрила и цис-дихлорэтана составляет 2,7, что означает соответствие финальному критерию процедуры B.

Затем анализировали тестовый образец, а высоты обнаруженных пиков сопоставляли с пиками этих же соединений на хроматограммах стандартных

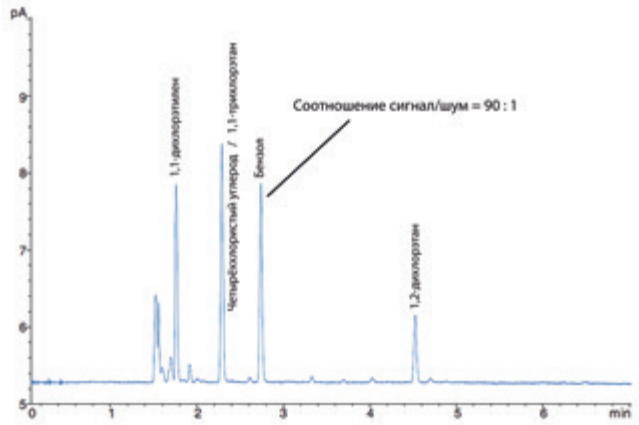


Рисунок 7. Хроматограмма стандартного раствора Class 1 на колонке Zebron™ ZB-WAXPlus

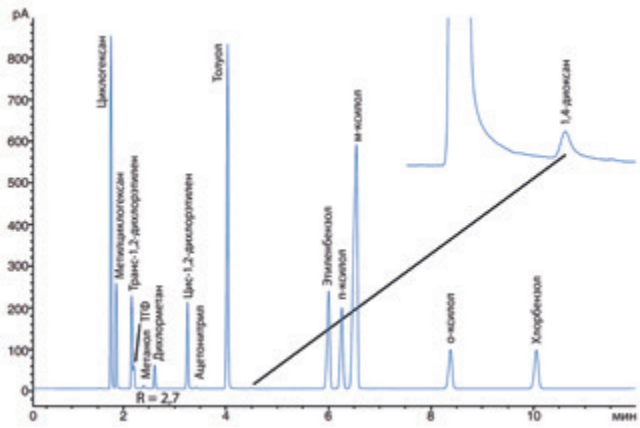


Рисунок 8. Хроматограмма смеси А стандартного раствора Class 2 на колонке Zebron™ ZB-WAXPlus

растворов. На рисунке 9 представлена хроматограмма смеси В стандартного раствора Class 2 на колонке WAX.

На рисунке 10 представлены наложенные хроматограммы тестового образца и смеси А стандартного образца Class 2. Пик ацетонитрила подтверждается, и он выше, чем пик этого соединения в стандартном об-

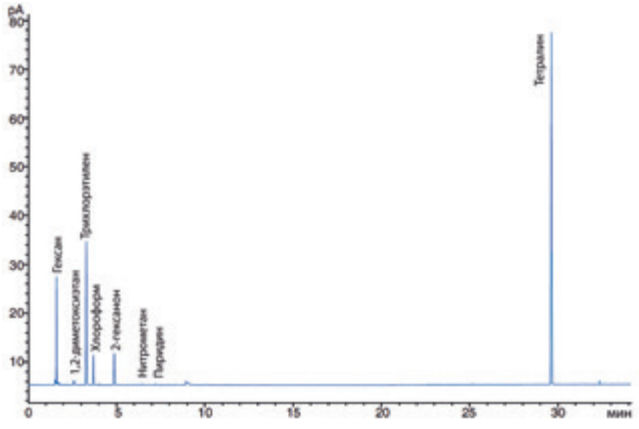


Рисунок 9. Хроматограмма смеси В стандартного раствора Class 2 на колонке Zebron™ ZB-WAXPlus

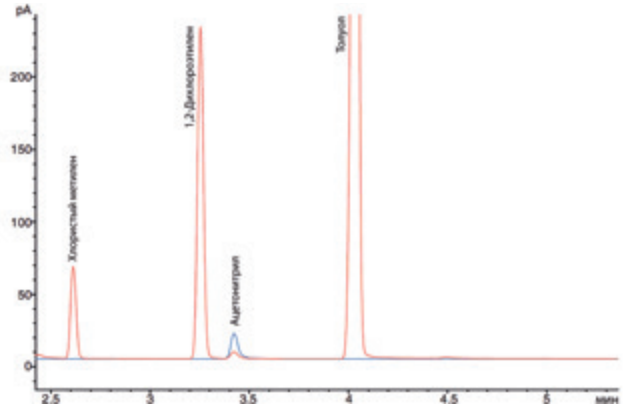


Рисунок 10. Наложение хроматограмм тестового образца (синяя) и смеси А стандартного образца Class 2 (красная)

разце. Таким образом, он должен быть определен количественно в соответствии с процедурой С.

Измерения для всех указанных стандартных растворов проводили в трех повторностях, что не требуется по оригинальной методике. Результаты приведены в таблицах 4–6 соответственно. Диапазон точности определения составляет 0,79–9,43% со средним значением 4,8%.

Таблица 4.

Данные точности измерений в трех повторностях для стандартного раствора Class 1

Соединение	Относительное стандартное отклонение, %
1,1-дихлорэтилен	5,00
1,1,1-трихлорэтан / CCl_4	5,36
Бензол	1,63
1,2-дихлорэтан	3,98

Процедура С

Для проведения анализа по процедуре С использовали колонку Zebron ZB-624 30 м x 0,32 мм x 1,8 мкм. Критерии пригодности системы были аналогичны таковым для процедуры А, поэтому дополнительное тестирование пригодности системы не проводилось. Тестовый раствор готовили в двух вариантах – с искусственно внесенными растворителями и без них. Методика подготовки указана в [1].

Концентрации остаточных растворителей, указанные в этой статье, рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Коцентрация (ppm)} = 5(C/W)[r_u/(r_{st} - r_u)],$$

где С – концентрация в мкг/мл указанного соединения в стандартном растворе; W – масса в граммах вещест-

ва, использовавшаяся для приготовления тестового раствора; r_u и r_{st} – отклики по пикам каждого из остаточных растворителей, обнаруженных как в тестовом растворе так и в растворе с искусственно внесенными растворителями соответственно. Измерения проводили в трех повторностях, что дало возможность вычислить среднее значение в 1770 ppm с СКО в 2,0%.

Таблица 5.

Данные точности измерений в трех повторностях для смеси A стандартного раствора Class 2

Соединение	Относительное стандартное отклонение, %
Циклогексан	1,49
Метилциклогексан	1,59
Транс-1,2-дихлорэтилен	4,79
Тетрагидрофуран	7,63
Метанол	6,13
Дихлорметан	6,40
Цис-1,2-дихлорэтилен	5,67
Ацетонитрил	9,43
Толуол	5,00
1,4-диоксан	4,70
Этилбензол	4,88
п-ксилол	8,38
м-ксилол	5,03
о-ксилол	5,53
Хлорбензол	5,93

Таблица 6.

Данные точности измерений в трех повторностях для смеси B стандартного раствора Class 2

Соединение	Относительное стандартное отклонение, %
Гексан	0,79
1,2-диметоксиэтан	9,28
Трихлорэтилен	1,76
Хлороформ	2,39
2-гексанон	5,25
Нитрометан	3,89
Пиридин	5,27
Тетралин	1,38

Несмотря на то что самим методом это не предусмотрено, была построена калибровочная кривая для ацетонитрила. Она представлена на рисунке 11 в виде графика, построенного по семи точкам в диапазоне концентраций 0–500 ppm. Коэффициент линейной регрессии составляет r^2=0,9998.

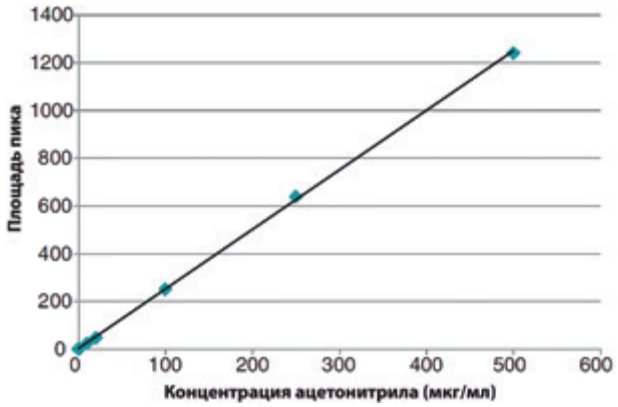


Рисунок 11. Калибровка для ацетонитрила

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные руководства USP регламентируют использование шприцевых автосамплеров для проведения процедур по методу USP <467>. В этой статье показано, что при использовании системы GERSTEL MPS 2 для анализа остаточных растворителей достигаются приемлемые уровни точности, линейности и воспроизводимости.

Программное обеспечение GERSTEL MAESTRO в режиме PrepAhead использовалось для управления автосамплером. В этом режиме образцы подвергаются нагреву (инкубации) в процессе анализа предыдущего образца, что позволяет избежать простоя газового хроматографа в ожидании следующего вкола, достигая наибольшей производительности анализа. Параметры этого метода могут быть заданы и со встроенной клавиатуры. Кроме этого, конфигурация автосамплера MPS 2 может быть с легкостью изменена для ввода жидких проб, жидких проб большого объема, динамического парофазного анализа, твердофазной микроэкстракции или процедур пробоподготовки, необходимых в лаборатории.

ЛИТЕРАТУРА

1. <467>. Residual Solvents / The United States Pharmacopeia Convention. – Rockville. 2007.
2. USP 32 NF27. General Chapter. <467>. Residual Solvents, Table 5 / The United States Pharmacopeial Convention. – Rockville. 2008.

РЕАКТОРЫ-АВТОКЛАВЫ BUCHIGLASUSTER – УНИКАЛЬНОЕ РЕШЕНИЕ ДЛЯ СИНТЕЗА СУБСТАНЦИЙ ПОД ДАВЛЕНИЕМ

АВТОР

О.В. Новожилов,

главный технолог
ООО «Фармконтракт Инжиниринг и Технологии», к.х.н.

ВВЕДЕНИЕ

Гидрирование или гидрогенизация – химическая реакция присоединения водорода к непредельным органическим соединениям. Гидрирование применяется в органической химии, полимерном и нефтехимическом синтезе, а также в пищевой промышленности.

В фармацевтической химии процессы, включающие реакцию гидрирования, используются при получении витаминов, интермедиатов, эфедрина [1–3] и целого ряда других препаратов.

ГИДРИРОВАНИЕ И ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Поскольку процессы гидрирования связаны с необходимостью применения газообразного водорода, очевидна необходимость использования для их реализации закрытых систем, способных выдерживать избыточное давление (обычно в пределах 50 бар, иногда выше).

Аппаратурное оформления процессов гидрирования, как правило, сводится к двум подходам. Первый из них состоит в проведении процесса в непрерывном режиме с использованием проточных реакторов. Примером таких систем могут служить реакторы производства Thales Nano серии H-Cube (рисунок 1), обеспечивающие одновременную подачу раствора реагентов и генерируемого водорода в картридж, заполненный катализатором. Второй подход основан на использовании реакторов периодического действия, в которых водород и жидкие продукты, а также катализатор загружаются в реакционный сосуд, где при повышенном давлении, нагревании и интенсивном перемешивании происходит реакция.

Гидрирование в проточных реакторах имеет ряд преимуществ. В частности, проточный режим обеспечивает безопасность в эксплуатации за счёт маленького объёма рабочей зоны и отсутствия сосудов, содержащих большое количество водорода (в реакторах может присутствовать встроенная ячейка для генерирования водорода). Кроме того, многие процессы в проточных реакторах протекают существенно быстрее и дают лучший выход конечного продукта, чем при реализации их в аппаратах ёмкостного типа. Наконец, такой подход предопределяет лёгкость выделения конечного продукта после окончания процесса: зачастую процедура очистки сводится к удалению растворителя под вакуумом, что экономит средства на оборудование и сокращает время процесса.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Рисунок 1. Проточный реактор для непрерывного гидрирования Thales Nano H-Cube Pro

Тем не менее для многих случаев предпочтительным является применение аппаратов периодического действия, преимущества которых также неоспоримы. Так, возможности контроля параметров и моделирования режимов в ёмкостном аппарате, очевидно, более широки, чем в случае проточного реактора. Возможность поддержания необходимого значения температуры и давления с высокой точностью, контроль интенсивности перемешивания, а также возможность периодического отбора проб по ходу процесса для анализа механизма реакции и её кинетики гораздо легче достижимы именно при данном подходе.

Другим важным преимуществом является более высокая селективность некоторых процессов при их протекании в аппарате с мешалкой. Такой результат обусловлен возможностью создания более «мягких» условий реакции, позволяющих жертвовать скоростью для подавления побочных процессов, что затруднительно для проточного реактора, где время контакта обычно исчисляется несколькими секундами или минутами.

В целом к настоящему моменту оба подхода широко представлены в фармацевтический химии и ни один из них нельзя назвать универсальным.

АППАРАТЫ BUCHIGLASUSTER ДЛЯ ГИДРИРОВАНИЯ В ПЕРИОДИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ. КОМПЛЕКТАЦИЯ И ОСОБЕННОСТИ

Безопасность превыше всего

Очевидно, что работа с взрывоопасными газами вообще и с водородом в частности предъявляет ряд жёстких требований к конструкции аппарата, в котором проводится процесс. Эти требования касаются в первую очередь тех элементов конструкции, которые непосредственно контактируют с газом.

Конструкция узлов, обеспечивающих перемешивание, а также датчиков, нагревательных элементов и движущихся частей запорной арматуры должна обеспечивать отсутствие локальных перегревов и возможности возникновения искры.

Все соединения должны обеспечивать герметичность при работе как при избыточном давлении (чтобы избежать попадания водорода в рабочее помещение), так и под вакуумом (чтобы избежать проникновения кислорода воздуха в реакционный сосуд).

Кроме того, реактор, в котором проводится процесс, должен иметь систему безопасности, способную предотвратить разрушение сосуда или других элементов конструкции в случае превышения давления (например, вследствие ошибки оператора).

Компания BuchiGlasUster, на протяжении нескольких десятилетий специализирующаяся на создании аппаратов для гидрирования, применяет решения, отвечающие всем современным требованиям безопасности для данного процесса.

В частности, применяются магнитные уплотнения вала bmd на подшипниках скольжения из PTFE, исключающие контакт металл-металл при вращении и обеспечивающие полную герметичность внутреннего пространства автоклава (рисунок 2).

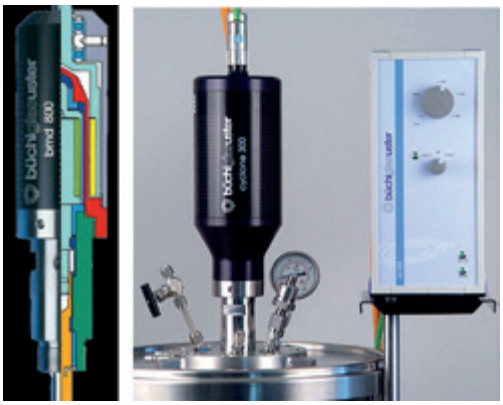


Рисунок 2. Привод с интегрированным магнитным уплотнением Cyclone 300

Используемые в реакторах-автоклавах BuchiGlasUster датчики и элементы запорной арматуры крепятся к сосуду и крышке при помощи резьбовых соединений и фитингов Swagelok, признанных наиболее качественными и надёжными из имеющихся на современном рынке соединений компрессионного типа.

Разрывные мембраны, включённые в комплект каждого автоклава, обеспечивают гарантированное контролируемое разрушение в случае превышения давления в сосуде, что даёт пользователю уверенность в своей безопасности при нахождении вблизи установки в момент её работы.

Точный контроль параметров процесса – залог успешного синтеза

Обеспечение точного контроля за ключевыми параметрами, такими как температура процесса, скорость вращения мешалки, а также расход реагентов и подаваемого водорода, является ключевым условием успешного проведения процесса как в масштабе R&D-лаборатории, так и на производстве. Стремясь подобрать оптимальное соотношение цены и качества, инженеры Buchi могут предложить

заказчику одно из следующих решений, ориентированных на процессы различной сложности и имеющих существенную разницу в стоимости.

Базовая комплектация

Простейшим решением, способным обеспечить контроль за подачей водорода в сосуд с одновременным регулированием давления, является комбинация регулятора давления и массового расходомера газа (рисунок 3). Такой подход позволяет, с одной стороны, поддерживать постоянное давление в сосуде за счёт непрерывной подачи газообразного водорода, а с другой – постоянно следить за расходом газа и общим его количеством, вступившим в реакцию.

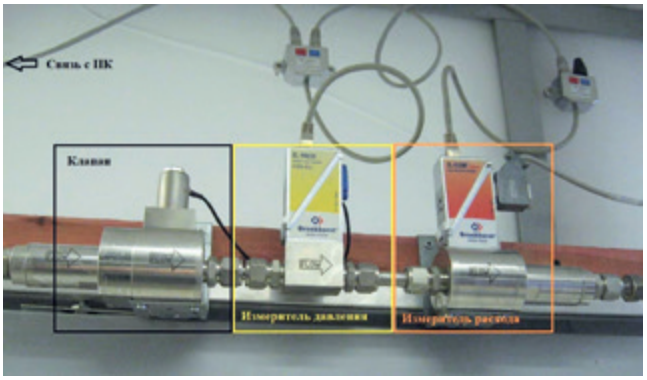


Рисунок 3. Комбинация регулятора давления (измеритель и электромагнитный клапан) и расходомера водорода

В этом случае оба параметра могут отображаться и регистрироваться на ПК оператора при помощи специального ПО.

Следует отметить, что при данном подходе такие параметры процесса, как температура и скорость вращения мешалки, а также режим дозирования жидких реагентов, управляются с использованием контроллеров или через ПК с помощью отдельного программного обеспечения.

Автоматизация с использованием универсального контроллера дозирования газов Buchi bpc 2

Для случаев, когда важно оценить конверсию водорода, анализируя при этом кинетику процесса, целесообразно применять более сложную систему, разработанную инженерами BuchiGlasUster и имеющую название bpc 2 (рисунок 4).

Комплекс bpc 2, помимо расходомера и регулятора давления, включает в себя многофункциональный контроллер с сенсорным дисплеем, благодаря которому можно не только регулировать давление и расход подаваемого в реактор водорода, но и рассчитывать конверсию водорода через объём (мл) или количество вещества (моль) в режиме реального времени. Параллельно на дисплее контроллера (или на ПК оператора) можно наблюдать графики, иллюстрирующие кинетику реакции. Использование профессионального программного обеспечения Buchi bls 2 (Buchi log&see) позволяет сохранить данную информацию в памяти ПК в виде отчётов, которые пользователь имеет возможность просматривать после завершения процесса для анализа протекания его и влияния на него различных факторов. Помимо двух рассматриваемых параметров, bls 2 может быть использован для управления скоростью вращения мешалки, а также температурой процесса при использовании электронагревающего кожуха Buchi (рисунок 5).

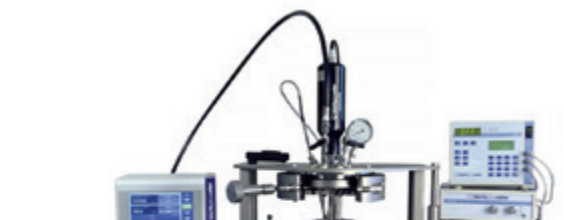


Рисунок 4. Реактор-автоклав Limbo ls с системой дозирования водорода bpc2. Позволяет проводить процесс гидрирования при давлении до 400 бар

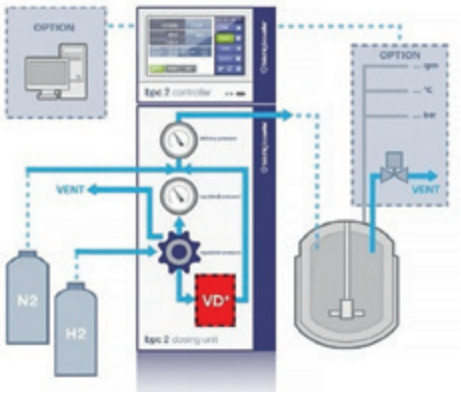


Рисунок 5. Управление параметрами процесса при помощи комплекса bpc 2

Использование второго контура дозирования газа (как правило, азота), а также электромагнитного клапана сброса давления позволяет регулировать давление вне зависимости от расхода подаваемого в реактор водорода, что дополнительно расширяет функциональное возможности комплекса.

Применение данного подхода позволяет решить большинство задач, связанных с отработкой процесса гидрирования при самых разнообразных режимах в диапазоне объёмов от 0,1 до 300 и более литров при дозировании водорода с расходом от 0 до 225 нл/мин.

FlexyClave. Комплекс для проведения процесса гидрирования в полностью автоматическом режиме

Тем не менее в некоторых случаях, в первую очередь связанных с отработкой и анализом технически сложного процесса, а также при необходимости наработки партий с продуктом, заданным менее в максимально автоматизировать процесс. Выполнение процесса по заранее заданной и проверенной в режиме «холодного запуска» пошаговой программе позволяет избежать влияния человеческого фактора, а также делает возможным одновременный контроль за всеми параметрами процесса, включая дозирование жидких реагентов.

Высокотехнологичная система FlexyClave, разработанная инженерами Buchi в сотрудничестве со специалистами по автоматизации химических процессов компании Systag (рисунок 6), является наиболее совершенным на данный момент инструментом для проведения процессов гидрирования, позволяющим решать без преувеличения любые задачи в данном направлении.

Рисунок 6. Автоматизированный комплекс FlexyClave на базе реактора-автоклава Buchi EcoClave со стеклянным сосудом

Управление процессом в данном случае осуществляется через единое специализированное программное обеспечение FlexySys, разработанное Systag специально для химиков, работающих в R&D. Интерфейс программы отвечает современным требованиям HMI (Human Machine Interface) и отличается визуальной понятностью для пользователя (рисунок 7).

Функционал позволяет осуществлять индикацию, контроль и регистрацию таких параметров, как скорость вращения мешалки, температура в реакторе и рубашке (при использовании термостата), давление в системе, расходы всех подаваемых в реактор газов, а также управлять дозированием жидких реагентов и растворителей в волюметрическом или гравиметрическом (дозирование по показаниям весов) режиме.

Рисунок 7. Пользовательский интерфейс FlexySys. Визуализированное изображение реактора обеспечивает интуитивно понятное управление для удобства пользователя

Динамика изменений всех параметров процесса при этом сводится в отчёты, хранящиеся в памяти ПК в табличной и графической формах.

Встроенные инструменты программы не только дают пользователю широчайшие возможности для исследования кинетики протекания реакции гидрирования, но и делают максимально удобным анализ влияния различных факторов на её ход за счёт функции наложения графиков отдельных параметров друг на друга и точного количественного измерения всех показателей.

Кроме того, однажды выполненная программа реакции навсегда сохраняется в памяти компьютера, что позволяет в любой момент воспроизвести удачный опыт, получив практически гарантированный результат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокое качество исполнения реакторов-автоклавов BuchiGlasUster в сочетании с применением новейших технологий обеспечивает пользователю максимальные возможности при проведении процессов гидрирования. Продуманная конструкция и надёжные системы безопасности делают работу с водородом максимально безопасной, а гибкий подход к использованию автоматизированных систем управления позволяет подобрать адекватное решение для любой задачи.

ЛИТЕРАТУРА

1. W. Bonrath, J. Medlock, J. Schütz, B. Wüstenberg and T. Netscher. Hydrogenation in the Vitamins and Fine Chemicals Industry – An Overview, Hydrogenation / InTech. 2012. DOI: 10.5772/48751.
2. J.G. Van Alsten, M.L. Jorgensen and D.J. am Ende. Engineering Technologies Laboratory // Org. Process Res. Dev. 2009. № 13 (3). P. 629–633.
3. W.H. Jones. Platinum and Palladium in the Pharmaceutical Industry // Platinum Metals Rev. 1958. № 2(31). P. 86–89.

НОВЫЙ, СОВРЕМЕННЫЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ R&D ЦЕНТР КОМПАНИИ F.P.S.

АВТОР

Д.В. Ткач,

инженер-технолог
ООО «Фармконтракт Инжиниринг и Технологии»

ВВЕДЕНИЕ

Компания F.P.S. s.r.l. (Италия) – один из мировых лидеров в области разработки и изготовления систем микронизации и барьерных технологий (для стерильных или высокотоксичных АФИ) в фармацевтике и промышленности высокочистых химических реактивов.

В рамках расширения и модернизации производственных мощностей в городе Fiorenzuola d'Arda (Италия) компания F.P.S. выделила и оборудовала специальную зону для нового испытательного R&D центра. Три помещения класса чистоты ISO8 позволят компании в лабораторных и производственных масштабах проводить технические испытания процессов микронизации малой и средней продолжительности.

R&D ЦЕНТР

Центр оснащен самым современным оборудованием и измерительными приборами для обеспечения защиты оператора и продукта при проверке эффективности и оптимизации процесса микронизации. Возможно создание специальных конфигураций оборудования для решения конкретных узких задач по микронизации благодаря наличию широкого спектра систем измельчения различного типа:

- Спиральные струйные мельницы.
- Мельницы петлевого типа QMills.
- Роторно-штифтовые мельницы (Pin mills).
- Молотковые мельницы.

В центре имеется возможность проведения технологических процедур и операций, сопутствующих процессам измельчения и микронизации:

- Деагломерация.
- Совместная микронизация.
- Просеивание.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

- Смешивание.
- Проведение основных и сопутствующих технологических операций в криогенных условиях.
- Анализ распределения частиц.

С июня 2016 в испытательном центре будет доступен изолятор для проведения технических испытаний на ВАФИ с использованием как R&D, так и лабораторных струйных мельниц (вплоть до 6-и дюймовых машин PilotMill-6), а также роторно-штифтовых мельниц Pin Mill-100. Изолятор будет укомплектован весовым дозатором и системой управления на базе встроенного ПЛК. Данный изолятор был представлен компанией FPS на выставках Pharmintech (13–15 апреля, Болонья, Италия) и Powtech (19–21 апреля, Нюрнберг, Германия).

ИЗОЛЯТОР ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ ПРОЦЕССОВ МИКРОНИЗАЦИИ ВАФИ

Изолятор состоит из 2-х камер:

– вспомогательной, с внутренней блокировкой двери, для отбора навесок обрабатываемого материала и подготовки оборудования, вовлеченного в технологический процесс для предотвращения кросс-контаминации;

– рабочей, конструкция которой гарантирует эффективный барьер между технологической зоной и окружающей средой.

Конструкция рабочей камеры изолятора спроектирована таким образом, чтобы обеспечить комфортное для работы размещение оборудования для микронизации и гарантировать полный доступ оператора ко всем конструктивным элементам. Наклонная фронтальная поверхность изолятора имеет большую площадь остекления, что обеспечивает максимальное удобство и полный визуальный контроль проводимых процессов. На фронтальной рабочей поверхности смонтировано достаточное количество круглых перчаточных портов с двойным фланцем для безопасной замены перчаток. Система вентиляции, оборудованная вентиляторами с инверторами и дифференциальными датчиками давления, а также система фильтрации входящего/отходящего воздуха поддерживают постоянный отрицательный перепад давления между окружающей средой и внутренним пространством изолятора для обеспечения безопасности оператора и отсутствия кросс-контаминации. Безопасный ввод продукта для микронизации, а также вспомогательных приборов и материалов осуществляется через боковой порт «Bag-in/Bag-out», а выгрузка измельченного продукта и удаление отходов – через систему непрерывной упаковки в полиэтиленовый рукав в донной части вспомогательной камеры.

Кроме того, существует возможность аренды оборудования с целью проведения испытаний на территории заказчика. Вся необходимая техническая поддержка при этом обеспечивается опытными техническими специалистами FPS.

FPS
FOOD PHARMA SYSTEMS

ВЛИЯНИЕ СКОРОСТИ И УГЛА КАЧЕНИЯ НА РОСТ Т-КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В СИСТЕМЕ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК XURI™

Материал предоставлен компанией GE Healthcare

АННОТАЦИЯ

Для успешного проведения адоптивной иммунотерапии особо важное значение имеет обеспечение максимальной производительности культивирования Т-клеток. Система для культивирования клеток Xuri™ от компании GE Healthcare является важным компонентом процесса культивирования клеток для клинических исследований, поэтому компания GE Healthcare была заинтересована в проведении исследования влияния темпа и угла качения на рост Т-клеток. На основании экспериментально полученных данных и моделирования с прогнозированием было обнаружено, что на потенциал роста Т-клеток значительное влияние оказывает темп качения, в то время как угол качения оказывает минимальное воздействие. Результаты показали, что при использовании системы Xuri™ максимальный клеточный рост обеспечивается при темпе качения 15 качений/мин при угле 6°.

ВВЕДЕНИЕ

Быстрый и воспроизводимый рост высокоспециализированных Т-клеток от малого количества клеток-предшественников до клинически значимых объемов имеет принципиальное значение для успешности метода аутологической клеточной терапии. Система роста клеток Xuri™ обеспечивает получение плотности клеток свыше 10×106/мл при использовании одноразовых биореакторов с перфузией сред и качающейся платформой. Получение высокой плотности клеток в замкнутых условиях позволяет выращивать терапевтические дозы в одной изолированной емкости, минимизируя риск загрязнения образца пациента и позволяя выращивать культуры в небольших объемах, следовательно, экономя на расходе сред и используемой площади. Необходимые для эффективного перемешивания газа и среды качающие движения настраиваются изменением темпа и угла качания платформы. Т-клетки выращивались в культуральном объеме 1 л при стандартных предварительно установленных параметрах: 10 качений в минуту и угле наклона 6°. Целью исследования являлось определение характера влияния каждого из данных параметров на итоговую плотность клеток для дальнейшего определения оптимальных настроек, обеспечивающих максимальный клеточный рост.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

МЕТОДЫ

Активация Т-клеток при статическом культивировании

Замороженные мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) были размороженны, дважды промыты и культивированы в колбах T225 концентрацией 1×10^6 клеток на 1 мл в среде X-VIVO™ 10 (Lonza) с добавлением 5% термоинактивированной сыворотки человека (PAA), 2 мМ GlutaMAX™ (Life Technologies), 1% пенициллин-стрептомицина (Life Technologies) и 20 нг/мл IL-2 (Peprotech). В культуру были добавлены гранулы усиления роста Т-клеток CD3/CD28 (Life Technologies) в соотношении 3:1 гранул:$CD3^+$ Т-клеток. После 3-х дней подсчитывалось количество клеток, которое потом поддерживалось на уровне $0,5\times10^6$ клеток на 1 мл путем добавления среды в течение следующих 2-х дней.

Рост Т-клеток в мешках для культивирования Cellbag™

После 5-ти дней статического культивирования Т-клетки переместили в мешок для культивирования Cellbag™, а затем культивировали в системе Xuri™ W5 или W25 в течение следующих 9-ти дней. Концентрация клеток поддерживалась на уровне $0,5 \times 10^6$ клеток на 1 мл путем добавления среды в Cellbag™ до получения итогового объема 1000 мл (как правило в течение 24 ч), после чего проводилась перфузия. Скорость перфузии настраивалась для поддержания уровня концентрации аммония не выше 2,0 ммоль/л, а уровня лактата менее 25 ммоль/л. Использовались комбинации темпа – 2, 10 и 18 качений в минуту, и угла качения – 2°, 6° и 9°, кроме сочетания 2 качения/мин и 2°. Ежедневно проводился контроль роста клеточных культур и анализ выживаемости клеток (рисунок 1).

Анализ

Для статистического и прогнозного анализа использовалось программное обеспечение JMP IN™ (SAS Institute).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При стандартных настройках 10 качений в минуту и угле 6° плотность Т-клеточных культур достигала воспроизводимых значений $15–20\times10^6$/мл (n=5). При снижении темпа качения до 2 качений в минуту, рост клеток становился ниже вне зависимости от задаваемого угла качения. И наоборот, при более высоких темпах качения (до 18 качений в минуту) плотность клеток достигала значений свыше 1×10^7 при любых углах качения (рисунок 1). Эти данные указывают на то, что темп, а не угол качения, влияют на рост Т-клеток.

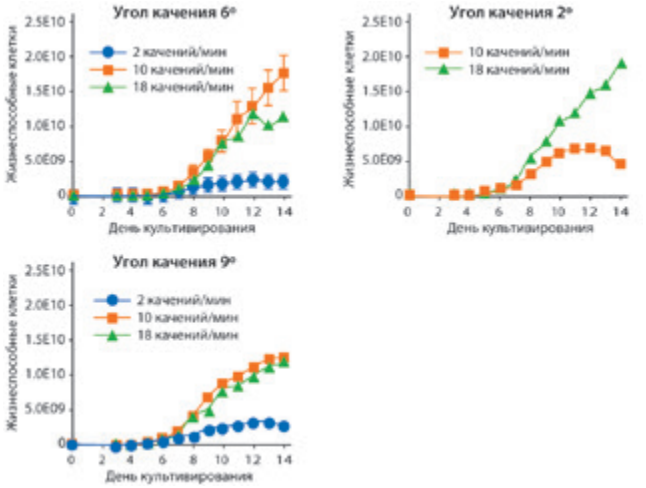


Рисунок 1. Кинетика роста Т-клеточных культур при различных темпах и углах качения. Клетки статически культивировались в течение 5-ти дней перед переносом в систему Xuri™ W5. Границы погрешности, характеризуемыми среднеквадратическим отклонением средних величин, показаны для угла качения 6° (n=3 для 2 качений в минуту, n=5 для 10 качений в минуту. Для других условий n=1)

Далее сравнивался культуральный рост при скорости качения 10 и 18 качений в минуту (рисунок 1). Согласно представленным данным при угле качения 2° и темпе качения 18 качений в минуту обеспечивается самый интенсивный клеточный рост. Однако эти экспериментальные данные не воспроизводились при углах качения 6° и 9°. При угле качения 6° самый интенсивный клеточный рост наблюдался при темпе качения 10 качений/мин, а при угле качения 9° клеточный рост был идентичным для обоих темпов качения. Поэтому на основании этих данных нельзя было определить темп качения для максимального роста Т-клеток.

Статистический анализ и прогнозирование

Чтобы решить данную проблему, было решено использовать моделирование с прогнозированием для анализа результатов экспериментальных исследований и установить математическую зависимость между клеточным ростом, темпом и углом качения. Рост клеток определялся суммированием суточных значений темпов роста с 6-го по 14-го день культивирования (уровень роста клеток). Последующий двумерный регрессионый анализ проведенный методом наименьших квадратов подтвердил зависимость уровня роста клеток от угла и скорости качения. Для этого была получена следующая линейная функция передачи:

$$FE = K + \beta_1 R + \beta_2 A + \beta_3 R^2 + \beta_4 A^2,$$

где FE – это уровень роста клеток, R – скорость качения, A – угол качения, $\beta_{(1-4)}$ – коэффициенты, а K – константа. Подбор коэффициентов и статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения JMP IN™.

На рисунке 2 показано сравнение значений экспериментального и прогнозируемого уровня роста клеток для каждой культуры и графика передаточной функции. Значение вероятности 0,01 показывает, что корреляция между экспериментальными и прогнозируемыми значениями существенна, а передаточная функция подтверждает результат эксперимента.

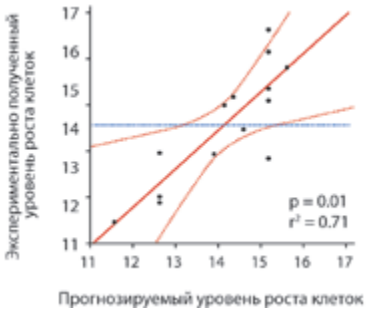


Рисунок 2. Сравнение прогнозируемой модели и экспериментально полученных данных для установления значения уровня роста клеток. На графике показаны экспериментально полученные данные (черные точки), передаточная функция (красная линия), 95% доверительный интервал (красная пунктирная линия) и средние значения уровеня роста клеток (синяя пунктирная линия)

Определив передаточную функцию, соответствующую полученным экспериментальным данным, мы проанализировали влияние угла и скорости качения на рост клеток (рисунок 3). Явно выраженный наклон кривой воздействия скорости качения показывает, что уровень роста клеток сильно зависит от скорости качения (p=0,002). И наоборот, практически горизонтальное расположение кривой воздействия угла качения говорит о том, что нет значительной зависимости между углом качения и уровня роста клеток (p=0,6). Таким образом, в системе для культивирования клеток Xuri™ темп качения определяет величину роста Т-клеточных культур.

Далее для прогнозирования оптимального темпа и угла качения для максимального роста Т-клеток использовалась передаточная функция (рисунок 4). Путем изменения скорости качения в передаточной функции рассчитали, что максимальный уровень роста будет достигнут при 15 качений/мин. Аналогично путем изменения угла качения определили, что кратность роста будет максимальной приблизительно при 5,7° (6°).

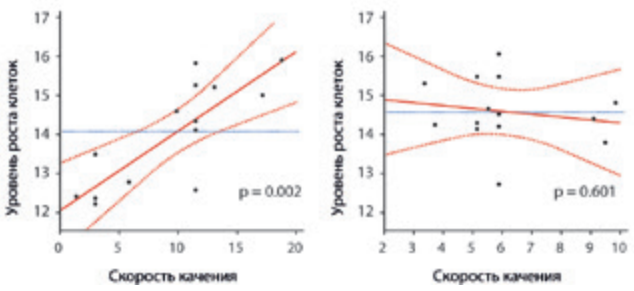


Рисунок 3. Кривые воздействия скорости и угла качения показывают значительную роль скорости качения в динамике роста при минимальном влиянии угла качения. На графике показаны экспериментально полученные данные (черные точки), передаточная функция (красная линия), 95% доверительная область (красная пунктирная линия) и средние значения уровня роста клеток (синяя пунктирная линия)

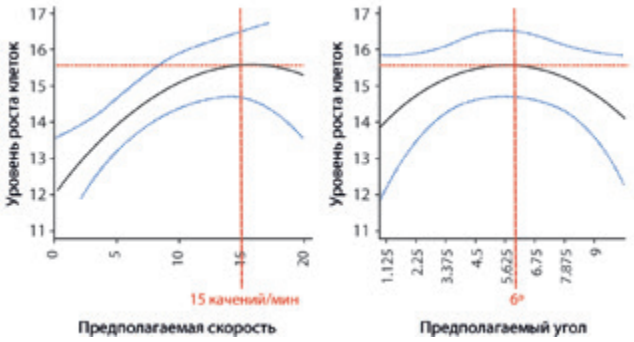


Рисунок 4. Предполагаемые кривые скорости и угла качения, которые отражают максимальный рост Т-клеток. На графике показаны передаточная функция (черная линия), 95% доверительная область (синяя пунктирная линия) и максимумы уровня роста клеток (красная пунктирная линия)

Влияние темпа качения на DO (концентрация растворенного кислорода)

Для исследования влияния скорости качения 15 качений/мин на концентрацию растворенного кислорода в культуре объемом 1 л после стандартного статического 5-ти дневного культивирования Т-клеточная культура была распределена в два мешка для культивирования Cellbag™ со встроенными оптическими датчиками DO. Затем мешки поместили в две отдельные системы Xuri™ W25. Одна система была настроена на скорость качения в 10 качений в минуту, а другая – 15 качений/мин. Обе системы были настроены на угол качения в 6° при постоянном мониторинге концентрации растворенного кислорода в течение всего периода культивирования (рисунок 5). В культуре, выращенной при 15 качений/мин, уровень концентрации DO был выше по сравнению с культурой, выращенной при 10 качений/мин, особенно с 8-го по 12-й день. Действительно, концентрация DO в культуре при 15 качений/мин не опускалась ниже 60%, тогда как концентрация DO в той же культуре при 10 каче-

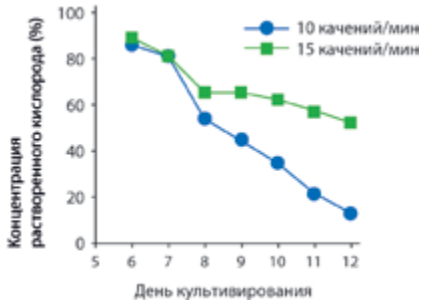


Рисунок 5. Уровень растворенного кислорода в 1 л Т-клеточных культур при скорости качения 10 и 15 качений в минуту

ний/мин упала до 20%. Следовательно, высокая скорость качения значительно увеличивает количество кислорода, доступного для Т – клеток.

Влияние DO на клеточный рост

Чтобы определить, связано ли увеличение концентрации растворенного кислорода с увеличением роста Т-клеток была проведена серия экспериментов с параллельным культивированием и последующим сравнением динамики роста Т-клеток, культивированных при темпах качения 10 и 15 качений в минуту с 5-го по 7-й день после начального статического культивирования (рисунок 6). Два из трех экспериментов показали, что при скорости качения 15 качений/мин возросло количество жизнеспособных клеток. В первом эксперименте количество жизнеспособных клеток возросло на 24% (итоговые показатели регистрировались у 10-ти дневной культуры), а во втором эксперименте – на 42% (итоговые показатели регистрировались у 12-ти дневной культуры). Третий эксперимент показал аналогичный уровень клеточнго роста в параллельных культурах. В совокупности эти результаты демонстрируют, что при увеличении скорости качения с 10 до 15 качений в минуту обеспечивается небольшое преимущество для роста Т-клеточных культур.

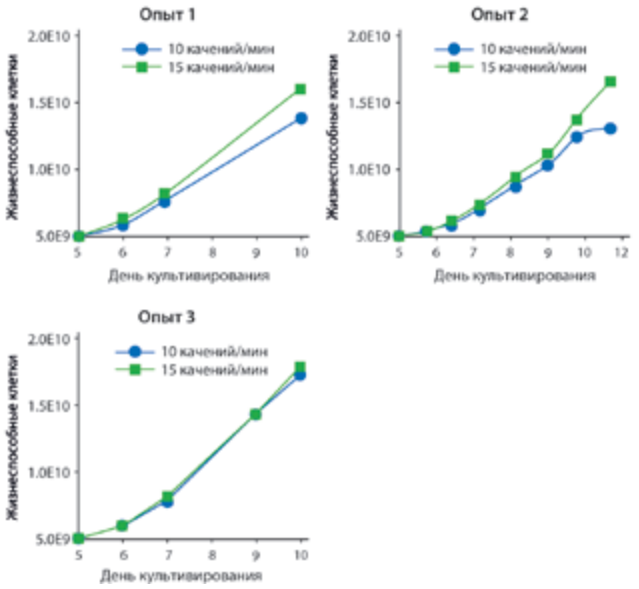


Рисунок 6. Кинетика роста Т-клеточных культур, перемешиваемых со скоростью от 10 до 15 качений в минуту при постоянном угле качения 6°. Показаны три независимых эксперимента. В каждом эксперименте первоначально использовалось статическое культивирование, при котором клетки росли в течение 5-ти дней перед переносом в мешки для культивирования Cellbag™. Культивирование продолжалось 10–12 дней

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что скорость роста Т-клеточных культур незначительно увеличилась при оптимизированных условиях качения, общее воздействие на весь технологический процесс производства и обработку первичных культур аутологичных клеток пациента может быть значительным. Оптимизация скорости и угла качения позволяет не только получить больший объем Т-клеток, но и повысить надежность процесса культивирования. Путем использования данных параметров качения и других оптимизированных условий в процесс культивирования, можно разработать надежный метод культивирования, подходящий для масштабирования. Так как Т-клеточная иммунотерапия находится на этапе развития от экспериментальной процедуры до применяемого в медицинской практике метода, оптимизация и стандартизация процесса играют первостепенную роль.

GE Healthcare

BINDER
Best conditions for your success

WELEDA ИСПЫТЫВАЕТ СРЕДСТВА АНТРОПОСОФСКОЙ МЕДИЦИНЫ СОГЛАСНО СТАНДАРТАМ ICH

Материал предоставлен компанией BINDER

ВВЕДЕНИЕ

Работа глобального производителя натуральной косметики и средств антропософской медицины компании Weleda основана на духовной философии Рудольфа Штайнера и имеет своей целью слияние человечества и природы в гармонии. Компания была основана в 1921 году в Арлесхайме (Швейцария), в последующие годы были открыты дополнительные филиалы в городе Юнинг (Франция) и городе Швебиш-Гмюнд (Германия). На этих объектах около тысячи видов природного сырья перерабатываются в 120 натуральных косметических продуктов и несколько тысяч лекарственных препаратов. Эта продукция производится исключительно на натуральной основе без добавления каких-либо искусственных консервантов. Для этой цели у компании Веледа имеются собственные предприятия биодинамического садоводства и производство растительных экстрактов.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

ИСПЫТАНИЕ СРЕДСТВ МЕДИЦИНЫ СОГЛАСНО НОРМАМ ICH

Служба анализа контроля качества компании Веледа проводит не только аналитические исследования и микробиологические анализы в соответствии с методиками, но также и исследования стабильности лекарственных средств согласно нормам ICH (International Conference on Harmonisation / Международной конференции по гармонизации) в соответствии со стандартами GMP (надлежащей производственной практики). Нормы ICH берут истоки от стандартов Европейского GMP (EU-GMP). Целью стандартизации технических требований в фармацевтической индустрии является обеспечение уверенности, что лекарства могут быть безошибочно опознаны соответствующими регулирующими органами в Европе, Японии и США. Для проведения этих испытаний компания Веледа использует оборудование BINDER – климатическую камеру постоянных условий KBF 720 и камеру для моделирования условий окружающей среды MKF 240 – уже в течение многих лет, не говоря уж об инкубаторах серии BD и KB. «Мы работаем с оборудованием BINDER уже много лет, поэтому полностью уверены в высочайшем уровне надежности продукции, сервиса и поддержки», говорит Йохен Гримм, руководитель отдела валидации, отвечающий за приобретение, валидацию и квалификацию холодильного и климатического оборудования. Лекарственные средства должны отвечать строгим требованиям безопасности, поэтому они также проходят испытания в соответствии с Европейской фармакопеей, Немецкой гомеопатической фармакопеей (HAB) или Немецкой фармакопеей (DAB) в зависимости от необходимости.

В соответствии с нормативами ICH и в зависимости от конкретной климатической зоны субстанции хранятся в климатической камере постоянных условий при 25 °C / 40% относительной влажности; 25 °C / 60% отн. вл.; 30 °C / 65% отн. вл. или 40 °C / 75% отн. вл. в течение периода от 6 до 120 месяцев. Циклы исследований также проводятся в соответствии с техническими условиями ICH.

Испытания стабильности лекарственных средств после вскрытия упаковки – также известные как испытания срока годности – ориентированы на применение медикаментов и определяют его срок годности в реальных условиях его использования.

Требования

1. Испытания на стабильность.
2. Лекарственных средств согласно нормам ICH.
3. Испытания на стабильность после вскрытия упаковки.
4. Ускоренный процесс старения.
5. Контроль микробиологической безопасности.
6. Постоянные климатические условия.
7. Циклические значения температуры и уровня влажности.

Рисунок 1. KMF климатическая камера постоянных условий

Решение от BINDER GmbH

- климатические условия, отвечающие нормам ICH;
- климатическая камера постоянных условий KBF 720;
- камера для моделирования условий окружающей среды MKF 240;
- микробиологические инкубаторы серии BD;
- охлаждающие инкубаторы серии KB;
- различные устанавливаемые значения температуры и влажности;
- однородное распределение температуры внутри камеры;
- высокая скорость восстановления параметров;
- термостатирование с охлаждением.

УСКОРЕННЫЙ ПРОЦЕСС СТАРЕНИЯ

В дополнение к испытаниям стабильности лекарственных средств сотрудники лаборатории также проводят долгосрочное моделирование условий окружающей среды в камере MKF 240. Образцы выдерживаются в экстремальных климатических условиях, изменяя температуру и уровень влажности, для ускорения процесса старения, чтобы ученые могли изучить поведение образцов в условиях интенсивного воздействия внешней среды. Йохен Гримм считает, что возможность варьировать температуру и уровень влажности дает реальное преимущество. «Камера поддерживает установленные значения с потрясающей точностью. Более того, температура и уровень влажности распределяются внутри камеры с высокой степенью однородности».

НЕ ИМЕЮЩИЙ СЕБЕ РАВНЫХ УРОВЕНЬ БЕЗОПАСНОСТИ

Лекарственные препараты должны отвечать строгим требованиям безопасности. При этом, образцы все равно должны проходить регулярные проверки на наличие микроорганизмов. Для этого сотрудники лаборатории используют микробиологические инкубаторы BINDER серии BD и инкубаторы с охлаждением серии KB.

В основе любого взаимодействия между компанией Weleda и ее партнерами, поставщиками и сотрудниками лежит ее главная цель – слияние человечества, компании и природы в абсолютной гармонии. Компания придерживается этой философии в течение более чем 90 лет и никогда не изменяет своим прославленным стандартам качества.

Рисунок 2. **KBF 720 климатическая камера постоянных условий**

Преимущества

- расширенный диапазон температуры – от 0 до 70 °C;
- широкий диапазон уровня влажности вплоть до 80%;
- автоматическая система водоснабжения и водоотведения;
- поддержание точных климатических условий;
- быстрое и точное увлажнение.

Области применения

1. Фармацевтика.
2. Производство автомобилей.
3. Производство упаковки.

BINDER
Best conditions for your success

СОЗДАНИЕ ФОРВАКУУМА ДЛЯ ТУРБОМОЛЕКУЛЯРНЫХ НАСОСОВ С ПОМОЩЬЮ МЕМБРАННЫХ ВАКУУМНЫХ НАСОСОВ VACUUBRAND

АВТОР

Dip.-Phys. Dr. Jürgen Dirscherl,

Технический директор
VACUUBRAND GmbH + CO KG

ВВЕДЕНИЕ

Компания VACUUBRAND уже более 50-ти лет поставляет на мировой рынок широкий ассортимент средств создания, измерения и контроля низкого и среднего вакуума. Номенклатура выпускаемой продукции включает пластинчато-роторные (масляные) насосы, мембранные (безмасляные) насосы, вакуумные станции, а также системы локального вакуумного снабжения, отвечающие самым строгим технологическим и экологическим нормам.

Многие аналитические задачи (такие как масс-спектрометрия, электронная микроскопия и анализ поверхностей) требуют применения высокого вакуума. Для создания требуемого высокого вакуума, как правило, используют турбомолекулярные насосы. Эти насосы не могут работать непосредственно при атмосферном давлении, поэтому в откачную систему всегда включают форвакуумный насос. Использование безмасляных мембранных насосов VACUUBRAND для создания форвакуума в сочетании с современными турбомолекулярными насосами дает отличный результат – высокий вакуум без следов масла. Во многих случаях такой вакуум незаменим.

ВЫБОР НАСОСА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФОРВАКУУМА ДЛЯ ТУРБОМОЛЕКУЛЯРНЫХ НАСОСОВ

В настоящее время турбомолекулярные насосы нашли широкое применение в самых различных отраслях, требующих создания высокого вакуума. Наряду с насосами специального назначения и с высокими скоростями вакуумирования все больше и больше турбомолекулярных насосов поставляются со встроенными молекулярными ступенями. Эта дополнительная ступень улучшает предельное давление нагнетания турбонасоса до миллибарного диапазона, который можно достичь с использованием мембранных насосов. Вследствие этого в качестве форвакуумных больше не обязательно использовать центробежные лопастные насосы с масляным уплотнением, поскольку сочетание турбомолекулярного насоса и мембранного насоса позволяет получить очень компактную и мощную безмасляную систему. Мембранные насосы требуют значительно меньше технического обслуживания, чем центробежные лопастные насосы, позволяя избежать процедуры замены масла. Безмасляная работа насоса исключает риск натекания паров масла или перетекания масла внутрь турбомолекулярного насоса или высоковакуумной камеры.

ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

Рисунок 1. **Мембранный вакуумный насос VACUUBRAND MD 4 NT**

По сравнению с другими типами форвакуумных насосов мембранные насосы обладают рядом преимуществ. В мембранных насосах, в отличие от спиральных или плунжерных, отсутствуют скользящие уплотнения (выполненные, например из фторопласта/углерода), которые обычно вызывают появление продуктов износа, способных проникнуть внутрь турбомолекулярного насоса. Угольная пыль может не только повредить турбомолекулярные насосы, но и испортить высоковакуумную камеру. Именно поэтому использование мембранных насосов предпочтительно в областях, требующих применения чистых технологий.

При работе с коррозионноактивными газами и парами химическая устойчивость материалов форвакуумных насосов имеет большое значение. Все части безмасляных мембранных насосов, контактирующие со средой, могут быть изготовлены из фторопласта. Эти, так называемые, химические мембранные насосы даже при работе с высококоррозионными газами и парами не требуют частого технического обслуживания.

При выборе форвакуумного насоса, в частности мембранного насоса, важно учитывать множество факторов:

- **Предельный вакуум форвакуумного насоса**

Безусловно, предельный вакуум форвакуумного насоса должен быть ниже, чем максимальное допустимое давление на входе турбомолекулярного насоса. Значение предельного вакуума влияет на производительность всей вакуумной системы, работающей при низком потоке газа.

- **Скорость откачки форвакуумного насоса в зависимости от давления на входе (что соответствует форвакууму турбомолекулярного насоса)**

Скорость откачки особенно при средних и низких уровнях вакуума имеет решающее значение для времени откачки и допустимого потока газа вакуумной системы. Если форвакуумный насос не справляется с потоком газа, уровень предварительного вакуума ухудшается. В этом случае может произойти перегрузка или выключение турбомолекулярного насоса. Во избежание этой проблемы форвакуумный насос должен иметь постоянную высокую скорость откачки даже при вакууме, близком к предельному.

- **Надежный запуск под вакуумом и герметичность при выключении электропитания (низкий уровень натекания)**

Форвакуумный насос не должен допускать натекание даже в случае падения напряжения; это может вызвать разгерметизацию всей вакуумной системы. Кроме того, форвакуумный насос должен запускаться под вакуумом. Множество пользователей недооценивают эти характеристики, однако они имеют большое значение для обеспечения высокой надежности технологического процесса в случае сбоя питания.

- **Срок службы мембраны**

Мембранные насосы с фиксированной частотой вращения электродвигателя обычно имели мембраны с более коротким сроком службы, чем стандартный интервал между циклами технического обслуживания турбомолекулярных насосов (обычно 40000 ч). Поэтому мембраны таких насосов следовало менять чаще интервалов технического обслуживания турбомолекулярных насосов. Несмотря на это, основываясь на результатах новых испытаний плоских мембран, можно говорить о сопоставимости продолжительности эксплуатации мембран и интервалов технического обслуживания турбомолекулярных насосов.

- **Постоянная производительность в течение всего срока службы мембраны**

Многие распространённые мембранные насосы демонстрируют снижение скорости откачки после нескольких месяцев работы. За этот период также происходит снижение предельного вакуума, что особенно проблематично при использовании мембранных насосов в качестве форвакуумных для турбомолекулярных насосов, так как требуется частая замена мембран. Этого можно избежать, используя мембраны специальной (плоской) конструкции.

- **Приводная система**

Мембранные насосы с регулируемым приводом вырабатывают лучший предельный вакуум даже при снижении скорости двигателя. Это обеспечи-

вает исключительные преимущества при создании форвакуума для турбомолекулярных насосов, поскольку в этом случае турбомолекулярные насосы имеют лучший диапазон работы. В то же время низкая скорость двигателя продлевает срок службы мембраны и значительно снижает уровень шума, вибрации и потребления электроэнергии мембранного насоса.

Другими важными критериями (в зависимости от области применения) являются компактность, уровень шума и вибрации, направление монтажа и химическая устойчивость.

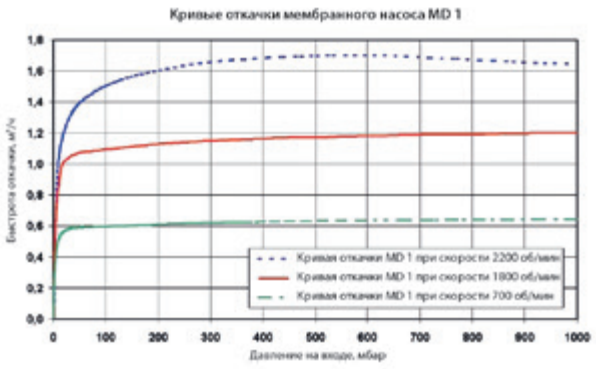


Рисунок 2. Кривые скорости откачки мембранного насоса VACUUBRAND MD 1

Из вышесказанного можно сделать вывод, что современные турбомолекулярные насосы могут работать при форвакууме в диапазоне миллибар, позволяя использовать безмасляные мембранные вакуумные насосы в качестве форвакуумных. Благодаря новым достижениям в области мембранных технологий и двигателям с частотным преобразователем, мембранные насосы стали сегодня еще более компактными, мощными и надежными. Продолжительные испытания указывают на то, что срок службы мембран превышает 40000 ч, а предельный вакуум поддерживается весь испытательный период на уровне заявленных технических характеристик. Двигатели с частотным преобразователем также увеличивают интервал технического облуживания форвакуумных насосов, делая его сопоставимым с турбомолекулярными насосами.

МЕМБРАННЫЕ ВАКУУМНЫЕ НАСОСЫ

Мембранные насосы производительностью 12 м^3/ч (200 л/мин, 7 фут^3/мин) обычно являются наиболее подходящими форвакуумными насосами. В частности, при вакуумировании и откачке неагрессивных газов требуется поддержание чистоты в рабочем помещении, что исключает использование пластинчато-роторных насосов или пылеобразующих насосов, например спиральных или плунжерных. Вместе с тем, для работы с коррозионно-активными газами и парами химические мембранные насосы, по сути, являются единственным верным выбором, так как никакие другие вакуумные насосы не предлагают сопоставимую химическую устойчивость.

Более того, конструкционные различия между мембранными насосами способствуют усилению преимуществ мембранных над другими технологиями. Некоторые стандартные насосы используют формованные мембраны, не поддерживаемые внешними твердыми элементами. В отличие от формованных, плоские мембраны поддерживаются расположенными сверху и снизу твердыми металлическими или пластиковыми элементами, которые направляют плоскую мембрану с исключительной точностью и обеспечивают долговременную устойчивость. На рисунке 1 в поперечном сечении показан современный четырехцилиндровый мембранный насос (VACUUBRAND MD 4 NT) с плоскими мембранами.

На рисунке 1 видно как алюминиевый полигональный диск, поддерживающий мембрану, непосредственно прилегает к соединительному стержню. Плоская мембрана закреплена между поддерживающим диском и зажимным диском (который на рисунке выглядит как сферическое сечение мембраны) и направляется по четкому контуру, минимизирующему усталостное напряжение.

В предназначенных для нормальных условий работы насосах зажимный диск выполнен из алюминия, а мембрана и клапаны – из гибкого износоустойчивого армированного тканью СКФ. Мембрана герметично отделяет камеру насоса от камеры привода, обеспечивая изоляцию механизма насоса от паров откачиваемых веществ. Защитное перекрытие, видимое на рисунке за мембраной, в стандартном исполнении также выполнено из алюминия. Крышка корпуса, направляющая газы вокруг цилиндров, в данном случае полностью вырезана из алюминия для исключительной газонепроницаемости.

В химических мембранных насосах зажимный диск выполнен из химически устойчивого фторопласта с устойчивым ядром, а мембрана – из армированного тканью СКФ, закрытого ПТФЭ фольгой. Крышка корпуса также изготовлена из фторопласта с устойчивым ядром для надежной и длительной работы. Клапаны в химических насосах выполнены из перфтор-каучука или ПТФЭ. Все элементы, соприкасающиеся с потоком откачиваемого коррозионноактивного пара, изготов-

лены из фторопласта для обеспечения исключительной химической устойчивости.

Гомогенность и гибкость плоских мембран позволяет получить кривую откачки, близкую к идеальной. На рисунке 2 показаны кривые откачки мембранного насоса MD 1, имеющего аналогичную MD 4 NL конструкцию, при трех различных скоростях работы.

Совершенно очевидно, что быстрота откачки остается постоянной во всем диапазоне давлений на входе и для всех частот вращения двигателя. Другие мембранные насосы, включая насосы с формованной мембранной, могут продемонстрировать похожие рабочие параметры при максимальной скорости откачки (свободное вытеснение воздуха) и предельном вакууме, но имеют гораздо меньшую скорость откачки между этими предельными значениями, в области реального проведения процесса. Производительность таких насосов страдает по сравнению с насосами, использующими плоские мембраны, при измерении времени откачки или допустимого потока газа.

ИСПЫТАНИЕ МЕМБРАННЫХ НАСОСОВ ДЛЯ ФОРВАКУУМНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Стандартный срок службы плоских мембран безмасляных насосов VACUUBRAND превышает 20000 ч. При условии работы насоса при нагрузке 8760 ч/год проведение оценки срока службы «испытание на отказ» становится очень времязатратным. Для проверки большинства компонентов компания VACUUBRAND использует ускоренное испытание на старение. В силу того, что срок службы мембраны зависит от количества ее тактов, то при увеличении вдвое частоты вращения двигателя срок службы мембраны сокращается наполовину. В действительности износ мембраны еще больше в силу того, что при высоких скоростях мембрана начинает нагреваться. Высокая нагрузка газом также увеличивает износ, поэтому испытания при высоких частотах вращения двигателя и высоких нагрузках позволяют получить репрезентативную оценку качества компонентов в течение одного года. Основываясь на данной информации, следует учитывать и другие факторы для получения реалистичной оценки срока службы мембраны, применимого к «нормальным» условиям эксплуатации.

Для таких вариантов применения, как использование мембранных насосов в качестве форвакуумных для турбомолекулярных насосов, «нормальным» условием эксплуатации будет работа при предельном вакууме. Создание вакуума из атмосферного давления обычно необходимо меньше одного раза в день, и большую часть времени форвакуумный насос работает близко к предельному вакууму. Поэтому для обеспечения надежной работы форвакуумного насоса производительность по предельному вакууму имеет большее значение, чем срок службы мембраны. Если предельный вакуум мембранного насоса со временем снижается до таких значений, когда он не может быть форвакуумом для турбомолекулярного насоса, мембрану следует заменить, даже если не произошел полный выход из строя. Со временем обычные мембранные насосы с формованной мембраной во многих случаях показывают именно такое снижение производительности по вакууму. Поэтому непрерывное измерение предельного вакуума во время периода испытаний целесообразно для гарантии создания необходимого уровня предельного вакуума форвакуумным насосом.

Несколько лет назад компания VACUUBRAND начала проведение таких продолжительных испытаний с шести мембранных насосов MD 1. Насосы работали постоянно, создавая предельный вакуум, который измерялся и регистрировался каждые 30 с (на рисунке 3 показаны результаты данных измерений).

Рисунок 3. Предельное остаточное давление шести мембранных насосов VACUUBRAND MD 1 за пятилетний период

Все насосы сохранили характеристики нового оборудования на протяжении всего срока эксплуатации при полной нагрузке в течение более чем 40000 ч. Ни одна из 24 мембран (шесть насосов с 4-мя мембранами каждый) не вышла из строя за 43000 ч испытательного периода. Видимые пренебрежительно малые вариации (±0,4 мбар) в значениях предельно остаточного вакуума были вызваны датчиками вакуума. Данные результаты доказывают исключительную надежность при длительной эксплуатации и высокую производительность мембранных насосов VACUUBRAND, особенно для об-

ластей применения, требующих непрерывной работы в условиях вакуума, близкого к предельным значениям.

ПРИВОДНЫЕ СИСТЕМЫ: ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ

Данное долговременное испытание проводилось при использовании насосов с однофазными электродвигателями. Насосы работали с частотой вращения приблизительно 1500 об/мин вне зависимости от фактической потребности. Для обеспечения оптимальной эффективности и производительности использовались приводные системы с регулируемой скоростью, позволяющие регулировать частоту вращения двигателя в зависимости от реальных потребностей. Регулирование производится как с помощью внешнего управляющего сигнала, генерируемого вакуумным устройством (или турбомолекулярным насосом), так и при использовании контроллера вакуума, измеряющим уровень форвакуума и регулирующим частоту вращения двигателя соответственно.

Снижение частоты вращения двигателя не только снижает уровень вибрации, шума и потребление электроэнергии, но и улучшает предельный вакуум. Также увеличивается срок службы мембраны (и, следовательно, интервал технического обслуживания). Например, если насос иногда создает вакуум при 2200 об/мин, но большую часть времени работает при 700 об/мин, то срок службы мембраны должен быть удвоен. Принимая во внимание приведенные выше результаты, можно говорить о форвакуумном насосе, не требующем обслуживания.

Мембранный насос VACUUBRAND MD 1 доступен с серийным однофазным двигателем переменного тока для прямого питания от сети при линейном напряжении (рисунок 4, слева) и с бесщеточным электродвигателем постоянного тока 24 В (рисунок 4, справа). Двигатель переменного тока доступен в универсальной версии (для напряжений широкого диапазона). Оба двигателя надежно запускаются под вакуумом, отличаются коррозионной устойчивостью и длительным интервалом сервисного обслуживания, описанным выше. Бесщеточный электродвигатель не требует технического обслуживания.

Модель с двигателем постоянного тока отличается большей компактностью, чем с двигателем переменного тока, и обеспечивает работу при частоте вращения двигателя в диапазоне от 200 до 2200 об/мин, регулируемой с помощью аналоговых и цифровых управляющих сигналов или настраиваемой вручную. Патентованная система запуска электроники двигателя существенно снижает потребление электроэнергии во время запуска. Это позволяет экономить пространство благодаря использованию небольшого источника постоянного тока.

Рисунок 4. Мембранный насос VACUUBRAND MD 1 с двигателем переменного (слева) и постоянного тока (справа)

Насосы этих двух типов основаны на запатентованной технологии «подвесной двигатель» от VACUUBRAND для подшипников, обеспечивающей низкий уровень шума и компактность насосов. Более того, электронный блок привода для бесщеточного электродвигателя постоянного тока полностью интегрируем в насос. Это отличающееся непревзойденной компактностью «мехатронное» решение обеспечивает создание предельного вакуума и быстроту откачки.

Возвращаясь к рисунку 2, мы можем увидеть кривые откачки для насоса постоянного тока при различных частотах вращения. При 2200 об/мин быстрота откачки насоса достигает 1,7 м^3/ч (28 л/мин, 1 фут^3/мин). Жертвуя быстротой откачки и управляя двигателем при низких частотах, например 700 об/мин, можно получить предельный вакуум до 1 мбар. Эти характеристики являются прямым следствием преимуществ использования регулируемой частоты вращения, обеспечиваемой электродвигателем постоянного тока. При создании форвакуума для турбомолекулярных насосов данный контроль обеспечивает двойное преимущество: сокращение времени откачки и лучший уровень предельного вакуума для высоковакуумных систем.

Широкомембранные насосы также доступны с двигателями постоянного тока 24 В, характеризующимися сопоставимыми эксплуатационными характеристиками. Компания VACUUBRAND использует эти конструктивные решения в линейке насосов VARIO-SP (т.е. насосных систем VARIO). Они оптимально подхо-

дят для интеграции в компактные системы, особенно со встроенным источником питания постоянного тока напряжением 24 В. Все эти насосы поддерживают установку в любом положении и работают с низким уровнем шума и вибрации.

Кроме небольшого размера, дополнительным преимуществом для интеграции этих насосов в компактное оборудование является экономия энергии, что позволит снизить энергопотребление и уменьшить количество потерянного тепла. Например, для создания предельного вакуума при использовании мембранного насоса MD 1 с двигателем переменного тока требуется приблизительно 100 Вт, а при использовании мембранного насоса MD 1 с двигателем постоянного тока, работающим на частоте 700 об/мин, – только 24 Вт. При предельном вакууме практически вся электроэнергия преобразуется в отходящее тепло (если в действительности нет существенного натекания при предельном вакууме). Следовательно, насосы постоянного тока высвобождают только четверть от отходящего тепла по сравнению с насосами переменного тока. Это оказывает положительное влияние, например на требования к вентиляции внутри оборудования, нагрузку установки кондиционирования воздуха и, естественно, стоимость электроэнергии.

Насосы VACUUBRAND с регулируемой частотой вращения также доступны с контроллером вакуума, работающим в качестве обособленного модуля. Контроллер вакуума использует встроенный датчик давления для непрерывного мониторинга и дальнейшего автоматического регулирования частоты вращения двигателя в соответствии с реальными требованиями. Сочетание датчика давления и контроллера позволяет избежать необходимости использования дополнительного датчика давления. На рисунке 5 показана такая насосная система создания полного вакуума (VACUUBRAND MV 2 NT VARIO), состоящая из мембранного вакуумного насоса с регулируемой скоростью (предельный вакуум 0,3 мбар) и контроллера вакуума.

Рисунок 5. **Мембранный насос VACUUBRAND MV 2 NT VARIO, предельное остаточное давление 0,3 мбар**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог, следует отметить, что вакуумные насосы с плоскими мембранами показывают исключительную надежность и производительность на протяжении очень длительного срока службы. По сравнению со спиральными или плунжерными насосами мембранные насосы являются безмасляными и не генерируют продукты износа (пыль). Интеграция приводной системы «подвесной двигатель» позволила создать насосы, отличающиеся компактной и легкой конструкцией и тихой работой при практически полном отсутствие вибраций, что облегчает интеграцию насосов в вакуумное оборудование. Приводные системы с регулируемой скоростью, такие как бесщеточные электродвигатели постоянного тока напряжением 24 В или самооптимизирующиеся системы с вакуумным контроллером, открывают многочисленные возможности для сотрудников лабораторий и компаний-разработчиков оборудования.

SULTRADE

РЕШЕНИЯ ДЛЯ СЕПАРАЦИИ ПРОДУКТОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ ОТ SULTRADE

Материал предоставлен компанией SULTRADE

ВВЕДЕНИЕ

Компания SULTRADE предлагает различные типы решений для сепарации продуктов в фармацевтической промышленности на территории Российской Федерации.

Имея большой опыт, наличие положительных референсов и отзывов, центрифуги изготавливаются с учетом всех требований и пожеланий заказчика.

Все изготавливаемое оборудование соответствуют требованиям для обеспечения правильной производственной практики в фармацевтической промышленности (сертификат GMP), а также требованиям сертификатов безопасности ATEX, SIL и т.п.

ЦЕНТРИФУГИ SULTRADE

Конструктивно центрифуги SULTRADE делятся на два типа: вертикальные с нижней выгрузкой и вертикальные с верхней выгрузкой. Для обоих вариантов, возможно предложить такие опции как

– система выгрузки: например, пневматическая система для транспорта продукта в контейнер дозирования (центрифуги с верхней выгрузкой) или с классическим мобильным контейнером (центрифуги с нижней выгрузкой);

– все типы фармацевтических центрифуг стандартно поставляются с системой очистки или системой CIP с возможностью контроля его эффективности. Одной из собственных разработок является конструкция барабана, исключающая «грязные зоны» между барабаном и самой установкой, когда полная очистка затруднена или невозможна;

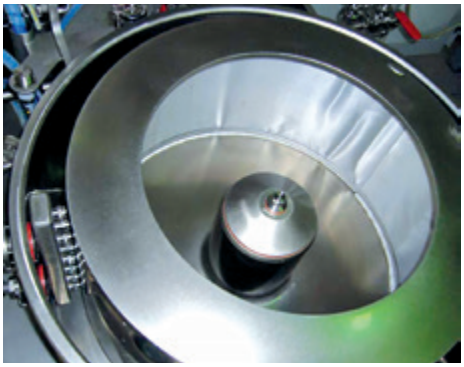
ПУБЛИКУЕТСЯ НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

– различные типы ножей для вырезки кека, которые могут совершать движения в двух или трехосной системе координат. С пневматическим или гидравлическим приводом, а также с системой устранения остаточного слоя продукта путем выхлопа (RHR);

– разные модификации труб для подачи и промывки, системы для измерения глубины слоя кека;

– целый ряд комплектующих для инертизации или управления технологической арматурой;

– изготовление и поставка оборудования специального назначения – смеситель (гранулятор) полимера.



НОУ-ХАУ SULTRADE

Ноу-хау SULTRADE является собственная разработка уникального оборудования для фармацевтической отрасли «Центрифуга – вакуумная сушилка» (CEDRY). Эта комбинированная технологическая установка применяется также, как обычная центрифуга, для выделения твердой фазы из суспензии, но позволяет проводить последующую сушку в вакууме без необходимости выгрузки продукта между двумя операциями. Аппарат прекрасно подходит для работы с трудными для фильтрации или токсичными веществами, также в нем возможно выделение продуктов из растворителей. При этом:

– получаемый продукт имеет значительно меньшую остаточную влажность за более короткий промежуток времени;

– оборудование, обладая высокой мощностью, имеет гораздо меньший размер в сравнении с классическим фильтром.

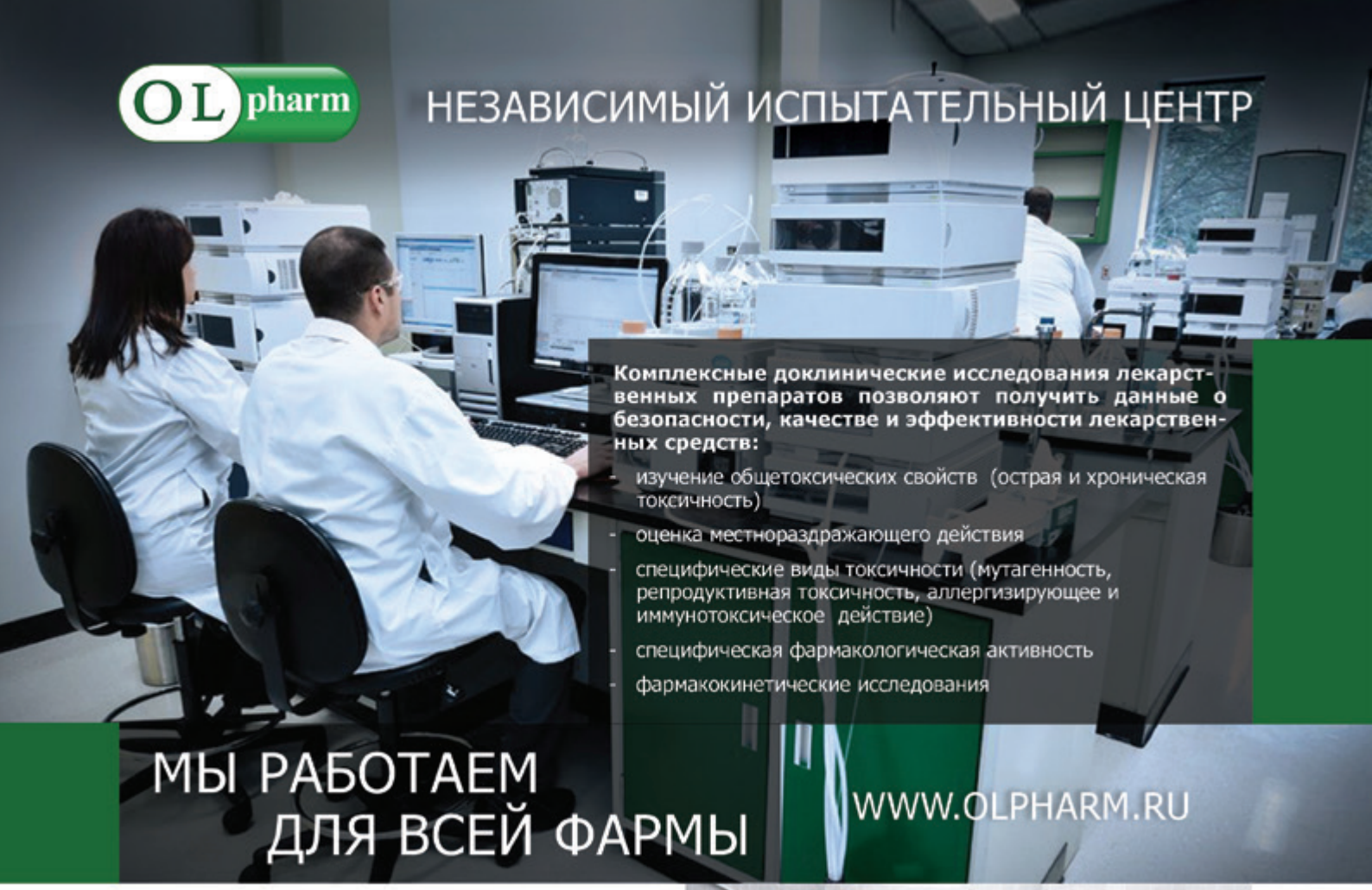
Результаты испытаний показали, что оборудование является альтернативой, так называемым, процессным фильтрам или классической комбинации «центрифуга и сушилка» с рядом неоспоримых преимуществ, а в некоторых случаях оказалось идеальным решением.

Для проведения тестовых испытаний и наглядной демонстрации процесса на предприятиях фармацевтической промышленности специально была изготовлена центрифуга типа CDR500/250. Она позволяет провести серию испытаний у различных заказчиков с разнообразными продуктами, получить результаты и убедиться в неоспоримых преимуществах, экономической целесообразности и удобстве в работе данного оборудования.

SULTRADE

OL pharm

НЕЗАВИСИМЫЙ ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР



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 иммунотоксическое действие)
- специфическая фармакологическая активность
- фармакокинетические исследования

МЫ РАБОТАЕМ ДЛЯ ВСЕЙ ФАРМЫ

WWW.OLPHARM.RU

Исследования в области микробиологии

- исследование и тестирование чувствительных патогенных микроорганизмов к антимикробным лекарственным средствам
- изучение антимикробного действия лекарственных средств в отношении определенных видов микроорганизмов во избежание неправильной оценки полученных результатов перед испытанием на микробиологическую чистоту и стерильность
- анализ антагонистической активности пробиотических штаммов и препаратов на их основе методом отсроченного антагонизма на плотной среде в чашках Петри

Исследования в области разработки лекарственных средств

- разработка и валидация аналитических методик
- стандартизация НД на лекарственные препараты
- изучение стабильности лекарственных средств
- изучение кинетики растворения
- исследование фармакокинетики в рамках проведения биоэквивалентности
- проведение трансфера методик

Аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.21ФЛ10 от 08.10.2014

Лицензия № 77.01.13.001.Л.000142.04.09 от 30.04.2009 на выполнение работ с микроорганизмами 3–4 групп патогенности

ООО «ОЛФАРМ»
117105, Г. МОСКВА,
УЛ. НАГАТИНСКАЯ, Д. 3А
ТЕЛ./ФАКС: +7 (499) 611-40-36
E-MAIL: INFO@OLPHARM.RU

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

К публикации принимаются законченные оригинальные работы (до 25 машинописных страниц, включая иллюстративный материал и список литературы), рассматривающие экспериментальные исследования в области фармацевтической технологии и разработки, вопросы оценки качества, эффективности, безопасности воспроизведенных и оригинальных лекарственных средств и регистрации лекарственных средств.

Журнал также публикует предлагаемые авторами и одобренные редакционной коллегией обзорные статьи по актуальным проблемам фармацевтической технологии, разработки и регистрации лекарственных средств (до 40 машинописных страниц, включая иллюстративный материал и список литературы).

Работы приоритетного характера (1-3 машинописные страницы), содержащие не более 3 иллюстраций, публикуются в виде коротких сообщений.

Текст статьи должен быть представлен в редакцию на адрес электронной почты: info@pharmjournal.ru, набранным в текстовом редакторе MS Word версии не ниже 2003. Название файла – фамилия первого автора. Редакция не несет ответственности за содержание и достоверность представленного материала.

Первая страница статьи начинается с УДК и названия статьи на русском языке, напечатанного заглавными буквами по центру. Далее следует список авторов на русском языке. Для каждого автора указываются инициалы и фамилия, сначала пишутся инициалы, потом фамилия автора. Инициалы отделяются от фамилии автора одинарным пробелом. Затем следуют точные названия и адреса (с обязательным указанием почтового индекса) всех учреждений (с цифровой пометкой, где работает каждый из авторов), звездочкой в верхнем регистре помечен автор, ответственный за переписку (* – ссылка на телефон и адрес электронной почты). Редакция не несет ответственности за искаженное воспроизведение имен собственных, допущенное по вине автора.

Затем приводится краткое резюме статьи (**Резюме**.) на русском языке (не более 100 слов). Далее следуют ключевые слова (**Ключевые слова**:) (не более 6) на русском языке.

Далее в том же порядке: название статьи заглавными буквами по центру, список авторов с указанием точных названий и адресов с почтовым индексом всех учреждений/организаций (также с цифровой пометкой в верхнем регистре, указывающей, где работает каждый из авторов), краткое резюме (**Abstract**.) и ключевые слова статьи (**Keywords**:) в переводе на английский язык.

Текст экспериментальной статьи и коротких сообщений должен быть разбит на разделы: 1) ВВЕДЕНИЕ; 2) МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ; 3) РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ; 4) ЗАКЛЮЧЕНИЕ; 5) ЛИТЕРАТУРА (все буквы в названиях разделов - заглавные).

Все сокращения и аббревиатуры, использованные в тексте статьи, должны быть расшифрованы (либо при первом употреблении в скобках, либо в конце статьи в списке сокращений). Расшифровка сокращений и аббревиатур иноязычных терминов должна быть представлена на языке оригинала.

Правила набора. Интервал между словами должен быть один пробел, перенос слов не делать, текст набирается шрифтом Times New Roman, 14 кеглем через полтора интервала. Название статьи набирается заглавными буквами полужирным шрифтом, инициалы и фамилии авторов – полужирным шрифтом. При обозначении единиц измерения должна использоваться система единиц СИ. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств. При описании в работе результатов клинических исследований необходимо привести номер и дату разрешения на проведение клинического исследования согласно Реестру выданных разрешений на проведение клинических исследований лекарственных препаратов. При описании используемых общелабораторных реактивов следует приводить их наименование, класс чистоты, фирму-производитель и страну происхождения. При описании специфических импортных реактивов необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива. При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производитель, страну происхождения, серию и срок годности. При описании используемых стандартных образов приводить количественное содержание активного вещества в стандартном образце, фирму-производитель, страну происхождения, серию и срок годности. Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии – группировочного или химического названия. Числовые данные необходимо указывать цифрами, в десятичных дробях использовать запятые. Математические и химические формулы писать четко, с указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов. К статье может быть приложено необходимое количество таблиц и рисунков. Все таблицы и рисунки должны иметь номер и название, текст статьи должен содержать ссылку на них.

К статье необходимо приложить список всей цитируемой литературы, оформленный в соответствии с действующим ГОСТ Р 7.0.5-2008. В тексте статьи следует указывать номер ссылки в квадратных скобках цифрами в соответствии с пристатейным списком литературы. Ссылки нумеруются в порядке цитирования. Перед списком указывается ЛИТЕРАТУРА прописными буквами. Список литературы должен представлять собой полную затекстовую ссылку. Для книг и сборников указываются точные названия по титульному листу, место и год издания, страницы; для нормативных документов – тип документа и принявший его орган (постановление Правительства Российской Федерации, приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации и т. п.), дата утверждения, номер и точное название. Для журнальных статей указываются фамилия и инициалы авторов, полное название статьи, название журнала, год, номер выпуска, номера страниц.

Решение о публикации принимает редакция. Редакция журнала оставляет за собой право вносить стилистические изменения, не искажающие смысл. Корректура не высылается.

Образец оформления статей, примеры сокращения единиц измерения и оформления ссылок представлены на сайте журнала: www.pharmjournal.ru.

Подписка на научно-производственный журнал*

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Журнал выходит 1 раз в квартал

АНКЕТА ПОДПИСЧИКА

Фамилия: _____

Имя: _____

Отчество: _____

Предприятие: _____

Должность: _____

Отдел: _____

Необходимое количество экземпляров журнала: _____

Телефон: _____

Факс: _____

E-mail: _____

Почтовый индекс: _____

Город, район, область: _____

Адрес: _____

Пожалуйста, отметьте один или несколько вариантов

Наиболее интересные для Вас разделы: ☐ Новые методики анализа ☐ Регистрационные вопросы	*Какие материалы вы хотели бы видеть в следующих номерах:* ☐ Практические пособия выполнения анализов ☐ Новости фармацевтической отрасли ☐ Пути решения трудностей при регистрации ☐ Аналитические статьи и обзоры ☐ Оборудование для разработки и анализа
Нужно ли размещать тематические рекламные блоки в журнале: ☐ *Да* ☐ *Нет*	*Ваши предложения и пожелания:* _____ _____ _____ _____

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

ВНИМАНИЕ! Почтовая доставка за пределы России, в т.ч. страны ЕАЭС, ЕС, а также Латвию, Украину, Узбекистан, Туркменистан **платная**.

* Отсканированную копию заполненной анкеты необходимо выслать на электронный почтовый адрес редакции: info@pharmjournal.ru или Почтой России по адресу: 115516, Москва, Россия, ул. Промышленная, д.11, стр.3, оф. 419.
Также Вы можете оформить подписку на нашем сайте в разделе «Подписка»: **www.pharmjournal.ru**

Благодарим Вас за неоценимый вклад в развитие Журнала!