

ISSN 1991-2919

ВЕДОМОСТИ

**НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ
СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

**РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

Том 7, № 2

<http://vedomosti.regmed.ru>

Апрель – июнь 2017

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

СОДЕРЖАНИЕ

Том 7, № 2 2017

МЕТОДОЛОГИЯ ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

- А. И. Лутцева, Т. Н. Боровикова, В. А. Яшкир, Л. А. Стронова, Н. Е. Кузьмина, М. В. Агапкина,
Л. И. Панова, Е. Н. Попова, Н. В. Гадасина, Л. Н. Буланова, В. И. Прокофьева
Методологические подходы к выбору методов установления подлинности лекарственных средств 71
- С. И. Кулешова
Перенос (трансфер) методик, параметры валидации/верификации 77
- А. С. Осипов, О. А. Попова, С. Г. Ларионова, Е. Ю. Тимошина
Применение хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения гидроксикарбамида
и мочевины 81
- Н. А. Эпштейн
О допустимых значениях порога игнорирования примесей и отношения сигнал-шум
при проверке чувствительности хроматографической системы 85
- Г. Н. Енгальчева, Р. Д. Сюбаев, Д. В. Горячев
Исследования фармакологической безопасности лекарственных средств: экспертная оценка
полученных результатов 92

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

- Р. Д. Сюбаев, Н. М. Крутикова, Г. Н. Енгальчева, Н. Г. Оленина
Вопросы доказательности эффективности и безопасности гомеопатических лекарственных
препаратов 98
- Н. Н. Еременко, Д. В. Горячев, Е. В. Ших
Оценка фармакокинетики эндогенных соединений на примере препаратов кальция 104
- М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, Е. В. Шекунова
Методические подходы к оценке нейротоксичности фармакологических веществ 111
- Л. М. Красных, В. В. Смирнов, Г. Ф. Василенко, О. А. Горошко, Е. А. Егоренков, В. И. Зозина
Различия в фармакокинетике ибупрофена в моно- и многокомпонентных препаратах 117

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

- К. А. Кошечкин, Е. М. Рычихина
Применение информационных технологий для управления фармацевтическими данными 122
- Д. М. Мануилов
Внедрение эффективных систем управления качеством в организациях,
проводящих доклинические и клинические исследования и осуществляющих фармаконадзор 126

Свидетельство о регистрации средства массовой
информации: ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.
© Ведомости НЦЭСМП
Адрес: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2
Телефоны: +7 (495) 234-61-06, доб. 63-33; 63-34
E-mail: vedomosti@expmed.ru
<http://vedomosti.regmed.ru>
Журнал включен в наукометрическую
базу данных Science Index
Подписной индекс 25122 в каталоге
«Газеты. Журналы» агентства «Роспечать»

Подписано в печать 29.05.2017.
Формат 60×90/8. Печ. л. 8,5
Бумага мелованная. Печать офсетная
Заказ № VED-1(17).
Отпечатано в Издательском доме «Фолиум»
127238, а/я 42, Москва, Дмитровское ш., 157
Тел.: +7 499 258-08-28
E-mail: press@folium.ru
<http://www.folium.ru>

Учредитель

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы
средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Издатель

Издательский дом «Фолиум»

Главный редактор

Ю. В. Олефир

Зам. главного редактора

В. А. Меркулов
А. Н. Яворский

Ответственный секретарь

Л. В. Корсун

Научный редактор

С. А. Калинин

Редакционная коллегия

Р. Н. Аляутдин
В. П. Бондарев
И. В. Борисевич
Н. Д. Бунятян
Е. Л. Ковалева
В. Г. Кулес
В. К. Лепахин
Н. В. Медуницын
А. А. Мовсисянц
Б. К. Романов
А. Б. Прокофьев
Е. И. Саканян
Р. И. Ягудина

Редакционный совет

В. А. Алешкин (Москва)
Ш. А. Байдуллаева (Алматы)
Г. М. Бобизода (Душанбе)
А. Л. Гинцбург (Москва)
А. Д. Дурнев (Москва)
Э. Э. Звартау (Санкт-Петербург)
А. З. Зурдинов (Бишкек)
И. Г. Козлов (Москва)
В. И. Кочеровец (Москва)
А. Г. Муляр (Москва)
А. В. Наджарян (Минск)
В. И. Петров (Волгоград)
А. А. Свистунов (Москва)
Д. А. Сычев (Москва)
В. В. Удуд (Томск)
А. Л. Хохлов (Ярославль)
В. П. Чехонин (Москва)
Н. Л. Шимановский (Москва)

THE BULLETIN OF THE SCIENTIFIC CENTRE FOR EXPERT EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS

Research and practice peer-reviewed journal

CONTENTS

Vol. 7, № 2 2017

Founder

Federal State
Budgetary Institution
«Scientific Centre for Expert
Evaluation of Medicinal
Products» of the Ministry of Health
of the Russian Federation

Publisher

Folium Publishing Company

Editor in chief

Yu. V. Olefir

Deputy chief editors

V. A. Merkulov

A. N. Yavorsky

Executive editor

L. V. Korsun

Scientific editor

S. A. Kalinichev

Editorial staff

R. N. Alyautdin

V. P. Bondarev

I. V. Borisevich

N. D. Bunyatyan

E. L. Kovaleva

V. G. Kukes

V. K. Lepakhin

N. V. Medunitsyn

A. A. Movesyants

B. K. Romanov

A. B. Prokofiev

E. I. Sakanyan

R. I. Yagudina

Editorial board

V. A. Aleshkin (*Moscow*)

Sh. A. Baidullaeva (*Almaty*)

G. M. Bobizoda (*Dushanbe*)

A. L. Gintsburg (*Moscow*)

A. D. Durnev (*Moscow*)

E. E. Zvartau (*Saint-Petersburg*)

A. Z. Zurdinov (*Bishkek*)

I. G. Kozlov (*Moscow*)

V. I. Kocherovets (*Moscow*)

A. G. Mulyar (*Moscow*)

A. V. Nadzharyan (*Minsk*)

V. I. Petrov (*Volgograd*)

A. A. Svistunov (*Moscow*)

D. A. Sychev (*Moscow*)

V. V. Udut (*Tomsk*)

A. L. Khokhlov (*Yaroslavl*)

V. P. Chekhonin (*Moscow*)

N. L. Shimanovsky (*Moscow*)

METHODOLOGY OF EXPERT EVALUATION OF MEDICINES

A. I. Lutseva, T. N. Bokovikova, V. A. Yashkir, L. A. Stronova, N. E. Kuzmina, M. V. Agapkina,
L. I. Panova, E. N. Popova, N. V. Gadasina, L. N. Bulanova, V. I. Prokofieva
Methodological approaches to the choice of identification test methods for medicines 71

S. I. Kuleshova
Transfer of methods, and parameters of validation/verification 77

A. S. Osipov, O. A. Popova, S. G. Larionova, E. Yu. Timoshina
Hydrophilic interaction chromatography used for separation of hydroxycarbamide and urea 81

N. A. Epshtein
On acceptable values of disregard limits for impurities and signal-to-noise ratio when checking
chromatographic system sensitivity 85

G. N. Engalycheva, R. D. Syubaev, D. V. Goryachev
Safety pharmacology studies of medicinal products: evaluation of results 92

PRECLINICAL AND CLINICAL STUDY OF MEDICINES

R. D. Syubaev, N. M. Krutikova, G. N. Engalycheva, N. G. Olenina
Considerations regarding demonstration of efficacy and safety of homeopathic medicines. 98

N. N. Eremenko, D. V. Goryachev, E. V. Shikh
Evaluation of endogenous compounds pharmacokinetics as illustrated by calcium 104

M. N. Makarova, V. G. Makarov, E. V. Shekunova
Methodological approaches to the assessment of pharmaceutical substances neurotoxicity 111

L. M. Krasnykh, V. V. Smirnov, G. F. Vasilenko, O. A. Goroshko, E. A. Egorenkov, V. I. Zozina
Differences in the pharmacokinetics of ibuprofen in mono- and multi-component drugs 117

GENERAL AND TOPICAL ARTICLES

K. A. Koshechkin, E. M. Rychikhina
Information technologies as a tool of pharmaceutical data management 122

D. M. Manuilov
Implementation of efficient quality management systems in organizations engaged in preclinical
and clinical trials and pharmacovigilance 126

Mass media registration certificate:
ПИ № ФС77-53169 of March 14, 2013
© The Bulletin of the SCEEMP
Address: Petrovsky boulevard 8, bld. 2,
Moscow 127051
Tel: +7 (495) 234-61-06, ext. 63-33; 63-34
E-mail: vedomosti@expmed.ru
<http://vedomosti.regmed.ru>

Passed for printing 29.05.2017.
Format 60×90/8.
Printed sheets: 8,5
Enamel-paper. Offset printing.
Order № VED-1(17).
Printed in Folium Publishing Company
157, Dmitrovskoe sh., Moscow, P.O. Box 42, 127238

Методологические подходы к выбору методов установления подлинности лекарственных средств

А. И. Лутцева¹, Т. Н. Боковикова¹, В. А. Яшкир¹, Л. А. Стронова¹, Н. Е. Кузьмина¹,
М. В. Агапкина¹, Л. И. Панова¹, Е. Н. Попова¹, Н. В. Гадасина¹, Л. Н. Буланова¹,
В. И. Прокофьева²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
127051, Российская Федерация, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет),
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Статья поступила 14.03.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Представлен обзор основных селективных и неселективных методов физического, химического и физико-химического анализа, используемых при подтверждении подлинности лекарственных средств и различающихся по селективности, чувствительности, информативности, пробоподготовке, доступности. Показано, что выбор методов исследования зависит от химических, физических и физико-химических свойств определяемых веществ, типа лекарственного средства (фармацевтическая субстанция или лекарственная форма). Рассмотрен комплексный подход, основанный на использовании нескольких методов анализа, по совокупности результатов которых подтверждается идентичность лекарственного средства.

Ключевые слова: лекарственные средства; контроль качества; установление подлинности; физические методы анализа; химические методы анализа; физико-химические методы анализа.

Библиографическое описание: Лутцева АИ, Боковикова ТН, Яшкир ВА, Стронова ЛА, Кузьмина НЕ, Агапкина МВ, Панова ЛИ, Попова ЕН, Гадасина НВ, Буланова ЛН, Прокофьева ВИ. Методологические подходы к выбору методов установления подлинности лекарственных средств. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 71–76.

Обеспечение качества лекарственных средств (ЛС) является актуальной задачей практической фармации, решение которой неразрывно связано со стандартизацией ЛС и последующим контролем их качества. Подтверждение идентичности действующего или вспомогательного вещества в анализируемом ЛС осуществляется на основе требований фармакопеи или другой нормативной документации (НД). Для этой цели используются различные физические, химические и физико-химические методы анализа, которые составляют две основные группы: селективные и неселективные методы. Селективные методы идентифицируют анализируемое соединение как единое целое, являются более информативными и надежными, но при проведении единичных анализов требуют больших материальных затрат. Неселективные методы основаны на идентификации отдельных ионов и функциональных групп молекул, обуславливающих фармакологическую активность ЛС, не требуют использования дорогостоящего уникального оборудования, поэтому получили более широкое распространение в фармацевтическом анализе.

Неселективным методом подтверждения подлинности является химический метод — проведение качественных реакций. Представленные в фармакопеях общие качественные реакции на подлинность, в зависимости от природы открываемой группы, делятся на реакции на катионы, анионы и органиче-

ские функциональные группы. При выборе качественных реакций учитываются их чувствительность (в Государственной фармакопее Российской Федерации XIII изд. [1] указана оптимальная чувствительность определяемого иона в мг), растворимость испытуемого образца в используемом растворителе, возможность влияния вспомогательных веществ. В НД должны быть приведены подробные методики проведения испытания, методики приготовления растворов реактивов или даны соответствующие ссылки. Следует отметить, что в органических соединениях функциональные группы молекул часто оказывают влияние друг на друга, это может привести к значительному изменению эффекта реакции, характерного для данной группы.

Визуальные методы — оценка агрегатного состояния, окраски вещества, формы кристаллов и растворимости также относятся к неселективным методам и используются для подтверждения подлинности фармацевтических субстанций (ФС).

Для определения подлинности ЛС используется спектрофотометрия в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях спектра. Данный метод анализа не является селективным, так как подтверждает присутствие в исследуемом соединении лишь отдельных функциональных групп, обуславливающих характерные полосы на соответствующем спектре поглощения.

Спектрофотометрические испытания проводятся в заданном интервале длин волн, как правило, в юветах с толщиной слоя 1 см (если нет других указаний в НД), при температуре 20 ± 1 °С по сравнению с тем же растворителем или той же смесью растворителей [1] (оптически прозрачных в заданной области длин волн). На полученном спектре определяются максимумы и минимумы, плечи и точки перегиба (в НД должны быть указаны характерные длины волн); в некоторых случаях устанавливаются характерные полосы поглощения на спектрах растворов разных концентраций в различных растворителях. Подлинность подтверждается при сравнении спектров поглощения испытуемого раствора со спектром стандартного раствора (концентрации определяемых веществ в них должны совпадать) или при сравнении с данными НД (расхождение между наблюдаемыми и указанными величинами длин волн обычно не должно превышать ± 2 нм) [1]. Сопоставление УФ-спектров испытуемого и стандартного растворов иногда проводят и при установлении подлинности методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием диодно-матричного детектора.

В отдельных НД для подтверждения подлинности предусмотрено определение удельного показателя поглощения, в этом случае указывается допустимый интервал значений данной величины.

Селективные методы установления подлинности можно разделить на косвенные (в этом случае ФС идентифицируют по определенному физическому свойству — температуре кипения, вязкости, величине оптического или удельного вращения, адсорбционной способности и т.д.) и прямые (определяют наличие структурных фрагментов и последовательность их соединения в молекуле ЛС).

Для оптически активных веществ широко используют метод, основанный на способности оптически активных соединений вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света. Оптическая активность вещества характеризуется величиной удельного вращения $[\alpha]$, которая изменяется в зависимости от температуры и длины волны света. Определение данной величины проводится в монохроматическом свете при температуре 20 °С.

В зависимости от природы оптически активного вещества вращение имеет различное направление и величину, которая зависит от используемого растворителя, длины пути поляризованного света в чистом веществе или растворе (раствор не должен содержать других оптически активных соединений) и длины волны света [2].

В НД, как правило, указывают растворитель и выбранную для измерения концентрацию раствора, толщину слоя, а также длину волны определения. В большинстве случаев используют длину волны линии D спектра натрия 589,3 нм, значительно реже — зеленую линию спектра ртути с длиной волны 546,1 нм [1].

Важным способом подтверждения подлинности большинства ФС является температура плавления — постоянная величина для индивидуального вещества

(содержание небольшого количества примесей, как правило, снижает ее, что позволяет судить и о степени чистоты ФС). Подтвердить подлинность исследуемого соединения можно пробой смешанного плавления со стандартным образцом (СО). Требования к температуре плавления приводятся в виде интервала температур, так как в ЛС допускается некоторое содержание посторонних примесей.

Для оценки подлинности жидких ЛС, имеющих вязкую консистенцию (вазелин, глицерин, масла), используется такая физическая константа, как вязкость: кинематическая или динамическая. Кинематическая вязкость определяется с помощью капиллярных вискозиметров и выражается в виде относительной вязкости (κ вязкости воды). Динамическая вязкость определяется с помощью ротационных вискозиметров.

Наиболее распространенными селективными косвенными методами подтверждения подлинности ЛС являются хроматографические методы (как правило, определение проводится одновременно с оценкой количественного содержания и посторонних примесей). ВЭЖХ, ультра-ВЭЖХ, газовая хроматография предусматривают установление соответствия времен удерживания основных пиков на хроматограммах испытуемого и стандартного растворов. Подтверждение подлинности методом тонкослойной хроматографии проводят при сравнении основных зон адсорбции на хроматограммах испытуемого и стандартного растворов в УФ-свете, при дневном свете или после обработки проявляющими реагентами. Сравнение проводят по положению (величине R_f) пятен или полосы, цвету, размеру и интенсивности окраски (при хроматографировании разных количеств анализируемого вещества и СО проводят сравнение по положению пятен). Условия хроматографирования и способ детектирования должны быть подробно описаны в НД.

Распространенным прямым селективным методом идентификации ЛС является метод спектрометрии в инфракрасной (ИК) области — наличие определенных функциональных групп фиксируют по поглощению в средней ИК-области в интервале от 4000 до 400 см^{-1} (в случае использования метода нарушенного полного внутреннего отражения — от 4000 до 650 см^{-1}) [1]. Например, полосы в области 3251–3217 см^{-1} соответствуют валентным колебаниям связи N–H замещенной амино-группы; карбонильная группа идентифицируется полосой в области 1750–1706 см^{-1} ; колебания связей C–H регистрируют в области 1227–741 см^{-1} [3–5]. Метод определения и заданный интервал поглощения должны быть указаны в НД.

Подтверждение подлинности методом спектрометрии в ИК-области проводят путем сравнения полученного спектра с представленным рисунком или со снятым в тех же условиях ИК-спектром СО (в некоторых случаях может потребоваться дополнительная пробоподготовка — отделение действующего вещества от вспомогательных веществ или выделение основной части молекулы). СО должен быть фармакопейного качества или стандартизован как первичный [6]. Сравнение с рисунком ИК-спектра имеет

ряд недостатков, так как не всегда наблюдается полное соответствие полос поглощения из-за разной чувствительности приборов и отличий в условиях пробоподготовки и получения ИК-спектра.

Разновидностью метода спектрометрии в ИК-области является метод Рамановской спектрометрии. Рамановский спектр или спектр комбинационного рассеяния (КР) возникает при облучении вещества монохроматическим лазерным излучением ультрафиолетового или видимого диапазона (диапазон длин волн от УФ до ближней ИК-области), при этом молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет в интервале от 2 до 4000 см^{-1} [1].

Спектры КР очень чувствительны к природе химических связей как в органических молекулах и полимерных материалах, так и в кристаллических решетках и кластерах, что обуславливает индивидуальность спектра конкретного вещества [1]. По этой причине каждое определяемое вещество, каждый материал обладают своим собственным, индивидуальным КР-спектром, который является для него аналогом «отпечатка пальцев» [7].

Преимуществом данного метода является возможность бесконтактного анализа твердых, жидких и газообразных веществ в стеклянной и пластиковой упаковке [1], что позволяет проводить качественный анализ, не разрушая и не изменяя структуру анализируемого образца, исключая риск контаминации [7].

В последние десятилетия в фармацевтический анализ активно внедряются современные прямые селективные методы установления подлинности, характеризующиеся большей информативностью, экспрессностью и достоверностью — спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и хромато-масс-спектрометрия [8]. Характерной особенностью этих методов является возможность установления подлинности без использования эталонов и внутренних стандартов.

Метод ЯМР-спектроскопии основан на поглощении радиочастотного электромагнитного излучения ядрами образца с ненулевым магнитным моментом, помещенного в постоянное магнитное поле [1], не требует сложной подготовки (особенности агрегатного состояния, дисперсность, элементный состав, молекулярно-массовое распределение и другие характеристики системы не препятствуют получению ЯМР-спектров) [9]. Идентификация органического соединения осуществляется путем анализа величин химических сдвигов (δ), мультиплетности (m), констант спин-спинового взаимодействия (J) и интегральных интенсивностей (I) пиков. Для установления подлинности смеси веществ и образцов нестехиометрического состава (например, природных полимеров) используют ЯМР-спектр, как «отпечаток пальца» объекта, без детализации значений δ и мультиплетности отдельных сигналов [1, 9].

Возможности метода ЯМР-спектроскопии позволяют устанавливать подлинность широкого круга как индивидуальных соединений различной степени сложности (включая конформеры и стереоизомеры), так и сложных смесей без физического разделения компонентов.

Метод масс-спектрометрии основан на прямом измерении отношений массы к числу элементарных положительных и отрицательных зарядов ионов (m/z) испытуемого вещества в газовой фазе. Данный метод позволяет определять массу молекулы — как единого целого, так и массу отдельных структурных фрагментов [1]. Благодаря высочайшей чувствительности и уникальной избирательности масс-спектрометров данный метод позволяет определять компоненты ЛС в сложных смесях даже при низком содержании определяемых веществ [10].

В аналитической практике для ускорения процесса идентификации ФС и компонентов ЛС методами ЯМР-спектроскопии или хромато-масс-спектрометрии предусматривается не самостоятельная интерпретация спектральных данных, а сравнение спектров исследуемого образца со спектром СО или спектральными данными, приведенными в НД или аналитических базах [11].

Для подтверждения подлинности ЛС, содержащих в своем составе один или несколько элементов (мультивитамины, растворы для инфузий и гемофильтрации, контрастные вещества для томографии и рентгенологии и т.д.), используют прямые селективные методы элементного анализа — атомно-абсорбционную спектрометрию (ААС), атомно-эмиссионную спектрометрию с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС), масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС), рентгеновскую флуоресцентную спектрометрию (РФС). В случае использования метода ААС при пропускании света с определенной длиной волны (190–850 нм) через слой атомных паров пробы атомы поглощают энергию света и переходят из невозбужденного (основного) состояния в возбужденное, при этом в атомных спектрах наблюдаются так называемые резонансные линии, характерные для данного элемента. Метод ИСП-АЭС основан на измерении излучения элементами пробы, помещенной в индуктивно связанную плазму с температурой до 10000 К, что обеспечивает полную атомизацию элементов. В случае использования метода ИСП-МС полученные однозарядные ионы элементов пробы разделяются в квадрупольном масс-спектрометре в соответствии с отношением массы иона к заряду. Выбор использования этих методов определяется их преимуществами и недостатками. Метод ААС прост в эксплуатации и относительно недорог, к его недостаткам относятся одноэлементный анализ, низкая чувствительность (для большинства элементов), ограниченное количество определяемых элементов, узкий динамический диапазон измерения (до 6 порядков), а также необходимость применения дополнительных присадок для улучшения процесса ионизации.

Метод ИСП-АЭС является многоэлементным методом и характеризуется высокой производительностью с широким динамическим диапазоном измерения (до 10 порядков) и чувствительностью — 1 ppb для большинства элементов. К недостаткам метода относится большее число спектральных интерференций по сравнению с ИСП-МС. Для метода ИСП-МС характерны исключительные возможности по многоэлементному анализу, включая изотопный анализ,

высокая производительность с широким динамическим диапазоном измерения (до 11 порядков) и низкими пределами обнаружения (до 10^{-10} %) [12].

Метод РФС предусматривает анализ спектра, возникающего при облучении исследуемого материала рентгеновским излучением. При облучении рентгеновскими лучами каждый атом испускает фотон с энергией строго определенного значения (например, железо испускает фотоны $K\alpha = 6,4$ кэВ), по энергии и количеству фотонов судят о строении вещества. Данный метод может быть использован для определения элементов от бериллия (№ 4) до урана (№ 92) в диапазоне от долей ppm до 100 % в веществах и материалах различного происхождения. Погрешность РФС варьируется в пределах 0,2–3 %.

В случае наличия полиморфизма у кристаллических ФС терапевтической эффективностью и безопасностью обладает, как правило, только определенная полиморфная форма. В этом случае установление подлинности сопряжено с исследованием полиморфных модификаций и оценкой степени кристаллическости отдельных партий субстанций. Наиболее часто для решения этой задачи используется метод рентгенофазового анализа (РФА). Метод РФА основан на получении и последующем анализе дифракционной картины рентгеновских лучей, рассеянных электронами атомов облучаемого поликристаллического образца. Рентгенограмма для каждой полиморфной модификации вещества строго индивидуальна. Подтверждение подлинности осуществляется при сравнении рентгенограммы испытуемого и стандартного образцов. Метод также допускает оценку количества кристаллических фаз в смеси [13].

Анализ фармакопейных методов подтверждения подлинности, представляющих собой комплекс химических, физических и физико-химических методов, показал их различия по селективности, чувствительности, информативности, пробоподготовке, доступности и т.д. Выбор методов исследования зависит от химических, физических и физико-химических свойств определяемых веществ, типа ЛС (ФС или лекарственная форма). Основным методологическим принципом установления подлинности ЛС является комплексный подход, заключающийся в использовании нескольких методов анализа, совокупность ре-

зультатов которых позволяет сделать надежное заключение об идентичности ЛС [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml>.
2. Поляриметрия. Медицинская энциклопедия Medical-Enc.ru. Available from: <http://www.medical-enc.ru/m/15/polyarimetriya.shtml>.
3. Жирникова ЕЮ, Кунавина ЕА. ИК-спектроскопическое исследование препарата «диклофенак» различных производителей. Вестник Оренбургского государственного университета 2015; 10(185): 289–90.
4. Преч Э, Бюльманн Ф, Аффельтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных. М.: Мир; 2012.
5. Сильверштейн Р, Вебстер Ф, Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2012.
6. Меркулов ВА, Саканян ЕИ, Волкова РА, Климов ВИ, Шемерякина ТБ, Яшкир ВА. Фармакопейные стандартные образцы и практика их применения в отечественной системе стандартизации лекарственных средств. Химико-фармацевтический журнал 2016; 50(4): 40–3.
7. Рамановская спектроскопия [Интернет]. Available from: <https://goo.gl/bXAiol>.
8. Цындымеев АГ, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Саканян ЕИ. Российская фармакопейная практика и перспективы ее развития. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (2): 4–7.
9. Моисеев СВ, Крылов ВИ, Кузьмина НЕ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Использование метода ЯМР-спектроскопии в фармакопейном анализе. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (2): 53–7.
10. Смирнов ВВ, Игнатов АА, Кузина ВН, Дементьев СП, Раменская ГВ. Использование масс-спектрометрии в стандартизации препаратов аллергенов. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; (3): 166–71.
11. Кутин АА, Мастеркова ТВ, Яшкир ВА, Меркулов ВА, Ваганова ОА. Хромато-масс-спектрометрия: использование для идентификации лекарственных субстанций и примесей. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2013; (2): 12–5.
12. Забокрицкий МП, Сабуров ВВ. Критерии выбора спектрального метода применительно к анализу микроэлементов в биологических объектах. Микроэлементы в медицине 2014; 15(4): 29–38.
13. Кузьмин ВС, Чернышев ВВ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Рентгеновская порошковая дифрактометрия. Практическое применение в экспертизе лекарственных средств. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2015; (2): 13–6.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
 Лутцева Анна Ивановна. Зам. начальника Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.
 Боковой Татьяна Николаевна. Начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р фарм. наук.
 Яшкир Вадим Анатольевич. Начальник лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук.
 Стронова Лариса Александровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.
 Кузьмина Наталья Евгеньевна. Главный эксперт лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р хим. наук.
 Агапкина Маргарита Васильевна. Эксперт 1-й категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.
 Панова Людмила Ивановна. Главный эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.
 Попова Елена Николаевна. Эксперт 1-й категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

Гадасина Наталья Вячеславовна. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

Буланова Людмила Николаевна. Эксперт 1-й категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет). Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, д. 8, стр. 2.

Прокофьева Вера Ивановна. Профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии, д-р фарм. наук, проф.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Боковикова Татьяна Николаевна; Bokovikova@expmed.ru

METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE CHOICE OF IDENTIFICATION TEST METHODS FOR MEDICINES

A. I. Lutseva¹, T. N. Bokovikova¹, V. A. Yashkir¹, L. A. Stronova¹, N. E. Kuzmina¹, M. V. Agapkina¹,
L. I. Panova¹, E. N. Popova¹, N. V. Gadasina¹, L. N. Bulanova¹, V. I. Prokofieva²

¹ Federal State Budgetary Institution

«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»

of the Ministry of Health of the Russian Federation,

Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation

² Federal State Autonomous Budgetary Educational Institution of Higher Education

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health

of the Russian Federation, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation

Abstract: The article summarises the main selective and non-selective methods of physical, chemical and physico-chemical analysis which are used in medicines identification testing and which differ in selectivity, sensitivity, informative value, sample preparation, and availability. The article demonstrates that the choice of methods is governed by chemical, physical and physico-chemical properties of medicines and the type of medicine (whether it is a substance or a finished dosage form). The article describes a complex approach based on the use of several analytical methods, the cumulative results of which are used to support medicines identification.

Key words: medicines; quality control; identification testing; physical methods of analysis; chemical methods of analysis; physico-chemical methods of analysis.

For citation: Lutseva AI, Bokovikova TN, Yashkir VA, Stronova LA, Kuzmina NE, Agapkina MV, Panova LI, Popova EN, Gadasina NV, Bulanova LN, Prokofieva VI. Methodological approaches to the choice of identification test methods for medicines. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 71–76.

REFERENCES

1. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 1–3. Moscow; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
2. Polarimetry. Medical Encyclopedia Medical-Enc.ru. Available from: <http://www.medical-enc.ru/m/15/polyarimetriya.shtml> (in Russian).
3. Zhirkov EYu, Kunavina EA. IR spectroscopic study of the drug «diclofenac» different manufacturers. Vestnik of the Orenburg State University 2015; 10(185): 289–90 (in Russian).
4. Prech E, Byulmann F, Affolter K. Structure determination of organic compounds: tables of spectral data. Moscow: Mir; 2012 (in Russian).
5. Silverstein R, Webster F, Kiml D. Spectrometric identification of organic compounds. Moscow: BINOM; 2012 (in Russian).
6. Merkulov VA, Sakanyan EI, Volkova RA, Klimov VI, Shemeryankina TB, Yashkir VA. Pharmacopoeia standard samples and their practical application in the national drug standardization system. Pharmaceutical Chemistry Journal 2016; 50(4): 40–3 (in Russian).
7. Raman spectroscopy [Internet]. Available from: <https://goo.gl/bXAiol> (in Russian).
8. Tsyndymeev AG, Olefir YuV, Merkulov VA, Sakanyan EI. Russian pharmacopoeial practices and the prospects for future development. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016; (2): 4–7 (in Russian).
9. Moiseev SV, Krylov VI, Yashkir VA, Merkulov VA. The use of NMR-spectroscopy in pharmacopoeial analysis. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016; (2): 53–7 (in Russian).
10. Smirnov VV, Ignatov AA, Kuzina VN, Dementiev SP, Ramenskaya GV. Mass spectrometry methods for standartization of allergenic preparations. BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment 2016; (3): 166–71 (in Russian).
11. Kutin AA, Masterkova TV, Yashkir VA, Merkulov VA, Vaganova OA. UPLC/MS/MS method for identification of drug substances and impurities. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2013; (2): 12–5 (in Russian).
12. Zabokritsky MP, Saburov VV. Criteria of spectral method selecting as regards trace element analysis in biological objects. Trace Elements in Medicine 2014; 15(4): 29–38 (in Russian).
13. Kuzmin VS, Chernyshev VV, Yashkir VA, Merkulov VA. X-ray powder diffraction. The practical application of the method in the pharmaceutical expertise. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2015; (2): 13–6 (in Russian).

AUTHORS

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

Lutseva AI. Deputy head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Bokovikova TN. Head of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 1 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Yashkir VA. Head of the Laboratory of Nanodrugs, Cell and Gene Therapy Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Chemical Sciences.

Stronova LA. Chief expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 1 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Kuzmina NE. Chief expert of the Laboratory of Nanodrugs, Cell and Gene Therapy Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Doctor of Chemical Sciences.

Agapkina MV. 1st professional category expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 1 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality.

Panova LI. Chief expert of Division No. 1 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products.

Popova EN. 1st professional category expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 1 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality.

Gadasina NV. Leading expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 1 of Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality.

Bulanova LN. 1st professional category expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 1 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Chemical Sciences.

Federal State Autonomous Budgetary Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation.

Prokofjeva VI. Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

CONTACT E-MAIL

Bokovikova Tatyana Nikolaevna; Bokovikova@expmed.ru

Перенос (трансфер) методик, параметры валидации/верификации

С. И. Кулешова

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

Статья поступила 14.03.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Рассмотрены аспекты переноса аналитических методик на основе зарубежных и отечественных рекомендаций. Обоснована необходимость адекватного воспроизведения методов анализа лекарственных средств в испытательных лабораториях, которые впервые вводят конкретную аналитическую процедуру для достоверной оценки качества препаратов и субстанций. Описаны условия успешного переноса аналитических методик, способы переноса аналитических процедур, случаи, когда в процедуре по переносу методик нет необходимости, параметры валидации/верификации при проверке пригодности методики в условиях конкретной лаборатории. Приведены примеры валидационных характеристик при верификации фармакопейных методик, выбор которых зависит от типа методики и показателя качества.

Ключевые слова: аналитическая методика; лекарственное средство; перенос (трансфер) методики; валидация; верификация; передающая лаборатория; принимающая лаборатория; параметры валидации/верификации.

Библиографическое описание: Кулешова СИ. Перенос (трансфер) методик, параметры валидации/верификации. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 77–80.

Одним из важнейших условий безопасного и эффективного применения препаратов является их высокое качество. Для достоверной оценки качества лекарственных средств используются аналитические методики, которые позволяют адекватно определять качественные и количественные характеристики анализируемых препаратов и субстанций в соответствии с установленными стандартами. Основное требование к контролю качества лекарственных средств — это проведение испытаний аттестованными (валидованными) методами [1]. При этом особое внимание уделяется методикам, рекомендованным для проведения испытаний по показателям «Количественное определение», «Родственные примеси», «Растворение» и т.п., то есть методикам, оценивающим количественное содержание основного действующего вещества и других нормируемых компонентов. Аттестованные методики удовлетворяют определенным критериям — показателям специфичности, точности, правильности, прецизионности (повторяемость и воспроизводимость) [2, 3]. Все перечисленные параметры оцениваются в процессе валидации методики, экспериментального подтверждения ее пригодности для решения предполагаемых задач [3]. Аттестованные методики используются при оценке качества лекарственных средств при выпуске в обращение и в течение срока годности не только в лаборатории, разработавшей определенную аналитическую процедуру, но и в производственных лабораториях, и в лабораториях регуляторных органов, аккредитованных на данный вид деятельности. В этой связи в настоящее время уделяется большое внимание переносу или трансферу аналитических методик. Под трансфером аналитических методик понимают документированный процесс передачи аналитических процедур, разработанных или используемых в передающей лаборатории, в другую лабораторию с целью точного и адекватного их применения. Процедура переноса методики является неотъемлемой частью процесса пере-

дачи технологического процесса производства лекарственных средств [4].

Другим аспектом трансфера методик является проведение анализов валидованными методиками в испытательных лабораториях, проводящих оценку качества препарата на соответствие требованиям нормативной документации. В этом случае рекомендуется провести проверку (верификация пригодности) для подтверждения пригодности использования конкретной методики при существующих условиях ее выполнения в определенной лаборатории [5].

Целью настоящей работы является анализ ряда актуальных аспектов переноса аналитических процедур на основе отечественных и зарубежных рекомендаций.

Определены несколько необходимых условий процедуры для успешного переноса аналитической процедуры [4, 6–8].

1. Перенос методик осуществляется только в том случае, если методика валидована в полном объеме в зависимости от типа выполняемого анализа, приведена с достаточной полнотой, детально описана таким образом, чтобы аналитик мог выполнить испытание без затруднений и получить результаты с установленными критериями приемлемости. Документ, описывающий методику анализа, должен содержать подробное и четкое описание всех частей пробоподготовки, условия проведения, вычисление результатов, количество параллельных определений, требования к оборудованию, средствам измерений, реактивам и материалам.

2. Необходимо наличие протокола трансфера методики, что особенно важно для промышленных лабораторий перед внедрением любого метода. Протокол должен быть тщательно продуман и согласован с лабораторией, передающей методику и принимающей данный метод анализа. Он должен детально описывать всю процедуру переноса, общий процесс передачи, с указанием целей, объемов трансфера методики, обязанностей передающей и принимающей

лабораторий, управление процедурами при отклонении от условий передачи. Также в протоколе должны быть указаны материалы и инструменты, критерии приемки для методов, включенных в объем переноса. Протоколы могут включать описание образцов лекарственных средств, стандартных образцов, критических реагентов, листов безопасности. Подробный документ, регламентирующий передачу аналитической процедуры, должен быть одобрен принимающей лабораторией.

3. Для обеспечения воспроизводимости впервые вводимой методики принимающая лаборатория должна быть оснащена необходимым оборудованием, поверенным и откалиброванным. Наличие квалифицированного персонала также является непременным условием успешного трансфера.

4. Процедура переноса должна включать наличие четких критериев приемлемости результатов, которые могут быть основаны как на статистических параметрах, например, сравнение RSD, рассчитанных для результатов, полученных в разных лабораториях, так и на оценке отдельных валидационных параметров (верификация методики). Анализ результатов сравнительных испытаний предполагает математические доказательства, что полученные данные эквивалентны и различия статистически незначимы. Для этой цели некоторые авторы рекомендуют использовать *t*-критерий Стьюдента [8].

Случаи, когда в процедуре переноса методик нет необходимости, подробно описаны в монографии USP [7]:

- состав препарата и/или концентрация действующего вещества аналогичны лекарственным средствам, анализируемым в принимающей лаборатории. Вновь вводимые лекарственные средства анализируются с помощью аналитических процедур, опыт работы с которыми лаборатория уже имеет;
- передаваемая методика аналогична уже используемой в лаборатории;
- сотрудники, занимающиеся разработкой аналитической методики или проводящие рутинный анализ, перемещаются в принимающую лабораторию;
- трансфер фармакопейных методик. В этом случае применяется верификация.

В литературе описано несколько способов переноса аналитических процедур. Прежде всего, это проведение совместной валидации двумя лабораториями на основе предварительно утвержденного протокола с указанием критериев приемлемости, при этом на основе полученных результатов оценивается воспроизводимость методики [7, 8]. В ряде случаев, когда аналитическая процедура уже аттестована, наиболее приемлемым является совместное тестирование [4, 7], то есть проведение испытаний в передающей и принимающей лабораториях с использованием одних и тех же образцов, специально отобранных от производственных партий или специально подготовленных. Образцы должны быть с точно известным содержанием примесей.

В Руководстве ВОЗ [4] даны рекомендации по проведению совместных испытаний для ряда тестов. Например, для теста «Количественное определение» от каждой лаборатории, передающей и принимающей, предлагается участие двух аналитиков, проведение анализа в трех повторностях на образцах лекарственного средства трех серий. Каждый аналитик должен проводить испытание на оборудовании конкретной лаборатории, с использованием определен-

ных колонок и реактивов. В качестве прямого критерия приемлемости рекомендовано сравнение средних и валидационных характеристик, для статистической обработки результатов – оценка по *t*-критерию Стьюдента ($t\text{-test}$) $\leq 2\%$ при доверительном интервале 95 %. В случае параллельного анализа по показателю «Растворение» исследование проводится на шести или двенадцати единицах от серии (двенадцать единиц используются, если для сотрудников лаборатории, внедряющей данную методику, она не является рутинной и если анализируется препарат с пролонгированным высвобождением). Среднее значение, полученное в принимающей лаборатории, не должно отличаться более чем на $\pm 5\%$ от среднего значения, полученного в лаборатории, передающей методику. Кроме того, рекомендуется сравнивать профили растворения с использованием коэффициента подобия f_2 и результаты высвобождения действующего вещества в среду растворения на определенный момент времени. Для корректной оценки трансфера аналитической процедуры определения различных примесей (продуктов деградации действующего вещества и/или остаточных количеств органических растворителей) при сравнительных испытаниях сравниваются хроматограммы, факторы отклика примесей, рассчитанные относительно пика действующего вещества, пределы количественного определения в принимающей лаборатории. От каждой лаборатории анализ выполняется двумя аналитиками на образцах трех серий в двух повторностях; если испытание проводится одновременно с количественных определением, рекомендуются три повторности. Испытания проводятся в разные дни на аналогичном оборудовании, при этом образцы должны быть идентичны по сроку годности, упаковке и условиям хранения. Критерии приемлемости: прямые – средние результаты в принимающей лаборатории не должны отличаться более чем на $\pm 25\%$ от значений, полученных в лаборатории, передающей методику при невысоком нормировании примесей, при нормах более 5 % разница в полученных результатах не должны превышать $\pm 0,05\%$. Статистические критерии используются при достаточно высоком нормировании веществ, рассматриваемых в качестве примесей. Проводится сравнение с использованием критерия Стьюдента ($t\text{-test}$) с нормой не более 10 % при 95 % доверительном интервале.

Воспроизведение валидированных методик, в том числе и фармакопейных, также считается переносом аналитической процедуры в конкретную лабораторию, в этом случае рекомендуется проводить верификацию, так как предполагается, что ранее проведена валидация в полном объеме [5–7]. При этом необходимо учитывать, что фармакопейная методика валидирована в строгом соответствии с определенной монографией конкретной фармакопеи при применении строго заявленных стандартных образцов, примеси регламентируются в полном соответствии с монографией, методика детально описана. Такие методики попадают в категорию «Формальной валидации не требуется». Однако, необходимо иметь в виду, что методика разработана для конкретной лекарственной формы, и во многих случаях отсутствует указание о количественном составе вспомогательных веществ, которые могут влиять на анализ при оценке действующего вещества [5, 7]. В документе Европейского директора по качеству лекарственных средств для медицинского применения [5] проведе-

ны рекомендации по верификации фармакопейных методик и методик «первого» производителя, которые будут использоваться для контроля продуктов испытательными лабораториями. Приведены параметры валидации для аналитических методик, используемых при оценке качества фармацевтических субстанций и препаратов. Так, при верификации официальной (фармакопейной) методики и при воспроизведении методики производителя в испытательной лаборатории, применяемой для теста «Родственные примеси», предлагается определять следующие валидационные характеристики: специфичность (отсутствие влияния вспомогательных веществ и предел количественного определения примесей). Для теста «Количественное определение» — специфичность, правильность (извлечение, как минимум, одно определение), сходимость (анализ испытуемого образца для определения предполагаемой концентрации при, как минимум, двух испытаниях), линейность (на 3-х точках в диапазоне ожидаемых концентраций). В случае использования фармакопейной методики производителем субстанции необходимо доказать, что профиль примесей идентичен заявленному в монографии на конкретную субстанцию, если профили примесей отличаются, что может быть обусловлено особенностями технологического процесса, необходимо проведение валидации в полном объеме. Основным фактором, влияющим на объем валидации, при использовании для контроля лекарственного препарата методики, разработанной для фармацевтической субстанции, является состав вспомогательных веществ, и его влияние на специфичность аналитической процедуры. Верификация таких методик проводится по параметрам: для показателя «Родственные примеси» — специфичность, прецизионность/правильность в рабочем диапазоне методики, для показателя «Количественное определение» — специфичность (отсутствие влияния вспомогательных веществ), правильность в диапазоне

предполагаемой концентрации, сходимость, линейность на трех точках в диапазоне ожидаемой концентрации.

Таким образом, адекватный перенос аналитических методик гарантирует стабильность и подконтрольность процесса получения результатов анализа, позволяет лаборатории, ранее не применявшей конкретную методику анализа, освоить процедуру проведения испытания в полной мере с целью достоверной оценки качества лекарственного средства. Выбор способа переноса методики и параметров валидации/верификации зависит типа методики, сложности анализа, задач конкретной лаборатории, осваивающей новую процедуру проведения испытания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ 52249–2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств».
2. PMG 61–2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.; 2010.
3. Общая фармакопейная статья 1.1.0012.15. Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. М.; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml>.
4. World Health Organization WHO Technical Report Series, № 961, 2011. Annex 7. WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing.
5. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. PA/PH/OMCL (05) 47-DEF — OMCL Guideline on Validation of Analytical Procedures. Available from: <https://goo.gl/TLBX9N>.
6. Analytical Procedures and Methods. Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). July 2015. Pharmaceutical Quality/CMC. Available from: <https://goo.gl/3jEAKF>.
7. Monograph 1224. Transfer of analytical procedures. United States Pharmacopoeia. USP 39-NF34, 2016.
8. Scypinski S, Roberts D, Oates M, Etse J. Pharmaceutical Research and Manufacturers Association. Acceptable Analytical Practice for Analytical Method Transfer. Pharmaceutical Technology, March 2002: 84–8.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
Кулешова Светлана Ивановна. Начальник лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Кулешова Светлана Ивановна; Kuleshova@expmed.ru

TRANSFER OF METHODS, AND PARAMETERS OF VALIDATION/VERIFICATION

S. I. Kuleshova

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

Abstract: The article analyses foreign and national recommendations on transfer of methods. It substantiates the need to adequately reproduce test methods that introduce a specific analytical procedure in testing laboratories — in order to be able to give a reliable assessment of the quality of substances and dosage forms. The article gives examples of a successful analytical method transfer, describes ways of transferring analytical procedures, cases when the transfer of method is not needed, and validation/verification parameters that are used to check whether the method is suitable for a particular laboratory. It also gives examples of validation parameters that are used in verification of pharmacopoeial methods, which are chosen based on the type of method and the tested parameter.

Key words: analytical procedure; medicine; transfer of method; validation; verification; sharing laboratory; receiving laboratory; validation/verification parameters.

For citation: Kuleshova SI. Transfer of methods, and parameters of validation/verification. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 77–80.

REFERENCES

1. National Standard of the Russian Federation GOST 52249–2009 «Rules for the production and quality control of medicines» (in Russian).
2. RMG 61 – 2010 State system for ensuring the uniformity of measurements. Accuracy, trueness and precision of quantitative chemical analysis procedures. Assessment methods. Moscow; 2010 (in Russian).
3. General monograph 1.1.0012.15. Validation of analytical procedures. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. Moscow; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
4. World Health Organization WHO Technical Report Series, № 961, 2011. Annex 7. WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing.
5. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. PA/PH/OMCL (05) 47-DEF — OMCL Guideline on Validation of Analytical Procedures. Available from: <https://goo.gl/TLBX9N>.
6. Analytical Procedures and Methods. Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). July 2015. Pharmaceutical Quality/CMC. Available from: <https://goo.gl/3jEAKF>.
7. Monograph 1224. Transfer of analytical procedures. United States Pharmacopoeia. USP 39-NF34, 2016.
8. Scypinski S, Roberts D, Oates M, Etse J. Pharmaceutical Research and Manufacturers Association. Acceptable Analytical Practice for Analytical Method Transfer. Pharmaceutical Technology, March 2002: 84–8.

AUTHORS

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

Kuleshova SI. Head of the Laboratory of Antibiotics of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

CONTACT E-MAIL

Kuleshova Svetlana Ivanovna; Kuleshova@expmed.ru

Применение хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения гидроксикарбамида и мочевины

А. С. Осипов, О. А. Попова, С. Г. Ларионова, Е. Ю. Тимошина

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

Статья поступила 14.03.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Исследовали возможность применения хроматографической колонки XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм) для разделения смеси гидроксикарбамида (гидроксимочевины) и его примеси мочевины. В качестве подвижных фаз применяли смеси ацетонитрила и воды. Разделение анализируемых соединений на амидных колонках в условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий возможно при содержании ацетонитрила в подвижной фазе более 93 %. При хроматографировании на амидной колонке XBridge Amide наблюдалось изменение очередности элюирования гидроксикарбамида и мочевины по сравнению с элюированием на диольных и нитрильных хроматографических колонках. Хроматография смесей мочевины и гидроксикарбамида на данных колонках может быть применена для подтверждения пригодности хроматографической системы при анализе мочевины методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография; жидкостная хроматография гидрофильных взаимодействий; гидроксикарбамид; мочевина; фармакопей.

Библиографическое описание: Осипов АС, Попова ОА, Ларионова СГ, Тимошина ЕЮ. Применение хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения гидроксикарбамида и мочевины. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 81–84.

Гидроксикарбамид (название соединения по Европейской фармакопее), или гидроксимочевину (название по Фармакопее США), применяют в медицинской практике для лечения онкологических заболеваний. Препарат является антиметаболитом. Гидроксикарбамид (ГК) описан в ведущих зарубежных фармакопеях. Для количественного определения ГК применяют хроматографирование на колонках C18, в качестве подвижной фазы наиболее часто используют воду [1] или смесь метанола и воды (5:95) [2]. В Фармакопее США [3, 4] для количественного определения ГК в субстанции и лекарственной форме (капсулы) используют ион-парную хроматографию на колонках C18 (подвижная фаза — смесь буферного раствора с тетрабутиламмония гидросульфатом (рН 5,0) и метанола (85:15)).

В большинстве нормативных документов на зарегистрированные в Российской Федерации препараты ГК контролируется содержание примеси — мочевины (не более 0,5 %). Для этих целей используют либо методику Европейской фармакопеи (ТСХ на пластинках с силикагелем; подвижная фаза — смесь пиридина, воды и этилацетата (2:2:10)), либо методику Британской фармакопеи (ТСХ на пластинках с целлюлозой F; подвижная фаза — смесь уксусной кислоты, воды и бутанола-1 (1:1:4)). В обеих методиках проявляют пластинки солянокислыми растворами диметиламинобензальдегида. Для определения мочевины в субстанции ГК по Фармакопее США применяют нисходящую хроматографию на бумаге (Whatman № 1). Следует отметить, что данный метод весьма длителен и трудоемок и не может быть рекомендован для повседневого, рутинного приме-

нения. В соответствующей монографии Фармакопеи США содержание мочевины в капсулах препарата не регламентировано [4]. Применение метода ВЭЖХ для разделения ГК и мочевины в зарубежных фармакопеях не описано. Необходимо отметить, что в условиях обращенно-фазовой хроматографии ГК и мочевина не разделяются [5]. Ранее была показана возможность применения хроматографических колонок с amino-, диольными и нитрильными сорбентами для разделения смесей ГК и мочевины [5, 6] в условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий (Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography; HILIC). Мочевина и ГК являются амидами угольной кислоты, и исследование разделения данных соединений на хроматографической колонке с амидными функциональными группами может представлять определенный теоретический интерес.

Цель работы — исследование возможности применения хроматографической колонки с амидным сорбентом в условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения ГК и мочевины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на хроматографе Agilent, серии 1100 с диодно-матричным детектором («Agilent Technologies», США). Исследовали колонку с амидным сорбентом XBridge Amide 150×4,6 мм, 3,5 мкм («Waters», Ирландия), колонки с диольными сорбентами: LiChrospher Diol 150×4,0 мм, 5 мкм («MZ-Analysentechnik GmbH», Германия), Inertsil Diol 150×4,0 мм, 5 мкм («GL Sciences Inc», Япония). Детектирование осуществляли при 195 нм. Скорость

потока элюента 1 мл/мин или 0,8 мл/мин (в зависимости от диаметра колонок). Ввод образцов в объеме 10 мкл. В работе использовали данные, полученные на хроматографических колонках Zorbax NH₂ 150×4,6 мм, 5 мкм [5] («Agilent Technologies», США) и Zorbax SB CN 150×4,6 мм, 5 мкм [6] («Agilent Technologies», США). В работе применяли стандартные образцы гидроксикарбамида и мочевины Европейской фармакопеи.

Анализировали препарат Гидроксикарбамид-ЛЭНС, капсулы 500 мг (ОАО «Верофарм», Россия). Подготовка проб: содержимое капсулы (600 мг) растворяли в 50 мл смеси ацетонитрила и воды (1:4), затем разводили ацетонитрилом до концентрации 1 мг/мл. Перед введением в хроматограф все пробы центрифугировали при 11 тыс. об/мин в течение 7 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий свойства колонок с аминокислотными диольными сорбентами могут быть, в зависимости от анализируемых объектов, как близки [7, 8], так и кардинально отличаться от колонок с нитрильными сорбентами [9, 10]. В таблице 1 приведены некоторые результаты хроматографирования модельной смеси стандартных образцов мочевины и ГК на амидной колонке XBridge Amide и диольных колонках LiChrospher Diol и Inertsil Diol. Для сравнения приведены результаты хроматографирования мочевины и

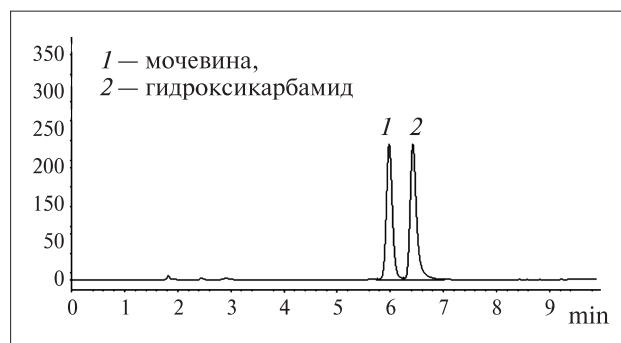


Рис. 1. Хроматограмма смеси стандартных образцов мочевины и гидроксикарбамида. Условия анализа: колонка XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм); подвижная фаза — ацетонитрил–вода (95:5); скорость потока — 1 мл/мин; детектирование 195 нм

ГК, полученные на колонке Zorbax NH₂ [5]. Увеличение времен удерживания мочевины и ГК, а также улучшение их разделения с возрастанием доли ацетонитрила в подвижной фазе указывает, что на данных колонках имеет место нормально-фазовый механизм разделения в жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий (рис. 1). Кроме того, на колонке XBridge Amide меняется очередность элюирования ГК и мочевины (табл. 1, рис. 2) по сравнению с колонками LiChrospher Diol, Inertsil Dio и Zorbax SB CN. На основании этих фактов можно заключить следующее: на амидных и аминсорбентах мочевины

Таблица 1

ВРЕМЕНА УДЕРЖИВАНИЯ (T), ЭФФЕКТИВНОСТЬ И РАЗРЕШЕНИЕ МЕЖДУ ПИКАМИ МОЧЕВИНЫ И ГК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ*

Наименование колонки; состав подвижной фазы, скорость потока	T (мин) мочевины	T (мин) ГК	Эффективность колонки по пику мочевины (теоретические тарелки)	Разрешение между пиками мочевины и ГК
XBridge Amide 150×4,6 мм, 3,5 мкм; ацетонитрил–вода (90:10), 1 мл/мин	4,24	4,43	14610	1,49
XBridge Amide 150×4,6 мм, 3,5 мкм; ацетонитрил–вода (97:3), 1 мл/мин	8,18	9,01	11750	2,62
Zorbax NH ₂ 150×4,6 мм, 5 мкм; ацетонитрил–вода (90:10), 1 мл/мин	3,61	4,09	4670	2,95
Inertsil Diol 150×4,0 мм, 5 мкм; ацетонитрил–вода (97:3), 0,8 мл/мин	7,26	6,03	6980	4,06
Inertsil Diol 150×4,0 мм, 5 мкм; ацетонитрил–вода (98:2), 0,8 мл/мин	8,70	6,68	6370	5,52
LiChrospher Diol 150×4,0 мм, 5 мкм; ацетонитрил–вода (95:5), 0,8 мл/мин	4,27	3,62	11060	5,86
LiChrospher Diol 150×4,0 мм, 5 мкм; ацетонитрил–вода (97:3), 0,8 мл/мин	5,68	3,93	11150	9,11

* Средняя величина пяти определений для каждого условия хроматографирования

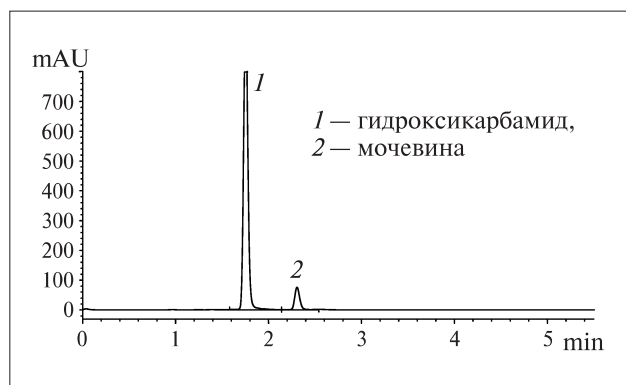


Рис. 2. Хроматограмма препарата «Гидроксикарбамид-ЛЭНС», капсулы 500 мг с добавкой мочевины. Условия анализа: колонка Zorbax SB CN 150×4,6 мм (5 мкм); подвижная фаза — ацетонитрил—вода (93:7); скорость потока — 1 мл/мин; детектирование 195 нм [6]

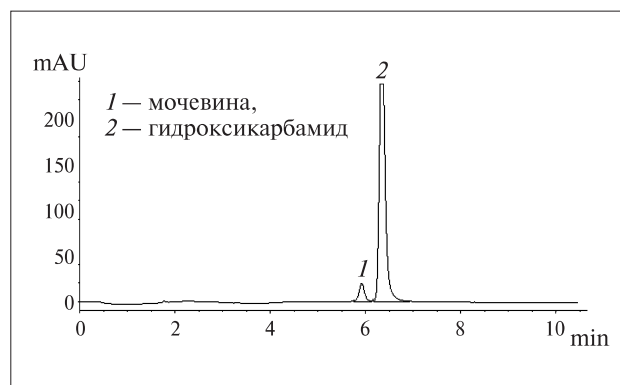


Рис. 3. Хроматограмма препарата «Гидроксикарбамид-ЛЭНС», капсулы 500 мг с добавкой мочевины. Условия анализа: колонка XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм); подвижная фаза — ацетонитрил—вода (93:7); скорость потока — 1 мл/мин; детектирование 195 нм

элюируется с колонки до ГК, на нитрильных и диольных — после ГК.

В ходе исследования было установлено, что препарат Гидроксикарбамид-ЛЭНС содержит около 0,05 % мочевины. Для подтверждения селективности определения к раствору препарата был добавлен стандарт мочевины до концентрации 0,05 мг/мл. Хроматограмма данной искусственной смеси представлена на рисунке 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере колонки XBridge Amide показано, что хроматографические колонки с амидными сорбентами могут быть использованы для определения примеси мочевины в препаратах гидроксикарбамида. В ходе исследования было выявлено, что при анализе гидроксикарбамида амидный сорбент колонки XBridge Amide обладает сходными свойствами с аминсорбентом колонки Zorbax NH₂. Хроматография смесей мочевины и гидроксикарбамида на данных колонках может быть применена для подтверждения пригодности хроматографической системы при анализе мочевины методом ВЭЖХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Monograph: Hydroxycarbamide Capsules. British Pharmacopoeia 2016.

2. Monograph: Hydroxycarbamide. European Pharmacopoeia. 8th ed.
3. Monograph: Hydroxycarbamide. The United States Pharmacopoeia. 39th ed.
4. Monograph: Hydroxyurea Capsules. The United States Pharmacopoeia. 39th ed.
5. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Победин ОА. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для анализа гидроксикарбамида. Разработка и регистрация лекарственных средств 2015; (2): 140–4.
6. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Трухачева ЛА. Применение хроматографической колонки с нитрильным сорбентом для анализа гидроксикарбамида методом ВЭЖХ. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (3): 58–61.
7. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Победин ОА. Применение хроматографической колонки с диольным сорбентом для анализа координационных соединений платины. Химико-фармацевтический журнал 2013; 47(6): 51–3.
8. Осипов АС, Нечаева ЕБ. Применение хроматографических колонок с нитрильными и фенильными сорбентами для анализа координационных соединений платины. Химико-фармацевтический журнал 2014; 48(8): 45–8.
9. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Миронова ММ, Ковалева ЕЛ. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения изомеров бутилгидроксианизола. Химико-фармацевтический журнал 2015; 49(3): 50–2.
10. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Трухачева ЛА. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для анализа органических нитратов. Разработка и регистрация лекарственных средств 2016; (3): 108–11.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
 Осипов Алексей Сергеевич. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2
 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук.
 Попова Ольга Анатольевна. Начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2
 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.
 Ларионова Светлана Геннадьевна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2
 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.
 Тимошина Елена Юрьевна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2
 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Осипов Алексей Сергеевич; Osipov@expmed.ru

HYDROPHYLIC INTERACTION CHROMATOGRAPHY USED FOR SEPARATION OF HYDROXYCARBAMIDE AND UREA

A. S. Osipov, O. A. Popova, S. G. Larionova, E. Yu. Timoshina

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

Abstract: The article investigates the possibility of using the chromatographic column XBridge Amide 150×4.6 mm (3.5 μm) for separation of hydroxycarbamide (hydroxyurea) and its impurity (urea). The mobile phases used were the mixtures of acetonitrile and water. The separation of analytes on an amide column by hydrophilic interaction liquid chromatography is feasible if the proportion of acetonitrile in the mobile phase accounts for more than 93 %. When performing chromatographic separation on the amide column XBridge Amide, a change in the elution order of hydroxycarbamide and urea was observed, as compared to the elution on nitrile and diol columns. This type of columns can be used for chromatographic separation of a mixture of hydroxycarbamide and urea in order to perform system suitability testing when analyzing urea by HPLC.

Key words: high performance liquid chromatography; hydrophilic interaction liquid chromatography; hydroxycarbamide; hydroxyurea; pharmacopoeia.

For citation: Osipov AS, Popova OA, Larionova SG, Timoshina EYu. Hydrophilic interaction chromatography used for separation of hydroxycarbamide and urea. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 81–84.

REFERENCES

1. Monograph: Hydroxycarbamide Capsules. British Pharmacopoeia 2016.
2. Monograph: Hydroxycarbamide. European Pharmacopoeia. 8th ed.
3. Monograph: Hydroxycarbamide. The United States Pharmacopoeia. 39th ed.
4. Monograph: Hydroxyurea Capsules. The United States Pharmacopoeia. 39th ed.
5. Osipov AS, Nechaeva EB, Pobedin OA. Hydrophilic interaction liquid chromatography used for the analysis of hydroxycarbamide. Drug Development and Registration 2015; (2): 140–4 (in Russian).
6. Osipov AS, Nechaeva EB, Truhacheva LA. Chromatographic column with nitrile sorbent used in the analysis of hydroxycarbamide by hydrophilic interaction liquid chromatography. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016; (3): 58–61 (in Russian).
7. Osipov AS, Nechaeva EB, Pobedin OA. Application of a chromatographic column with a diol sorbent for the analysis of platinum coordination compounds. Pharmaceutical Chemistry Journal 2013; 47(6): 51–3 (in Russian).
8. Osipov AS, Nechaeva EB. Application of chromatographic columns with nitrile and phenyl sorbents to the analysis of platinum coordination compounds. Pharmaceutical Chemistry Journal 2014; 48(8): 45–8 (in Russian).
9. Osipov AS, Nechaeva EB, Mironova MM, Kovaleva EL. Use of hydrophilic interaction liquid chromatography to separate butylhydroxyanisole isomers. Pharmaceutical Chemistry Journal 2015; 49(3): 50–2 (in Russian).
10. Osipov AS, Nechaeva EB, Truhacheva LA. Hydrophilic interaction liquid chromatography used for the analysis of organic nitrates. Drug Development and Registration 2016; (3): 108–11 (in Russian).

AUTHORS

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

Osipov AS. Chief expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Popova OA. Head of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality.

Larionova SG. Chief expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Timoshina EYu. Chief expert of the Laboratory of Chemico-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

CONTACT E-MAIL

Osipov Alexey Sergeevich; Osipov@expmed.ru

О допустимых значениях порога игнорирования примесей и отношения сигнал/шум при проверке чувствительности хроматографической системы

Н. А. Эпштейн

Автономное объединение «ШТАДА ФармДевелопмент»,
АО «НИЖФАРМ», 109029, Российская Федерация,
Москва, Автомобильный проезд, д. 6

Статья поступила 02.03.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Рассмотрены актуальные вопросы, связанные с допустимыми значениями порога игнорирования примесей и отношения сигнал/шум при проверке чувствительности хроматографической системы. Даны рекомендации, в том числе по «типичным» и максимально допустимым значениям порога игнорирования примесей. Показано, что требование, согласно которому отношение сигнал/шум должно быть не менее 10, в некоторых случаях является неоправданно жестким: могут иметься достаточно весоные доводы для обоснования меньшего значения отношения сигнал/шум для раствора для проверки чувствительности хроматографической системы, например, в случае идентифицированных примесей, определяемых по отдельной методике, когда пик примеси выходит до пика основного вещества.

Ключевые слова: отношение сигнал/шум; раствор для проверки чувствительности; порог игнорирования примесей; хроматографическая система; фармакопей.

Библиографическое описание: Эпштейн Н.А. О допустимых значениях порога игнорирования примесей и отношения сигнал/шум при проверке чувствительности хроматографической системы. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 85–91.

В настоящее время проверка чувствительности хроматографической системы (ПЧХС) в методиках определения примесей в лекарственных препаратах (ЛП) и субстанциях является обязательной. С этой целью используют специальный раствор для ПЧХС (далее — раствор ПЧХС). При государственной регистрации ЛП и фармсубстанций эксперты требуют: а) чтобы раствор ПЧХС имел концентрацию (относительно испытуемого раствора) на уровне предела неучитываемых примесей/порога игнорирования примесей или на уровне предела количественного определения, и б) чтобы при хроматографировании раствора ПЧХС отношение сигнал/шум (S/N) было не менее 10. В Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания (ГФ РФ XIII) включено развернутое требование к отношению S/N [1]:

— «отношение S/N для пика вещества, полученное для раствора с концентрацией, равной требуемому уровню минимально определяемой концентрации, должно быть не менее 10. Требуемый уровень минимально определяемой концентрации [фактический предел количественного определения (ПКО)] зависит от того, предполагает ли методика вычисление содержания примесей, или только полуколичественную оценку, когда результат представляется в виде «менее X » или «не более X », где X — допустимое содержание примеси. Для методик, предполагающих вычисление содержания примесей, минимальная определяемая концентрация для применяемой хроматографической системы не должна превышать значение порога игнорирования (если не указано иное — 0,05 % относительно концентрации основного вещества в испытуемом растворе). Для полуколичественных методик минимальная определяемая концентрация для применяемой хроматографической системы не должна превышать максимально допустимое содержание примеси. При необходимости оценки со-

держания нескольких примесей требуемый уровень минимально определяемой концентрации для применяемой хроматографической системы определяется примесью, нормы содержания которой наиболее строги. Если в фармакопейной статье не указано иное, то раствор вещества минимально определяемой концентрации для оценки чувствительности детектирования можно приготовить растворением стандартного образца вещества в том же растворителе, который используется для приготовления испытуемого раствора, с уровнем концентрации 0,05 % относительно концентрации основного вещества в испытуемом растворе».

Однако эти требования к ПЧХС не дают ответ на ряд актуальных для практики вопросов:

1) Что представляет собой «порог игнорирования» примесей и на основании каких данных его следует выбирать?

2) Для всех ли методик определения примесей следует использовать раствор ПЧХС?

3) Почему рекомендуется концентрация раствора ПЧХС (минимальная определяемая концентрация) на уровне 0,05 % от концентрации испытуемого раствора, если не указано иное?

4) Каким должно быть требование к S/N при наличии примесей с поправочными коэффициентами?

5) Всегда ли для растворов ПЧХС отношение S/N для пика основного вещества должно быть 10 и выше, или в отдельных обоснованных случаях S/N для пика основного вещества может быть меньше 10, и при этом обеспечивается необходимая (эквивалентная) чувствительность хроматографической системы относительно пиков примесей?

6) Что делать, если на хроматограмме blank имеется небольшой, вариабельный по высоте остаточный пик основного вещества, который практически невозможно полностью удалить?

Цель работы — рассмотрение актуальных вопросов о допустимых значениях порога игнорирования примесей и отношения сигнал/шум при проверке чувствительности хроматографической системы.

ПОРОГ ИГНОРИРОВАНИЯ ПРИМЕСЕЙ И ЕГО ДОПУСТИМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В ГФ РФ XIII при описании требований к отношению S/N используется один из вариантов дословного перевода общепринятого в англоязычной литературе термина «disregard limit» — «порог игнорирования». Однако для адекватного понимания термина «disregard limit» его лучше переводить как «порог игнорирования примесей» или «предел неучитываемых примесей». В Европейской фармакопее (European Pharmacopoeia, Ph. Eur.) приведено наиболее полное определение порога игнорирования примесей: «disregard limit» в хроматографических тестах — номинальное содержание (примеси), при котором или ниже которого пики/сигналы не учитываются при расчете суммы примесей [2, 3]. Количественные значения «disregard limit» и «reporting threshold» обычно одинаковые. Из этого определения вытекают два важных следствия.

Во-первых, если указан порог игнорирования примесей, например, 0,05 %, то не учитывают не только примеси, содержание которых меньше 0,05 %, но и примеси с содержанием 0,05 %.

Во-вторых, в качестве типичного значения порога игнорирования примесей рекомендуется использовать «reporting threshold» — порог регистрации примеси, то есть содержание примеси, требующее ее включения в спецификацию¹. В руководстве EDQM [4] дано пояснение о том, что обычно типичное значение «disregard limit» устанавливают в соответствии с «reporting threshold» и контролируют по специальному раствору сравнения (аналог раствора ПЧХС). При этом приведена ссылка на требования к «reporting threshold» для фармацевтических субстанций в Ph. Eur. [1, 5]:

- 0,05 % — при суточной дозе препарата ≥ 2 г;
- 0,03 % — при суточной дозе препарата > 2 г.

Для ЛП допускаются более высокие значения «reporting threshold»:

- 0,1 % — при суточной дозе препарата ≤ 1 г;
- 0,05 % — при суточной дозе препарата > 1 г [6].

Из приведенных данных следует, что для подавляющего большинства субстанций и препаратов «reporting threshold», а, следовательно, и порог игнорирования примесей, равен 0,05 %; это объясняет причину, по которой в ГФ РФ XIII рекомендуется концентрация раствора ПЧХС (минимальная определяемая концентрация) на уровне 0,05 % от концентрации испытуемого раствора, если не указано иное.

В соответствии с приведенными значениями «reporting threshold», уровень концентрации растворов ПЧХС относительно концентрации испытуемого раствора не должен превышать (если не обосновано иное):

- 0,03 % — для субстанций при суточной дозе препарата > 2 г;

— 0,05 % — для субстанций при суточной дозе препарата ≤ 2 г и для препаратов при их суточной дозе > 1 г;

— 0,1 % — для препаратов при их суточной дозе ≤ 1 г.

Следует подчеркнуть, что речь идет именно о типичных значениях порога игнорирования примесей и соответствующих им концентрациях растворов ПЧХС, а, следовательно, могут быть и иные значения, если они достаточно обоснованы. Например, очевидно, что для высокотоксичных примесей значение «reporting threshold» может оказаться $\leq 0,01$ %.

На практике иногда возникает проблема, как обосновать необходимость порога игнорирования примесей большего, чем «reporting threshold», вызванная тем, что даже при использовании современного аналитического оборудования не удается получить значение отношения $S/N \geq 10$ на уровне «reporting threshold». Такая ситуация может возникнуть, например, при проведении экспертизы препаратов:

а) с низкой дозировкой лекарственного вещества (ЛВ), не содержащего хромофорных групп;

б) комбинированных препаратов, в которых необходимо определять много примесей и соотносить их с соответствующими ЛВ. Это вызывает повышенное требование к разделяющей способности хроматографической системы (ХС), и как следствие — иногда требует увеличения порога игнорирования примесей по сравнению с указанными выше типичными значениями. Очевидно, что уровень (%) концентрации раствора ПЧХС не должен превышать нормируемое содержание неидентифицированных примесей, которое регламентируется требованиями ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения) к «Identification threshold» — порогу идентификации примеси [6]. В соответствии с этими требованиями, для ЛП максимальный уровень концентрации растворов ПЧХС (относительно концентрации испытуемого раствора) не должен превышать:

— 0,2 % — при суточной дозе препарата от «более 10 мг до 2 г»;

— 0,5 % — при суточной дозе препарата от 1 до 10 мг;

— 1 % — при суточной дозе препарата менее 1 мг.

Требования к методикам, в которых определяется только одна примесь, имеют свои особенности. В руководстве EDQM указано, что если по методике определяется только одна примесь и используется внешний стандарт, то нет необходимости в пороге игнорирования [4]. Это означает, с одной стороны, что, *если по методике определяется только одна примесь и ее содержание определяется по площади пика основного вещества, а не по стандарту этой примеси, то требуется использовать раствор ПЧХС с концентрацией на уровне порога игнорирования примеси.* С другой стороны, *если используется внешний стандарт примеси, то нет необходимости в растворе ПЧХС.* Это можно объяснить следующим образом. При хроматографировании стандартных растворов примесей (на уровне нормирования их содержания) обычно требуется, чтобы относительное стандартное отклонение %RSD площади пика при последовательных инъекциях было не

¹ Перевод «reporting threshold» в соответствии с: URL: <http://www.multitran.ru/c/m.exe?a=68&UserName=peregrin&l1=1&l2=2>.

больше 5,0 %. Поскольку для пиков гауссовой (симметричной) формы, согласно теории [7, 8]:

$$\%RSD \approx 50/(S/N) \text{ и } S/N \approx 50/(\%RSD), \quad (1)$$

то требование $\%RSD \leq 5,0 \%$ соответствует $S/N \geq 10$, что аналогично требованию к раствору ПЧХС.

В общем случае, в том числе и для несимметричных пиков, для методик ВЭЖХ требованию $S/N \geq 10$ соответствует значение $\%RSD \leq 6,1 \%$, согласно формуле [7]:

$$\%RSD = 58/(S/N) + 0,30. \quad (2)$$

Хотелось бы отметить, что формула (2) была получена на основании большого количества экспериментальных данных при различных уровнях концентраций лекарственных веществ и консервантов в диапазоне S/N от 2 до более чем 10000.

ДОПУСТИМЫЕ ПРЕДЕЛЫ ОТНОШЕНИЯ СИГНАЛ/ШУМ ПРИ ПРОВЕРКЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

В настоящее время отношение (S/N) рассчитывают по формуле [1, 2, 9]:

$$S/N = H/(h/2) = 2H/h, \quad (3)$$

где H — высота пика на хроматограмме раствора стандартного образца/раствора сравнения, измеренная от максимума пика до экстраполированной базовой линии; h — размах фонового шума, измеряемый либо на хроматограмме контрольного (холостого) раствора (или раствора плацебо), либо на хроматограмме того же раствора стандартного образца. Экстраполяцию базовой линии проводят для сигнала на участке базовой линии во временном интервале, продолжительность которого — не менее пятикратного значения ширины пика на его полувысоте. Измерение размаха фонового шума также обычно проводят во временном интервале, продолжительность которого не меньше пятикратного значения ширины пика на его полувысоте, расположенном, если это возможно, равномерно по обе стороны от пика основного вещества [1, 2, 9].

Современные хроматографы оснащены программами для автоматического определения отношения S/N , однако в них заложены разные алгоритмы вычисления S/N . Рекомендуем использовать вычисление S/N по Ph. Eur. и указывать в методиках определения примесей. В пользу такого выбора говорит также то, что в USP (United States Pharmacopoeia, Фармакопея США) [9] включены все определения, рисунки и таблицы из главы 2.2.46 Ph. Eur. [2], которая содержит все перечисленные требования к вычислению отношения S/N . Автоматическое определение S/N наряду с очевидным достоинством имеет и существенный недостаток, иногда проявляющийся на практике. Дело в том, что получаемое значение S/N зависит не только от фактического шума базовой линии и алгоритма определения S/N , заложенного в программу, но и от заданного порогового значения — «threshold (slope) value», используемого для поиска и интегрирования пиков [10]. Поэтому значение «threshold (slope) value» должно быть таким, чтобы в области определения шума базовой линии интегрировались пики примесей, но не интегрировались «пики», вызванные флуктуациями базовой линии.

При определении примесей в лекарственных препаратах и фарм субстанциях может возникнуть вопрос: почему при проверке чувствительности хроматографической системы, как правило, требуют, чтобы S/N было бы не меньше 10? Ответ, казалось бы, заключается в следующем: значение S/N , равное 10, соответствует пределу количественного определения (LOQ) по ICH [11–13], и поэтому *только* значения S/N выше 10 можно считать достаточными для надежного определения примесей. Но только ли значения $S/N \geq 10$ для пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС можно считать достаточными для надежного определения примесей? Для ответа на этот вопрос, а также на другие поставленные во введении вопросы рассмотрим:

- влияние времени выхода пиков примесей на значение S/N ;
- влияние фактора асимметрии пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС на значение S/N ;
- влияние поправочных коэффициентов идентифицированных примесей на значение S/N для растворов ПЧХС;
- наличие и условия использования значений S/N , не превышающих 10, в требованиях к чувствительности хроматографической системы в Ph. Eur. и USP.

ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕНИ ВЫХОДА ПИКОВ ПРИМЕСЕЙ НА ЗНАЧЕНИЕ S/N

Известно, что площадь пика вещества пропорциональна его концентрации и при увеличении времени удерживания вещества происходит размывание его пика [8]. Следовательно, если у пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС $S/N = 10$, то при прочих равных условиях можно ожидать, что у пиков примесей, выходящих перед пиком основного вещества, будет $S/N > 10$, а после пика основного вещества $S/N < 10$; при этом имеется в виду, прежде всего, одинаковый уровень концентрации² основного вещества в растворе ПЧХС и примесей в испытуемом растворе. На рисунке 1 представлена модельная хроматограмма смеси веществ одинаковой концентрации, полученная с помощью компьютерной программы «HPLC Simulator 6.0» [14]. Были подобраны такие условия хроматографирования, при которых пик бензофенона (5,6 мин), выбранный как аналог пика «основного вещества» на хроматограмме раствора ПЧХС, имеет $S/N \approx 10$. У пиков, выходящих до пика «основного вещества», $S/N > 10$, а после него — $S/N < 10$. У пика октанона (34,1 мин) $S/N \approx 1,5$, то есть даже меньше значения $S/N = 3$, соответствующего пределу детектирования по ICH. Расчет по формуле (2) показал, что относительное стандартное отклонение площади этого пика можно оценить только ориентировочно, так как $\%RSD = 58/1,5 + 0,30 \approx 39 \%$. Это указывает на то, что требование $S/N \geq 10$ для пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС в отдельных случаях может оказаться недостаточным для надежного определения содержания примесей. Наоборот, при отсутствии пиков примесей, выходящих после пика основного вещества, требование $S/N \geq 10$ может оказаться избыточно жестким.

² Под уровнем концентрации понимается концентрация относительно испытуемого раствора, выраженная в процентах.

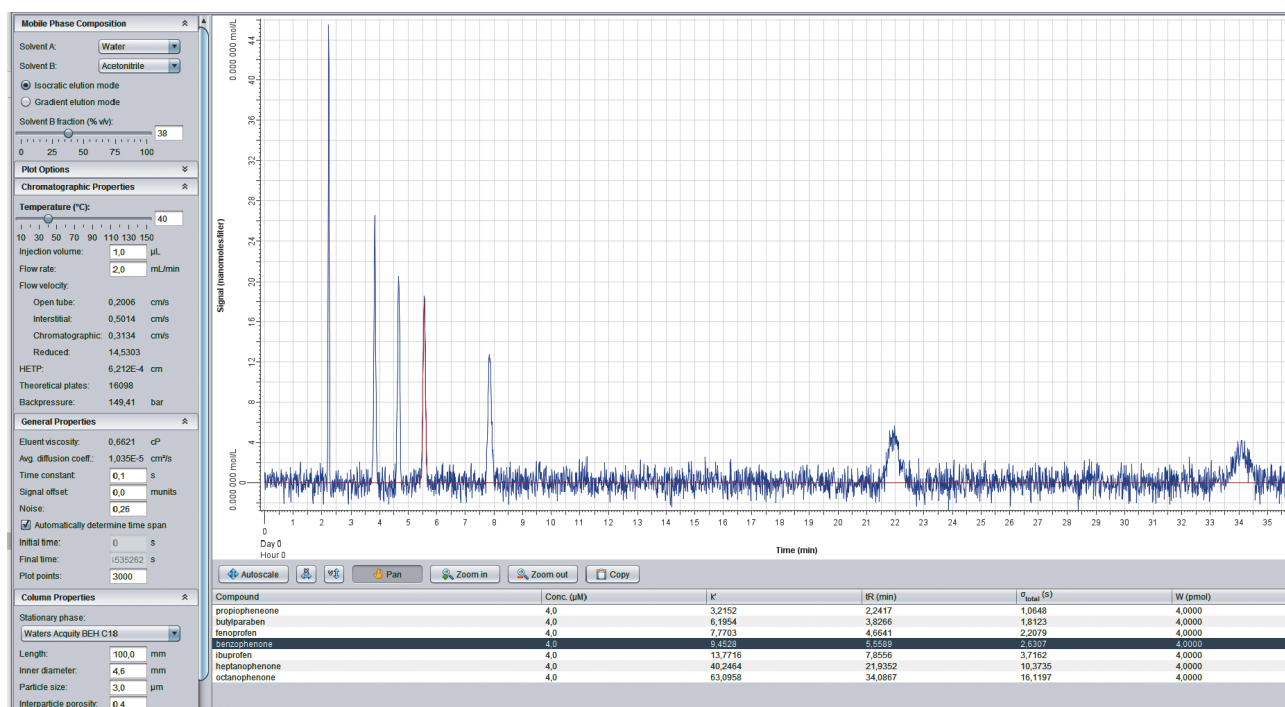


Рис. 1. Хроматограмма смеси: пропиофенона (2,2 мин), бутилпарабена (3,8 мин), фенопрофена (4,7 мин), бензофенона (5,6 мин; $S/N \approx 10$), ибупрофена (7,9 мин), гептанофенона (21,9 мин) и октанофенона (34,1 мин; $S/N \approx 1,5$)

Особенно четко возможность использования значений $S/N < 10$ для раствора ПЧХС проявляется в случае идентифицированных примесей, определяемых по отдельной методике, когда пик примеси выходит до пика основного вещества. Рассмотрим характерный пример из практики. При апробации методики определения энантиомера, полученной от производителя субстанции, было установлено, что на хроматограмме раствора ПЧХС с концентрацией лекарственного вещества ЛВ 0,1 % — на уровне порога игнорирования примеси энантиомера, у пика ЛВ значение $S/N \approx 8$ (рис. 2, а). Формально это было бы недостаточно для раствора ПЧХС. Однако из-за того, что пик энантиомера выходит намного раньше, чем пик ЛВ, при том же содержании энантиомера (0,1 %) его пик (рис. 2, б) имеет $S/N \approx 13$ (!). Так как значение $S/N \approx 13$ превышает требование к пределу количественного определения ($S/N = 10$), это может служить достаточным обоснованием для возможности использования $S/N \geq 8$ для пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС. С теоретической точки зрения, значение S/N для раствора ПЧХС может быть даже меньшим: $S/N \geq 6 (10 \cdot (8/13) = 6)$.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА АСИММЕТРИИ ПИКА ОСНОВНОГО ВЕЩЕСТВА НА ХРОМАТОГРАММЕ РАСТВОРА ПЧХС НА ЗНАЧЕНИЕ S/N

В хроматографии концентрацию веществ, как правило, определяют по площадям пиков [15, 16]. Очевидно, что при одинаковой площади (концентрации) высота пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС будет тем меньше, чем больше будет размыт его передний и/или задний фронт, то есть чем больше фактор асимметрии $T_{0,05}$ будет отличаться от единицы. Следовательно, потенциально, одинаковому содержанию примесей на хроматограмме испытуемого раствора в равной степени может соответствовать требование $S/N = 10$ — в случае сим-

метричного пика основного вещества, и $S/N < 10$ — в случае асимметричного пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС. В связи с этим представляло интерес оценить, насколько может уменьшиться значение S/N при увеличении асимметрии пика.

Для оценки влияния асимметрии пика на значение S/N для раствора ПЧХС использовали моделирование хроматограмм с помощью специальной компьютерной программы [10]. На рисунке 3 представлены полученные с помощью этой программы изократические хроматограммы смеси шести веществ. Для всех пиков вводили число теоретических тарелок 2000 (вычисляемые по ширине пика на половине его высоты), площадь пика 15000, мертвое время $t_0 = 0,75$ мин. Пик со временем удерживания $t_R = 7,5$ мин рассматривали как аналог пика основного ЛВ на хроматограмме раствора ПЧХС — так как для него отношение $S/N \approx 10$, остальные пики рассматривали как «примеси» на хроматограмме испытуемого раствора. Оценивали влияние фактора асимметрии («tailing factor») пика «основного вещества» на его высоту H и значение S/N . На рисунке 3 продемонстрировано, что при $T_{0,05} = 1,0$ (верхняя хроматограмма) у пика «основного вещества» $S/N \approx 10$, а при $T_{0,05} = 2,0$ (нижняя хроматограмма) $S/N \approx 8$. Для $T_{0,05} = 1,5$ было установлено, что $S/N \approx 9$, то есть в приведенном примере при определении «примесей» эквивалентными являются требования для пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС $S/N \geq 10$ при $T_{0,05} = 1,0$, $S/N \geq 9$ при $T_{0,05} = 1,5$ и $S/N \geq 8$ при $T_{0,05} = 2,0$. Следовательно, с теоретической точки зрения, можно было бы обосновать допустимое нижнее значение отношения $S/N < 10$ для пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС при $T_{0,05} \geq 1,5$. Однако снижение требования с $S/N \geq 10$ до $S/N \geq 9$ или 8 слишком мало и, на наш взгляд, не имеет практического значения — в критических случаях целесообразно использовать более

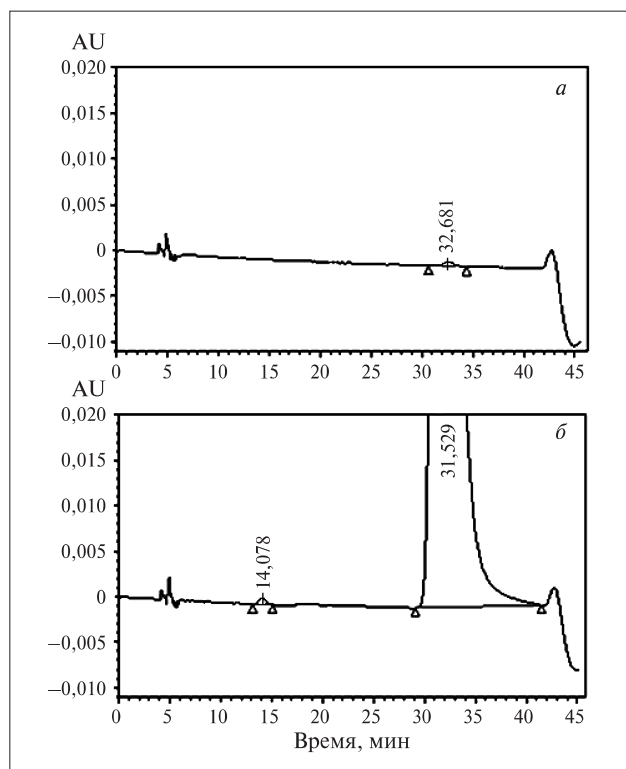


Рис. 2. а — хроматограмма раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (раствор ПЧХС) с концентрацией лекарственного вещества (ЛВ) 0,1 % от концентрации испытуемого раствора; у пика ЛВ (32,7 мин) отношение сигнал/шум $S/N = 8$; б — хроматограмма раствора смеси ЛВ и его энантиомера; концентрация ЛВ — как в испытуемом растворе, а энантиомера — 0,1 % от концентрации испытуемого раствора; у пика энантиомера (14,1 мин) отношение $S/N = 13$

высокое, чем типичное значение порога игнорирования примесей, причем в максимально допустимых пределах, указанных выше.

ВЛИЯНИЕ ПОПРАВочНЫХ КОЭФФИЦИЕНТОВ F ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ ПРИМЕСЕЙ НА ЗНАЧЕНИЕ S/N ДЛЯ РАСТВОРОВ ПЧХС

Если содержание какой-то идентифицированной примеси определяется не по ее стандартному раствору, а с учетом поправочного коэффициента F , который превышает 1,25, то для раствора ПЧХС контролируемое значение S/N пика основного вещества должно определяться по формуле [4]:

$$S/N \geq F \cdot 10. \quad (4)$$

Если таких примесей несколько, то S/N вычисляют с использованием наибольшего поправочного коэффициента. Например, если содержание примесей определяют методом нормализации площадей пиков с поправочными коэффициентами, и значения F у одной примеси 1,4, а у другой — 2,6, то при хроматографировании раствора ПЧХС требование к отношению S/N должно быть: $S/N \geq 2,6 \cdot 10 = 26$, а не $S/N \geq 10$.

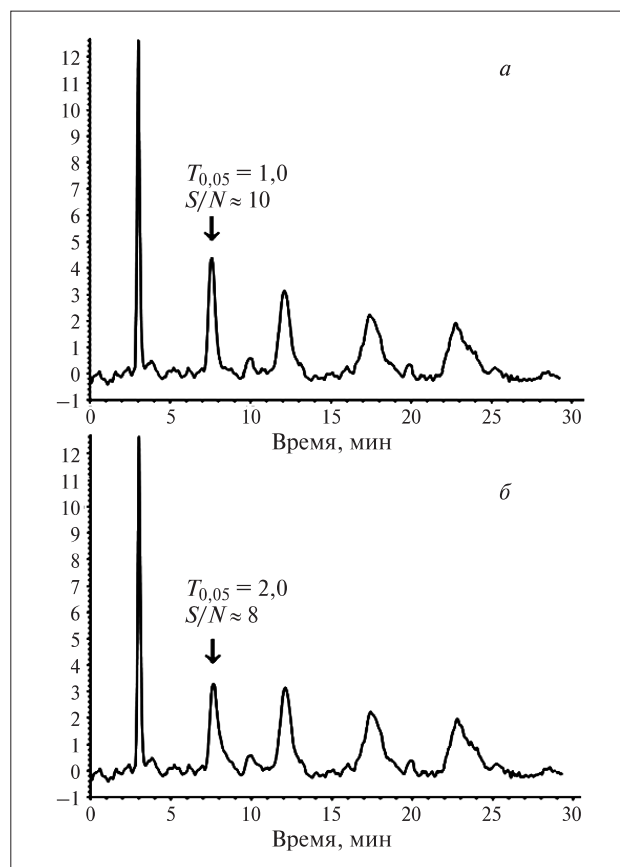


Рис. 3. Модельные хроматограммы для оценки влияния фактора асимметрии на высоту H и отношение S/N пика «основного вещества»; изменяли фактор асимметрии $T_{0,05}$ пика «основного вещества», при этом характеристики всех других пиков — «примесей» — оставались неизменными. При $T_{0,05} = 1,0$ (хроматограмма а) у пика «основного вещества» значение $H \approx 4,4$ и $S/N \approx 10$, а при $T_{0,05} = 2,0$ (хроматограмма б) $H \approx 3,3$ и $S/N \approx 8$

НАЛИЧИЕ И УСЛОВИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗНАЧЕНИЙ S/N , МЕНЬШИХ 10, В ТРЕБОВАНИЯХ К ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ЕВРОПЕЙСКОЙ ФАРМАКОПЕЕ (Ph. Eur.) И В ФАРМАКОПЕЕ США (USP)

Для растворов ПЧХС может быть обоснована нижняя граница допустимых значений S/N не только выше 10, но и ниже 10. В связи с этим представляло интерес проанализировать монографии Ph. Eur. [2] и USP [9], в которых содержатся требования к отношению S/N , чтобы оценить условия допустимости $S/N < 10$ для методик ВЭЖХ. В результате анализа монографий USP было установлено, что аналогом раствора ПЧХС в USP является «sensitivity solution» (раствор для определения чувствительности). Требование к чувствительности ХС обычно указывают как «signal-to-noise ratio: NLT ... for each peak from the sensitivity solution»³. В Ph. Eur. вместо «sensitivity solution» используют «reference solution» (раствор сравнения) с буквенными обозначениями: например, «signal-to-noise ratio: minimum ... for the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b)».

Анализ более 40 монографий USP [7], в которых нормируется отношение S/N для «sensitivity solution»,

³ NLT — not less than (не меньше, чем).

показал, что только в трех из них $S/N \geq 5$, а в остальных $S/N \geq 10$.

В отличие от USP, в Ph. Eur. [2] сравнительно большое количество монографий с $S/N < 10$ — $\approx 15\%$ [2] от общего количества, в которых нормируется отношение S/N на хроматограмме разбавленного испытуемого раствора с концентрацией, соответствующей уровню заявленного порога игнорирования примесей. Даты версий упомянутых выше монографий — 2008–2017 годы, причем после 2015 года не появлялись новые монографии, в которых $S/N < 10$. В то же время необходимо отметить, что даже в версиях от 2017 года, представляющих собой актуализированные версии монографий, ранее представленных в Ph. Eur., остались прежние требования $S/N < 10$. Хотелось бы отметить, что требование $S/N \geq 10$ в руководстве EDQM «Technical Guide for the Elaboration of Monographs» от 2015 года [4] обосновывалась необходимостью соответствия хроматографической системы главе 2.2.46 Ph. Eur., в которой указано « S/N ratio ≥ 10 at the disregard limit/reporting threshold...» [2]. В более ранней версии аналогичного руководства 2011 года допускалось $S/N \geq 3$: «Signal-to-noise ratio (S/N) is usually determined for a signal that is equal to or greater than the detection limit». Поэтому в Ph. Eur. и в настоящее время в некоторых монографиях остались требования $S/N \geq 3$, ≥ 5 и т.п.

В связи с введением растворов ПЧХС нередко возникает вопрос: «Что делать, если на хроматограмме blank имеется небольшой, вариабельный по высоте остаточный пик основного вещества?» С проблемой удаления остаточного пика основного ЛВ, появляющегося при хроматографировании blank, сталкивались практически все аналитики при определении примесей в ЛП и фармсубстанциях. До введения требования к ПЧХС эта проблема не стояла остро: чаще всего можно было не обращать внимания на небольшой остаточный пик ЛВ на хроматограмме blank. Однако после введения требований к ПЧХС проблема удаления остаточного пика ЛВ обострилась. На хроматограммах растворов ПЧХС основной пик обычно имеет очень маленькую высоту, и поэтому даже сравнительно небольшой остаточный пик ЛВ может влиять на результат определения S/N . В связи с этим актуальным стал вопрос о допустимой высоте остаточного пика ЛВ на хроматограмме blank. В настоящее время для ответа на это вопрос нет теоретического обоснования. Однако можно воспользоваться критериями допустимого различия содержания примесей (КДР) при трансфере методик, например. На основании собственного опыта автора и данных, приведенных в [18], при трансфере методик КДР всегда $\geq 10\%$, то есть всегда допустимо различие в результатах определения содержания примесей, хотя значения КДР отличаются в разных организациях и могут зависеть от диапазона содержания примесей. Поэтому, по аналогии с трансфером методик определения примесей, можно рекомендовать следующий критерий незначимости остаточного пика ЛВ: максимальная площадь остаточного пика ЛВ на хроматограмме раствора blank не должна превышать 10 % от

площади пика основного вещества на хроматограмме раствора ПЧХС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные выше данные представляют интерес для специалистов, связанных с контролем качества лекарственных субстанций и препаратов. В первую очередь это касается «типичных» и максимально допустимых значений порога игнорирования примесей, учета поправочных коэффициентов и введения критерия незначимости остаточного пика ЛВ. Также следует отметить, что требование к S/N — не менее 10 для растворов ПЧХС, в общем случае, не ставится под сомнение — это дает возможность получать более воспроизводимые и адекватные результаты определения содержания примесей в разных лабораториях и на разных приборах. В то же время показано, что могут быть достаточно весомые доводы для обоснования значения S/N менее 10 для раствора ПЧХС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. I. М.; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml>.
2. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg; 2017.
3. Frequently Asked Questions about the EDQM and Helpdesk List. Topics: 04. European Pharmacopoeia & International Harmonisation. 01. General Chapters and Monographs. 06. Impurities Chromatography. 05. How to determine the total impurities? Which peaks can be disregarded? Available from: <https://goo.gl/9AfcqH>.
4. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. 7th ed. EDQM. European Pharmacopoeia; 2015. Available from: <https://goo.gl/EVp8kf>.
5. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q3A(R2). Impurities in New Drug Substances. ICH; 2006.
6. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q3B(R2). Impurities in New Drug Products. ICH; 2006.
7. Meyer C, Seiler P, Bies C, Cianciulli C, Watzig H, Meyer VR. Minimum required signal-to-noise ratio for optimal precision in HPLC and CE. Electrophoresis 2012; 33(11): 1509–16.
8. Snyder LR, Kirkland JJ, Glajch JL. Practical HPLC Method Development. 2nd ed. New York: J. Wiley; 1997.
9. United States Pharmacopoeia. National Formulary USP 39 — NF 34. Rockville; 2016.
10. Kuss H-J, Kromidas S, eds. Quantification in LC and GC. A practical guide to good chromatographic data. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA; 2009.
11. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). ICH; 2005.
12. Эпштейн НА. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор). Химико-фармацевтический журнал 2004; 38(4): 40–56.
13. Береговых ВВ, ред. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств. М.: Литтерра; 2008.
14. HPLC Simulator 6.0. Available from: <http://hplc-simulator.software.informer.com/6.0/>.
15. Meyer VR. Practical High-Performance Liquid Chromatography. 5th ed. Chichester: John Wiley and Sons; 2010.
16. Pauls RE, McCoy RW, Ziegel ER, Wolf T, Fritz GT, Marmion DM. Results of a Cooperative Study Comparing the Precision of Peak Height and Area Measurements in Liquid Chromatography. Part II. J Chromatogr Sci 1986; 24(7): 273–7.
17. Commentary USP 39 — NF 34. US Pharmacopeial Convention. November 2, 2015. Available from: <https://goo.gl/wPovtY>.
18. Chambers D, Kelly G, Limentani G, Lister A, Lung KR, Warner E. Analytical method equivalency: An acceptable analytical practice. Pharmaceut Technol. 2005; 29: 64–80.

ОБ АВТОРАХ

Автономное объединение «ШТАДА ФармДевелопмент», АО «НИЖФАРМ». Российская Федерация, 109029, Москва, Автомобильный проезд, д. 6.

Эпштейн Наум Аронович. Начальник центра аналитических исследований, канд. хим. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Эпштейн Наум Аронович; naumepshtein@gmail.com

ON ACCEPTABLE VALUES OF DISREGARD LIMITS FOR IMPURITIES AND SIGNAL-TO-NOISE RATIO WHEN CHECKING CHROMATOGRAPHIC SYSTEM SENSITIVITY

N. A. Epshtein

Autonomous corporation «STADA PharmDevelopment»,
JSC «NIZHPHARM», Avtomobilny passage 6, Moscow 109029, Russian Federation

Abstract: The article provides answers to urgent questions relating to the acceptable values of disregard limits for impurities and signal-to-noise ratio (S/N) when checking the sensitivity of the chromatographic system. It gives recommendations on the «typical» and maximum acceptable values of disregard limits for impurities. The article also demonstrates that the requirement of $S/N \geq 10$ can be unnecessarily rigid in some cases: there could be found convincing arguments justifying a smaller S/N value for the sensitivity solution, for example, in cases when an identified impurity is determined by a specific procedure and the impurity peak appears before the peak of the main substance.

Key words: signal-to-noise ratio; sensitivity solution; disregard limit for impurities; chromatographic system; pharmacopoeia.

For citation: Epshtein NA. On acceptable values of disregard limits for impurities and signal-to-noise ratio when checking chromatographic system sensitivity. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 85–91.

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. I. Moscow; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
2. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg; 2017.
3. Frequently Asked Questions about the EDQM and Helpdesk List. Topics: 04. European Pharmacopoeia & International Harmonisation. 01. General Chapters and Monographs. 06. Impurities Chromatography. 05. How to determine the total impurities? Which peaks can be disregarded? Available from: <https://goo.gl/9AfcqH>.
4. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. 7th ed. EDQM. European Pharmacopoeia; 2015. Available from: <https://goo.gl/EVp8kf>.
5. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q3A(R2). Impurities in New Drug Substances. ICH; 2006.
6. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q3B(R2). Impurities in New Drug Products. ICH; 2006.
7. Meyer C, Seiler P, Bies C, Cianciulli C, Watzig H, Meyer VR. Minimum required signal-to-noise ratio for optimal precision in HPLC and CE. Electrophoresis 2012; 33(11): 1509–16.
8. Snyder LR, Kirkland JJ, Glajch JL. Practical HPLC Method Development. 2nd ed. New York: J. Wiley; 1997.
9. United States Pharmacopoeia. National Formulary USP 39 — NF 34. Rockville; 2016.
10. Kuss H-J, Kromidas S, eds. Quantification in LC and GC. A practical guide to good chromatographic data. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA; 2009.
11. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). ICH; 2005.
12. Epshtein NA. Validation of HPLC Techniques for Pharmaceutical Analysis. Pharmaceutical Chemistry Journal 2004; 38(4): 40–56 (in Russian).
13. Beregovykh VV, ed. Validation of analytical procedures for drug manufacturers. Guiding principles for drug manufacturers. Moscow: Litterra; 2008 (in Russian).
14. HPLC Simulator 6.0. Available from: <http://hplc-simulator.software.informer.com/6.0/>.
15. Meyer VR. Practical High-Performance Liquid Chromatography. 5th ed. Chichester: John Wiley and Sons; 2010.
16. Pauls RE, McCoy RW, Ziegel ER, Wolf T, Fritz GT, Marmion DM. Results of a Cooperative Study Comparing the Precision of Peak Height and Area Measurements in Liquid Chromatography. Part II. J Chromatogr Sci 1986; 24(7): 273–7.
17. Commentary USP 39 — NF 34. US Pharmacopeial Convention. November 2, 2015. Available from: <https://goo.gl/wPovtY>.
18. Chambers D, Kelly G, Limentani G, Lister A, Lung KR, Warner E. Analytical method equivalency: An acceptable analytical practice. Pharmaceut Technol. 2005; 29: 64–80.

AUTHORS

Autonomous corporation «STADA PharmDevelopment», JSC «NIZHPHARM», Avtomobilny passage 6, Moscow 109029, Russian Federation.
Epshtein NA. Head of the Analytical Research Centre. Candidate of Chemical Sciences.

CONTACT E-MAIL

Epshtein Naum Aronovich; naumepshtein@gmail.com

Исследования фармакологической безопасности лекарственных средств: экспертная оценка полученных результатов

Г. Н. Енгальчева, Р. Д. Сюбаев, Д. В. Горячев

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

Статья поступила 03.03.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Обоснованы подходы к экспертной оценке результатов доклинических исследований фармакологической безопасности лекарственных средств. Освещены исторические аспекты формирования регуляторных требований и научно-методических рекомендаций к проведению данного вида исследований, приведена классификация различных видов исследований фармакологической безопасности, изложены общие требования к изучению основной батареи тестов, последующих и дополнительных исследований, рассмотрены цели и основные задачи их проведения, приведены примеры тестов. Определено основное содержание экспертного анализа, включающего методологическую базу исследований, результаты исследований, характеристику профиля безопасности лекарственного препарата, интерпретацию доклинических данных, характеристику факторов риска и прогнозируемого профиля клинической безопасности для пациентов.

Ключевые слова: лекарственные средства; фармакологическая безопасность; доклинические исследования безопасности; экспертные критерии; интерпретация результатов исследований.

Библиографическое описание: Енгальчева ГН, Сюбаев РД, Горячев ДВ. Исследования фармакологической безопасности лекарственных средств: экспертная оценка полученных результатов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 92–97.

В настоящее время фармакологические исследования принято подразделять на три категории: первичные фармакодинамические исследования, вторичные фармакодинамические исследования и изучение фармакологической безопасности [1]. Исследования первичной фармакодинамики — это изучение механизма действия и эффектов действующего вещества в отношении его целевой терапевтической мишени. Вторичные фармакодинамические исследования — это изучение механизма действия и эффектов вещества, не связанных с его целевой терапевтической мишенью. Под исследованиями фармакологической безопасности подразумеваются исследования, направленные на изучение потенциальных нежелательных фармакодинамических эффектов активного действующего вещества со стороны физиологических функций в дозах, соответствующих терапевтическому диапазону и выше.

В некоторых случаях сведения о первичных и вторичных фармакодинамических эффектах действующего вещества могут иметь важное значение для оценки безопасности разрабатываемого препарата, поэтому их также необходимо рассматривать наряду с результатами исследований фармакологической безопасности.

Государственная регистрация лекарственных препаратов в России осуществляется на основании Федерального закона Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [2]. Регистрация осуществляется по результатам экспертизы качества лекарственного препарата для медицинского применения и экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственного препарата [3, 4]. В рамках формирования единой нормативно-правовой базы Евразийского экономического союза в сфе-

ре лекарственного обращения, вопросы экспертных подходов к оценке фармакологической безопасности лекарственных препаратов приобретают актуальное значение.

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Важность проведения специальных исследований безопасности для предсказания нежелательных побочных эффектов разрабатываемого лекарственного препарата на жизненно важные системы организма со всей очевидностью встала в середине 1990-х годов. Это было вызвано отзывом с рынка противогистаминного препарата терфенадин в связи с развитием жизнеугрожающих эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы на фоне его применения.

В конце 1990-х годов регуляторные органы Европы и США признали важность доклинического изучения влияния лекарственных средств на физиологические показатели. В ноябре 2000 года было утверждено Руководство ICH S7A, посвященное общим принципам проведения исследований фармакологической безопасности, а в 2005 году (Руководство ICH S7B, посвященное изучению потенциальных кардиотоксических эффектов лекарственных средств [5, 6]. С момента принятия Руководства S7A фармакологическая безопасность стремительно развивается уже как самостоятельная дисциплина, которая объединяет экспериментальную фармакологию, физиологию и лекарственную токсикологию. В 2001 году создано международное Общество по фармакологической безопасности — Safety Pharmacology Society [7]. В 2013 году Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Мини-

стерства здравоохранения Российской Федерации издало методические рекомендации по изучению фармакологической безопасности лекарственных средств [1], в 2016 году введен в действие ГОСТ Р 56700–2015, посвященный доклиническим исследованиям фармакологической безопасности [8]. В рамках регулирования обращения лекарственных средств Евразийского экономического союза в 2016 году утверждены Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, которые регламентируют также и требования к экспертной оценке исследований фармакологической безопасности [9]. Республика Казахстан в III квартале 2017 года представит проект Руководства по исследованию фармакологической безопасности лекарственных препаратов для медицинского применения.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Согласно современным требованиям, исследования фармакологической безопасности проводятся с целью:

- выявления нежелательных фармакодинамических эффектов, которые могут иметь значение для безопасного применения препарата при проведении клинических исследований;
- оценки неблагоприятных эффектов, выявленных в токсикологических или клинических исследованиях;
- изучения механизма развития неблагоприятных эффектов (как наблюдавшихся, так и подозреваемых).

Изучение фармакологической безопасности подразделяется на обязательные, последующие (уточняющие) и дополнительные исследования (табл. 1).

В первую очередь необходимо изучить влияние препарата на жизненно важные системы организма: сердечно-сосудистую, дыхательную и центральную нервную. Это так называемая «Основная батарея тестов», которая, согласно современным требованиям, должна быть проведена до первого применения препарата у человека [1]. При выявлении каких-либо негативных фактов проводят последующие (уточняющие) исследования с целью углубленного изучения данных эффектов (табл. 2).

Изучение влияния препарата на центральную нервную систему в рамках проведения основной ба-

Таблица 1

ВИДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Вид исследования	Основные задачи
Обязательные («Основная батарея тестов»)	Изучение влияния на жизненно важные системы • Сердечно-сосудистую • Дыхательную • Центральную нервную
Последующие (уточняющие)	Углубленное изучение эффектов, выявленных при проведении исследований «Основной батареи тестов»
Дополнительные	Изучение влияния на органы и системы, функции которых могут быть временно нарушены • Выделительная • Желудочно-кишечный тракт • Иммунная

Таблица 2

ПРИМЕРЫ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА НА ФУНКЦИЮ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА

Система	Исследования	
	обязательные	последующие (уточняющие)
Сердечно-сосудистая	• Артериальное давление • Частота сердечных сокращений • ЭКГ • Опыты в условиях <i>in vivo</i>, <i>in vitro</i> и/или <i>ex vivo</i> (включая оценку реполяризации и проводимости) • Исследования в условиях телеметрии • Прочие	• Сердечный выброс • Сократимость желудочков • Сопrotивляемость сосудов • Эффекты эндогенных/экзогенных веществ на сердечно-сосудистую систему • Прочие
Центральная нервная	• Двигательная активность • Изменения в поведении • Координация движений • Чувствительность и двигательные рефлексы • Температура тела • Прочие	• Поведенческие фармакологические исследования • Обучение, память • Лиганд-специфическое связывание • Судорожный порог • ЭЭГ • Прочие
Дыхательная	• Клиническое наблюдение за животными, как правило, не позволяет адекватно оценить влияние препарата • Необходимы количественные методы оценки, исследования в условиях телеметрии • Прочие	• Сопrotивление дыхательных путей • Эластичность легочной ткани • Артериальное давление в легочных сосудах • Газы крови • pH крови • Прочие

Таблица 3

ПРИМЕРЫ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Мочевыделительная система (влияние на функциональные показатели почек)	Моча (цитология, электролитный баланс, осмолярность, pH, белок, объем, креатинин, прочие)
Пищеварительная система	Желудочная секреция, секреция желчи, эвакуаторная функция желудка, пропульсивная активность кишечника, поражение желудочно-кишечного тракта (гастро-, гепатотоксические эффекты), прочие
Вегетативная нервная система (ВНС)	Связывание с рецепторами ВНС, функциональная реакция на введение агонистов или антагонистов (<i>in vitro</i> или <i>in vivo</i>), прямая стимуляция нервов и оценка реакции сердечно-сосудистой системы, барорефлексы, прочие

тареи тестов должно включать оценку его влияния на двигательную активность и изменение поведения животных, координацию движений, чувствительность и двигательные рефлексы, температуру тела. Используют, как правило, тест Ирвина или его модификацию. Это позволяет оценить проявления потенциального нейротоксического, поведенческого, нейродегенеративного или психотропного действия препарата. Также необходимы сведения о влиянии препарата на температуру тела.

При изучении влияния препарата на сердечно-сосудистую систему в рамках проведения основной батареи тестов в опытах *in vivo* необходимо оценить артериальное давление, частоту сердечных сокращений, электрокардиограмму, представить результаты экспериментов *in vitro* и *ex vivo*, в том числе оценку реполяризации и проводимости. Рутинным является изучение кардиотоксичности в условиях *in vitro* по связыванию препарата с HERG-клетками с геном специфических калиевых каналов сердца человека. Блокада этих каналов приводит к смертельно опасным последствиям: нарушению реполяризации миокарда, увеличению продолжительности QT-интервала и желудочковой тахикардии. Для детекции способности препарата индуцировать пролонгацию QT-интервала часто проводят исследования на изолированных волокнах Пуркине животных. Исследования *in vivo* целесообразно проводить в условиях телеметрии на бодрствующих животных. Телеметрические исследования относятся либо к неинвазивным, либо к малоинвазивным методам. В первом случае используют телеметрический жилет, во втором — животному вживляют датчик. Снятые показания обрабатывают с помощью компьютерных программ. Прочие исследования *in vitro* и *ex vivo* могут быть частью исследования специфической фармакологической активности, но поскольку фармакологическая безопасность входит в блок исследований безопасности препарата, эти исследования должны быть проведены в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики.

При изучении влияния препарата на дыхательную систему необходимо иметь в виду, что клиническое наблюдение за животными, как правило, не позволяет адекватно оценить влияние препарата на дыхательную систему. Необходимы количественные методы оценки (в том числе оценка дыхательного объема, насыщения крови кислородом и др.: плетизмография, пульсоксиметрия), а также исследования в условиях телеметрии.

В таблице 2 приведены примеры последующих (уточняющих) исследований фармакологической безопасности. Для оценки влияния препарата на центральную нервную систему могут применяться пове-

денческие фармакологические исследования, влияние на обучение и память, судорожный порог, электроэнцефалографические исследования, изучение лиганд-специфического связывания и др.

Последующие исследования влияния препарата на сердечно-сосудистую систему могут включать оценку сердечного выброса, сократимости желудочков, сопротивляемости сосудов, эффектов эндогенных или экзогенных веществ на сердечно-сосудистую систему и др.

Последующие исследования влияния препарата на дыхательную систему могут включать изучение влияния препарата на сопротивление дыхательных путей, эластичность легочной ткани, легочное артериальное давление, газовый состав крови, pH крови и так далее. Однако в последнее время зарубежные разработчики практически все эти исследования проводят при изучении основной батареи тестов.

Влияние препарата на органы и системы, функция которых может быть временно нарушена без причинения непоправимого вреда организму, является предметом дополнительных исследований. В таблице 3 приведены примеры дополнительных исследований влияния препарата на мочевыделительную, пищеварительную и вегетативную нервную систему.

Дополнительные исследования проводят, если препарат принадлежит к определенному химическому классу или фармакотерапевтической группе, для которых известна способность вызывать нежелательные реакции; при наличии сведений, имеющих значение для безопасности применения препарата у человека. Эти сведения могут быть получены:

- из базового фармакологического исследования;
- при проведении клинических исследований;
- из источников фармаконадзора;
- из литературных источников.

Инициатором дополнительных исследований наряду с разработчиком могут являться регуляторные органы.

Исследования фармакологической безопасности необходимо проводить в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP). Также в соответствии с GLP изучают вторичные фармакодинамические свойства, если вторичный ответ вносит основной вклад в оценку неблагоприятных эффектов.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПЕРТИЗЫ ИССЛЕДОВАНИЙ
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Исследования фармакологической безопасности проводят прежде всего для новых препаратов. Если

разрабатываемый препарат обладает новым механизмом действия, может потребоваться разработка специальных экспериментальных методик для оценки его безопасности. Изучение фармакологической безопасности лекарственных препаратов, разрешенных для медицинского применения, необходимо в том случае, если выявлены нежелательные эффекты (причем это могут быть и нежелательные эффекты, зафиксированные для аналогов как по фармакологическому действию, так и по структуре), предлагается применять препарат в новой популяции пациентов, или же предложен принципиально новый путь введения.

При экспертизе результатов доклинических исследований безопасности оценивают научную обоснованность программы доклинических исследований лекарственного препарата, выбор экспериментальной модели исследования и тест-систем, объем выполненных доклинических исследований с целью установления его фармакодинамических эффектов, механизма действия и потенциальных побочных действий, интерпретацию разработчиком полученных результатов доклинических исследований, которые представил разработчик, и методы статистической обработки результатов доклинических исследований. Всё вышеизложенное также является предметом экспертизы при оценке результатов изучения фармакологической безопасности.

При экспертизе научной обоснованности программы изучения фармакологической безопасности оценивают, насколько учтены разработчиком следующие факторы:

- фармакодинамические эффекты, связанные с механизмом действия лекарственного средства;
- нежелательные эффекты, характерные для аналогов по структуре и действию;
- нежелательные эффекты вследствие рецепторного связывания;
- результаты, полученные
 - при изучении вторичных фармакодинамических эффектов
 - в токсикологических исследованиях
 - при клиническом применении препарата.

Особое внимание необходимо обращать на класс-специфические эффекты препарата, поскольку они нередко являются фактором, лимитирующим широту терапевтического действия отдельных групп лекарственных средств. Отсутствие детального анализа класс-специфических свойств при интерпретации результатов доклинических исследований оригинального лекарственного средства не позволяет получить корректную фармакотоксикологическую характеристику риска [10].

Подлежит оценке чувствительность тест-систем, ее адекватность. Для обеспечения воспроизводимости результатов модель должна быть стандартизована. При использовании животных разработчик должен обосновать вид (его релевантность), пол, возраст, фармакодинамический ответ, фармакокинетические параметры.

Размер выборки должен быть достаточным для статистической достоверности и научной интерпретации полученных данных. Путь введения препарата, по возможности, должен соответствовать клиническому и обеспечивать экспозицию не ниже, чем при клиническом применении. Фармакологическую безопасность необходимо изучать с использованием всех способов введения препарата. Для корректной

интерпретации экспериментальных результатов целесообразно использовать как позитивный, так и негативный контроль.

Исследуемый диапазон доз/концентраций должен позволить определить зависимость эффекта от дозы/концентрации; гарантировать обнаружение эффекта изучаемого вещества (при отсутствии эффекта необходимо представить обоснование выбранных доз). Дозы, вызывающие нежелательные эффекты, необходимо сравнить с дозами, оказывающими первичное фармакодинамическое действие.

При изучении фармакологической безопасности используют, как правило, однократное введение препарата. Вместе с тем, если фармакодинамические эффекты развиваются в результате терапии определенной продолжительности или получены настораживающие результаты при повторном введении препарата, необходимо оценить обоснование разработчика выбранной длительности введения препарата животным.

При проведении экспертизы необходимо учитывать показания к применению лекарственного средства, в зависимости от которых доклиническое изучение его влияния на какую-либо систему организма (помимо центральной нервной, сердечно-сосудистой и дыхательной) может оказаться чрезвычайно важным и потребовать первоочередной оценки. Например, при разработке препарата для терапии болезни Крона необходимо оценить его влияние на пищеварительный тракт, при разработке препарата для терапии первичной гипертензии — на функцию почек и т.д. Изучение потенциала развития лекарственной зависимости является обязательным для всех препаратов нейротропного действия или имеющих структурное сходство с психотропными препаратами [11].

При экспертизе учитывают стадию клинической разработки препарата. Если предполагается впервые применять препарат у человека, то разработчик обязан представить результаты исследований «Основной батареи тестов» фармакологической безопасности. Также эксперту необходимо оценить целесообразность проведения дополнительных исследований, если имеются данные о неблагоприятном влиянии препарата на прочие системы и органы или препарат разрабатывается для терапии определенных заболеваний.

Для получения разрешения на проведение клинических исследований второй и третьей фазы необходимо оценить целесообразность проведения дополнительных исследований фармакологической безопасности для уточнения или объяснения выявленных или подозреваемых неблагоприятных клинических эффектов.

Для получения разрешения на медицинское применение препарата исследования фармакологической безопасности должны быть проведены в полном объеме. Исследования фармакологической безопасности имеют принципиальное значение для прогнозирования риска критичных изменений физиологических функций организма, их недостаточность может приводить к редуцированной оценке важных функциональных параметров [12]. Отсутствие каких-либо видов исследований фармакологической безопасности должно быть научно обосновано разработчиком.

Полноценная характеристика профиля токсичности лекарственного средства, включающая результаты доклинического исследования фармакологиче-

ской безопасности, требуется не только для оценки риска класс-специфических эффектов на этапе клинической разработки препарата, но также и для анализа происхождения нежелательных реакций, регистрируемых системой фармаконадзора при его медицинском применении [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования фармакологической безопасности являются неотъемлемой частью изучения безопасности новых лекарственных препаратов. Обязательному изучению подлежит влияние препарата на функцию сердечно-сосудистой, центральной нервной и дыхательной систем. Рекомендуется включать в регистрационное досье обоснование нецелесообразности проведения последующих и дополнительных исследований при их отсутствии. Исследования фармакологической безопасности должны соответствовать правилам надлежащей лабораторной практики. При экспертной оценке проведенных исследований используются критерии, учитывающие группу, к которой относится препарат, и конкретные условия его применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. М.: Гриф и К; 2013.
2. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». Available from: <https://goo.gl/5KYWwR>.
3. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 26 августа 2010 г. № 750н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов». Available from: <https://goo.gl/wz7nMH>.
4. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 13 декабря 2012 г. № 1041н «О внесении изменений в приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 26 августа 2010 г. № 750н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов». Available from: <https://goo.gl/Dt7EBm>.
5. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals (S7A) 2000. Available from: <https://goo.gl/h2dG2M>.
6. Nonclinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals (S7B) 2005. Available from: <https://goo.gl/5W0wSG>.
7. What is Safety Pharmacology? Available from: <https://goo.gl/etRTwe>.
8. ГОСТ Р 56700–2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические фармакологические исследования безопасности. М.: Стандартинформ; 2016.
9. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения». Available from: <https://goo.gl/s9NsVS>.
10. Енгальчева ГН, Сюбаев РД, Васильев АН. Интерпретация класс-специфических эффектов в доклинических исследованиях безопасности лекарственных средств. Сеченовский вестник 2016; 2(24): 11–2.
11. Енгальчева ГН, Сюбаев РД, Васильев АН. Современные требования к доклиническому изучению нарколоогической безопасности нейротропных лекарственных средств. Обозрение психиатрии и медицинской психологии 2014; Прил.: 74–5.
12. Енгальчева ГН, Сюбаев РД, Васильев АН, Снегирева АА, Верстакова ОЛ. Оценка фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2013; (1): 10–3.
13. Романов БК, Аляутдин РН, Глаголев СВ, Поливанов ВА. Типовой мастер-файл системы фармаконадзора (МФСФ). Безопасность и риск фармакотерапии 2016; (2): 11–27.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
Енгальчева Галина Нинелевна. Заместитель начальника управления экспертизы № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. биол. наук.
Сюбаев Рашид Даутович. Начальник управления экспертизы № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.
Горячев Дмитрий Владимирович. Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Сюбаев Рашид Даутович; Subaev@expmr.ru

SAFETY PHARMACOLOGY STUDIES OF MEDICINAL PRODUCTS: EVALUATION OF RESULTS

G. N. Engalycheva, R. D. Syubaev, D. V. Goryachev

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

Abstract: The article substantiates approaches to evaluation of results obtained in preclinical safety pharmacology studies. It describes historical background for the development of regulatory requirements and methodological recommendations for performance of such studies, provides a classification of various types of safety pharmacology studies, lays down general requirements for examination of the main battery of tests as well as subsequent and additional tests, examines the aims and main tasks of such studies, and cites examples of tests. The authors define the main scope of expert evaluation which includes the methodological basis of studies, results of studies, characterisation of a medicine's safety profile, interpretation of preclinical data, assessment of risk factors and an anticipated clinical safety profile for patients.

Key words: medicines; safety pharmacology; preclinical safety studies; expert criteria; interpretation of study results.

For citation: Engalycheva GN, Syubaev RD, Goryachev DV. Safety pharmacology studies of medicinal products: evaluation of results. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 92–97.

REFERENCES

1. Guidance on evaluation of medicines. V. I. Moscow: Grif i K; 2013 (in Russian).
2. Federal Law of the Russian Federation of 12.04.2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines». Available from: <https://goo.gl/5KYWwR> (in Russian).
3. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of 26.08.2010, No. 750n «On approval of rules of expert evaluation of medicinal products for human use, and of the expert commission opinion form». Available from: <https://goo.gl/wz7nMH> (in Russian).
4. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 13.12.2012, No. 1041n «On amendments to the Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of 26.08.2010, No. 750n «On approval of rules of expert evaluation of medicinal products for human use, and of the expert commission opinion form». Available from: <https://goo.gl/Dt7EBm> (in Russian).
5. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals (S7A) 2000. Available from: <https://goo.gl/h2dG2M>.
6. Nonclinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals (S7B) 2005. Available from: <https://goo.gl/5W0wSG>.
7. What is Safety Pharmacology? Available from: <https://goo.gl/etRTwe>.
8. State Standard R 56700 – 2015. Medicinal products for human use. Pre-clinical safety pharmacology studies. Moscow: Standartin-form; 2016 (in Russian).
9. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of 03.11.2016, No. 78 «On rules of registration and evaluation of medicinal products for human use». Available from: <https://goo.gl/s9NsVS> (in Russian).
10. Engalycheva GN, Syubaev RD, Vasiliev AN. Interpretation of class-specific effects in preclinical safety studies of drugs. Sechenovskiy vestnik 2016; 2(24): 11–2 (in Russian).
11. Engalycheva GN, Syubaev RD, Vasiliev AN. Modern requirements to preclinical studies of narcological safety of neurotropic drugs. Obzrenie psikiatrii i meditsinskoy psihologii 2014; Suppl.: 74–5 (in Russian).
12. Engalycheva GN, Syubaev RD, Vasiliev AN, Snegireva AA, Verstakova OL. Preclinical safety pharmacology evaluation of medicinal products The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2013; (1): 10–3 (in Russian).
13. Romanov BK, Alyautdin RN, Glagolev SV, Polivanov VA. Typical pharmacovigilance system master file (PSMF). Safety and Risk of Pharmacotherapy 2016; (2): 11–27 (in Russian).

AUTHORS

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

Engalycheva GN. Deputy Head of Division No. 4 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Biological Sciences.

Syubaev RD. Head of Division No. 4 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences.

Goryachev DV. Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences.

CONTACT E-MAIL

Syubaev Rashid Dautovich; Subaev@expmed.ru

Вопросы доказательности эффективности и безопасности гомеопатических лекарственных препаратов

Р. Д. Сюбаев, Н. М. Крутикова, Г. Н. Енгальчева, Н. Г. Оленина

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

Статья поступила 07.12.2016 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: На основании анализа нормативно-правовой базы, регламентирующей экспертизу лекарственных средств в Российской Федерации и за рубежом, методических руководств, данных научной литературы и экспертного опыта обоснованы критерии оценки эффективности и безопасности гомеопатических лекарственных препаратов. При выборе адекватных оценочных критериев учитывали особенности состава гомеопатических препаратов и технологии лекарственных форм, характеристики фармацевтических субстанций, терапевтического действия, известные ограничения для использования стандартных методов исследований. Отмечено, что ведущая роль в системе критериев при экспертизе гомеопатических лекарственных средств отводится соответствию качества субстанции и технологии производства препарата фармакопейным требованиям, обоснованию безопасности состава препаратов и программе доказательных доклинических и клинических исследований, подтверждающих заявленную эффективность и безопасность препарата.

Ключевые слова: экспертиза лекарственных средств; гомеопатические лекарственные препараты; эффективность; безопасность; критерии оценки.

Библиографическое описание: Сюбаев РД, Крутикова НМ, Енгальчева ГН, Оленина НГ. Вопросы доказательности эффективности и безопасности гомеопатических лекарственных препаратов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 98–103.

Гомеопатические лекарственные препараты (ГЛП) относят к средствам традиционной или комплементарной медицины, которая в системе медицинской методологии рассматривается в качестве вспомогательного вида фармакотерапии, дополняющего общепризнанные аллопатические методы. Официальное признание гомеопатии как метода лекарственной терапии подтверждается правовым статусом ГЛП в современной системе обращения лекарственных средств, что обуславливает необходимость адекватной оценки их эффективности и безопасности.

В настоящее время в России государственная регистрация лекарственных препаратов (ЛП) осуществляется на основании Федерального закона Российской Федерации от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» по результатам экспертизы качества ЛП для медицинского применения и экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения ЛП [1–6]. Процедура регистрации ГЛП не имеет каких-либо особенностей и отличий от аллопатических лекарственных средств. В связи с необходимостью разработки правил регистрации ГЛП в рамках формирования единой нормативно-правовой базы Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств, вопросы экспертных подходов к оценке эффективности и безопасности этой группы ЛП являются актуальными.

Практические проблемы и особенности экспертизы ГЛП обусловлены не столько дискуссионным характером принципов гомеопатии С. Ганемана, сколько объективным фактом использования в этих препаратах сверхмалых концентраций действующих веществ, количественное содержание которых часто вне пределов чувствительности аналитических

методов, что дает основание критикам гомеопатии подвергать сомнению состоятельность гомеопатического метода терапии с помощью средств, не имеющих материального субстрата. Вследствие ограничений или технической невыполнимости фармацевтической идентификации сверхнизких концентраций действующих веществ, которые часто используются в ГЛП, регистрационные требования не предусматривают количественного определения содержания фармацевтических субстанций в готовой лекарственной форме, что существенно сокращает возможности контроля качества конечного продукта. Вместе с тем аллопатическая точка зрения имеет позитивное значение для обоснования рационального подхода к оценке эффективности и безопасности препарата на доклиническом и клиническом этапах его разработки. Наиболее важными и активно дискутируемыми вопросами являются методология и критерии оценки эффективности и безопасности ГЛП [7–11].

Дискуссия вокруг гомеопатии способствует возникновению проектов, в основе которых лежит отрицание целесообразности какой-либо оценки эффективности и безопасности, в том числе доклинических исследований фармакологической активности и токсичности ГЛП. К негативным тенденциям следует отнести также ревизию принципов гомеопатии с целью упрощения процесса производства и изготовления ГЛП путем произвольного изменения гомеопатической технологии.

Доказательность эффективности и безопасности ГЛП, как характеристика достоверности и воспроизводимости результатов доклинических и клинических исследований, рассматривается нами в аспекте экспертных подходов к оценке отношения ожидаемой пользы к возможному риску с учетом особенно-

стей данной группы лекарственных препаратов и условий, необходимых для упрощенной процедуры их регистрации.

ДОКАЗАТЕЛЬНОСТЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Клиническая эффективность ГЛП нередко и не без оснований подвергается критике, однако по информации, размещенной на сайте Британской гомеопатической ассоциации, можно сделать оптимистичный вывод [10]. Так, до конца 2014 года в реферируемых научных журналах было опубликовано всего 104 статьи с результатами рандомизированных плацебо-контролируемых исследований ГЛП, применявшихся по 61 медицинскому показанию. Анализ показал, что 41 % этих исследований свидетельствует о положительном балансе доказательства эффективности ГЛП, 5 % — об отсутствии эффекта, 54 % исследований не позволили сделать ни положительного, ни отрицательного заключения. Доказанная эффективность ГЛП была установлена, в частности, при гриппе, бессоннице, синуситах. Согласно этим данным можно предположить, что такие результаты ближе к эффекту плацебо, однако подобные результаты были получены при анализе 1016 систематических обзоров по рандомизированным контролируемым исследованиям аллопатических лекарственных средств. Очевидно, что количество этих исследований значительно превосходит количество их обзоров. Проведенный анализ показал, что 44 % систематических обзоров дают положительные заключения об эффективности аллопатических средств, 7 % обзоров содержат общий отрицательный вывод об эффективности и 49 % обзоров не позволяют сделать определенного вывода об эффективности аллопатических средств [10]. Немаловажным является и фармакоэкономическое подтверждение преимуществ, полученных от сочетания гомеопатических средств с аллопатической фармакотерапией. Анализ «стоимость—эффективность» показывает более высокий клинический эффект такой интегрированной терапии, дающий клинические преимущества при сходной или меньшей стоимости лечения [11].

Доказательность экспериментальных доклинических исследований относится в основном к подтверждению состоятельности принципов гомеопатии и механизма лечебного действия ГЛП. Так, в настоящее время установленным фактом является способность воды сохранять информацию о веществах в гомеопатических разведениях, получено экспериментальное подтверждение биологической активности гомеопатических разведений при динамизации, показано влияние ГЛП на иммунную систему в экспериментах [7, 10]. Несмотря на научный скепсис в отношении гомеопатии, отсутствие универсальной теории механизма гомеопатического действия в настоящее время стимулирует поиск подходящей теории на основании современных научных подходов.

Данные научной литературы свидетельствуют о преобладающем внимании к эффективности ГЛП, поскольку результаты использования сверхнизких гомеопатических концентраций (высоких разведений) позволяют признавать вполне доказанной безопасность таких препаратов. Принято считать, что большая часть малотоксичных синтетических и природных веществ (в разведениях от $1:10^4$, то есть D4 или C2 и выше) и большая часть потенциально токсичных веществ (в разведениях от $1:10^8$, то есть D8 или C4 и выше) не оказывают вредного воздействия на организм человека. Абсолютно безопасным разведением фармацевтической субстанции в ГЛП считают разведение вещества, кратное числу Авогадро ($1:10^{24}$, то есть D24 или C12 и выше).

Оценка теоретического обоснования безопасности состава ГЛП осуществляется при экспертизе качества препарата, которая подтверждает соблюдение гомеопатической технологии, условий производства и соответствие гомеопатической потенции фармацевтической субстанции первому безопасному разведению (ПБР).

Использование безопасных разведений фармацевтических субстанций (т.е. разведений не ниже значений ПБР) может служить гарантией безопасности препарата даже без проведения токсикологических исследований. В этих случаях обоснование безопасности препарата по ПБР и монографиям на субстанцию включается в модуль 3 «Качество» Общего технического документа в регистрационном досье. Результаты доклинического изучения токсичности ГЛП следует представить в модуле 4 Общего технического документа, если в препарате используются разведения субстанций ниже установленного уровня ПБР.

Таким образом, анализ имеющихся данных литературы и дискутируемая научная оценка клинической значимости применения ГЛП в медицинской практике указывают на их незначительную роль в современной системе фармакотерапии и доказательной медицины. В настоящее время ГЛП принадлежит весьма ограниченная область применения в качестве вспомогательных средств традиционной медицины в составе комплексной терапии или в качестве лекарственных средств для профилактики и реабилитации. В связи с этим ГЛП относятся к лекарственным средствам, обладающим незначительной или даже сомнительной терапевтической пользой.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ИЗГОТОВЛЕНИЮ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Особое значение для обеспечения эффективности и безопасности ГЛП имеет оценка качества гомеопатической субстанции, лекарственной формы, адекватный контроль технологии, валидация всех стадий процесса производства препарата и соответствие производства требованиям GMP.

Из определения, приведенного в Федеральном законе Российской Федерации от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», следует, что к ГЛП предъявляются специфические фармакопейные требования к качеству гомеопатических субстанций и уникальной технологии изготовления лекарственных препаратов: «Гомеопатический лекарственный препарат — лекарственный препарат, произведенный или изготовленный из фармацевтической субстанции или фармацевтических субстанций в соответствии с требованиями общих фармакопейных статей к гомеопатическим лекарственным препаратам или в соответствии с требованиями фармакопеи страны производителя такого лекарственного препарата» [1]. Принципы гомеопатической технологии и правила изготовления гомеопатических лекарственных форм изложены в общих фармакопейных статьях.

Корректность экспертной оценки пользы и риска ГЛП невозможна без правильного представления о

качественном и количественном составе и особенно в технологиях изготовления ГЛП. Наличие обычных и специфических лекарственных форм ГЛП, содержащих различные дозировки действующих веществ в виде гомеопатических разведений, делает весьма непростой и ответственной задачу определения в лекарственной форме фактического содержания фармацевтической субстанции.

В качестве гомеопатических фармацевтических субстанций могут использоваться гомеопатические матричные настойки, тритурации, растворы и жидкие разведения гомеопатические, эссенции, масла, настои, отвары.

Наряду с обычными лекарственными формами (растворы, таблетки, мази, суппозитории, пластыри, капли, настойки), в гомеопатической практике используют специфические формы (гранулы гомеопатические, оподельдоки гомеопатические, разведения гомеопатические и др.).

Принципиальное отличие ГЛП от аллопатических лекарственных препаратов заключается в том, что действующим веществом препарата является фармацевтическая субстанция в форме «гомеопатической потенции» (разведения или тритурации), которую получают в соответствии с гомеопатической практикой из активного компонента при помощи процесса потенцирования (динамизации) путем последовательного разведения/разбавления и встряхивания растворов или растирания твердых субстанций. По степени разведения потенции относятся к десятичным разведениям: «D», или «X», 1:10 (1 часть исходной субстанции + 9 частей растворителя на шаг потенцирования); сотенным разведениям «C» — 1:100 (1 часть + 99 частей); а также к тысячным разведениям «M» — 1:1000; пятидесяти тысячным разведениям — «LM» («Q») 1:50000. В гомеопатических лекарственных формах обычно используют следующие разведения: D2, D3, D6 (C3), D12 (C6); C12, C13, C30, C50, C100, C200, C500, C1000, C10000; M1, M5, M10, CM1; LM1, LM2, LM5 и до LM30. Разведения разделяют на низкие (от матричной настойки — МТ до С6), средние (от С6 до С12) и высокие (выше С12). Обозначения потенций могут содержать указания на способ потенцирования: по Ганеману (Н), по Корсакову (К) или LM-метод.

Следует учитывать, что при получении ГЛП в различных лекарственных формах, как правило, в их состав не включают стабилизаторы и антиоксиданты. Ядовитые и сильнодействующие компоненты в ГЛП используют в условно безопасных разведениях — не ниже D4. Для нетоксичных субстанций растительного происхождения допускается использование настоек гомеопатических матричных (МТ).

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПЕРТИЗЫ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

К специфическим свойствам ГЛП следует отнести отсутствие прямой зависимости между фармакологическим эффектом и дозой фармацевтической субстанции. Фармакологический эффект ГЛП оказывают при использовании сверхмалых доз активной субстанции, в том числе при ее разведениях выше D24 (C12), для которых ничтожна вероятность наличия даже одной молекулы активного вещества (по числу Авогадро). При этом характер и выраженность терапевтического действия и терапевтические показания ГЛП одной и той же фармацевтической суб-

станции в разных диапазонах потенций могут изменяться. Таким образом, материальным субстратом фармакологического эффекта ГЛП, содержащих высокие разведения (потенции), благодаря гомеопатической технологии, становится носитель активной субстанции, т.е. растворитель или разбавитель. В связи с этим фармакологический эффект ГЛП определяется степенью разведения (потенции) фармацевтических субстанций, которая является неотъемлемой качественной характеристикой их состава.

Баланс «польза/риск» для ГЛП

Оценка отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения ГЛП имеет принципиальные отличия от подходов, применяемых в отношении аллопатических препаратов.

Ожидаемая польза применения ЛП определяется степенью клинической значимости показаний и терапевтической эффективностью. Возможный риск применения ЛП характеризуют токсические свойства (профиль токсичности), режим дозирования и дополнительные факторы риска (широта терапевтического действия, лекарственное взаимодействие, популяция пациентов). Фактором, влияющим на оценку пользы и риска, является критерий доказательности эффективности и безопасности (аргументированность теоретического обоснования, адекватность программы и дизайна исследований, достоверность и воспроизводимость результатов, корректность их интерпретации и соответствие исследований правилам GLP, GCP).

Несостоятельность доказательной базы в большинстве случаев имеет критичное значение при оценке пользы и риска. Вместе с тем в отношении ГЛП, как и для некоторых аллопатических средств (фитопрепаратов, профилактических средств), применяемых в качестве вспомогательной терапии, критичное значение имеет доказательность безопасности. Таким образом, для ГЛП следует считать условно приемлемой ограниченную доклиническую доказательную базу эффективности и абсолютно неприемлемой недостаточную доказательность безопасности.

Гомеопатическая и аллопатическая составляющие эффективности и безопасности ГЛП

Однозначного научного объяснения механизма терапевтического действия ГЛП в настоящее время не существует. Вместе с тем в пользу возможности фармакологического эффекта низких концентраций и сверхмалых доз действующих веществ в ГЛП свидетельствуют не только подтвержденные факты биологической активности гомеопатических разведений и растворителя («память воды») в процессе динамизации по гомеопатической технологии. Гомеопатический принцип подобия вполне укладывается в современную теорию физиологии гомеостаза, функционирующего на основе равновесных систем, имеющих противоположно направленные векторы воздействий и механизм обратной связи. Кроме того, такие известные феномены, как двухфазность и возможная парадоксальная инверсия фармакологического эффекта в разных диапазонах доз, развитие резистентности и привыкания также не противоречат постулатам гомеопатического действия. Реальной основой справедливости гомеопатической теории является существование высокочувствительных регуляторных

систем организма (рецепторных, функциональных), которые могут стать мишенями гомеопатического воздействия. К таким мишеням следует отнести иммунную систему, активно реагирующую на сверхнизкие молекулярные концентрации экзогенных веществ, а также молекулярные системы внутриклеточной регуляции. Возможное генотоксическое и тератогенное действие ГЛП связано с относительно низким порогом токсикологической угрозы (0,15 мкг/сут), установленным для потенциальных генотоксических веществ [13], и риском комутагенного действия субстанций в комплексных ГЛП.

Необходимость оценки аллопатической составляющей эффективности и безопасности ГЛП (то есть фармакологического и токсикологического профиля) обусловлена возможным использованием в их составе низких гомеопатических разведений (от исходного вещества/МТ до D4), что соответствует условному диапазону аллопатических доз (от 1 г до 0,1 мг), содержащихся в 1 г действующего вещества. Важным аспектом экспертизы безопасности ГЛП является корректность обоснования качественного и количественного состава комбинированных и комплексных многокомпонентных препаратов с учетом их фармакологических свойств, нежелательных эффектов и прогноза возможного токсикологического взаимодействия субстанций для потенций аллопатического диапазона (до D4 или 0,1 мг/мл) и диапазона токсикологической угрозы для потенциальных генотоксических веществ (до D8 или 0,01 мкг/мл).

В таблице 1 приведен пример расчета дозы субстанции для разных гомеопатических разведений и дозировок потенции в ГЛП. Для комплексных ГЛП оценку аллопатической составляющей следует проводить с учетом суммарной дозы субстанций.

Первое безопасное разведение

Ключевым аспектом доклинической оценки безопасности ГЛП является определение первого

безопасного разведения (ПБР, FSD, first safe dilution) гомеопатических субстанций [13]. ПБР зависит от наличия и характера имеющихся данных о безопасности вещества, используемого в качестве гомеопатической субстанции. Для определения ПБР используют токсикологические и другие параметры, характеризующие допустимые пороги безопасности, такие как разрешенная ежедневная экспозиция (PDE, permitted daily exposure), которая рассчитывается по результатам доклинических исследований для веществ, не обладающих генотоксическими, канцерогенными или тератогенными свойствами; порог токсикологического значения (TTC, threshold of toxicological concern) для потенциальных генотоксических примесей; 1/100 доля от наименьшей рекомендуемой терапевтической дозы для аллопатических лекарственных средств. В отношении веществ, употребляемых человеком в качестве пищевой добавки, применяются гигиенические нормы — допустимое ежедневное потребление. При этом для расчета ПБР выбирают наиболее жесткий из подходящих параметров — наименьшую дозу гомеопатической субстанции, и рассчитывают концентрацию этой дозы в 10 мл раствора или в 10 г тритурации. Так, например, для TTC (0,15 мкг/сут) ПБР соответствует разведению D8 (0,10 мкг/10мл). Для неидентифицированных субстанций, в отношении которых отсутствуют сведения о составе и токсических свойствах, ПБР определяется по числу Авогадро, то есть в разведении D24 (C12), которое может не содержать ни одной молекулы вещества. Определение ПБР позволяет минимизировать или полностью исключить аллопатическое токсическое воздействие на организм фармацевтической субстанции и одновременно служит критерием необходимости проведения доклинических исследований ГЛП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При экспертизе ГЛП необходимо учитывать особенности методологического подхода и значимость критериев оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску для данной группы лекарственных средств:

1. Ключевым критерием экспертизы ГЛП является доклиническая оценка безопасности, имеющая критичный характер требований доказательности.

2. Доказательное обоснование безопасности ГЛП возможно при наличии установленного показателя первого безопасного разведения субстанции.

3. Экспериментальные доклинические исследования новых ГЛП, не соответствующих критериям ПБР, должны включать изучение фармакологической безопасности, общетоксического действия при однократном и повторном введении, местной переносимости, генотоксичности, репродуктивной токсичности, иммунотоксичности, аллергизирующего действия и канцерогенности. Оптимизация программы экспериментальных исследований возможна при наличии аргументированного научного обоснования нецелесообразности тех или иных исследований.

4. Доклиническая оценка эффективности ГЛП не имеет критичного значения и может быть представлена в виде результатов ограниченных экспериментальных исследований, подтверждающих фарма-

Таблица 1

РАСЧЕТ ДОЗЫ ГОМЕОПАТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ С УЧЕТОМ ДОЗИРОВКИ ПОТЕНЦИЙ

Гомеопатическое разведение (потенция)	Концентрация субстанции в потенции	Доза гомеопатической субстанции (*)				
		Дозировка потенции в лекарственной форме (в граммах)				
		0,001	0,01	0,1	1	10
МТ	1	1 мг	10 мг	100 мг	1 г	10 г
D1	1:10	100 мкг	1 мг	10 мг	100 мг	1 г
D2	1:10 ²	10 мкг	100 мкг	1 мг	10 мг	100 мг
D3	1:10 ³	1 мкг	10 мкг	100 мкг	1 мг	10 мг
D4	1:10 ⁴	100 нг	1 мкг	10 мкг	100 мкг	1 мг
D5	1:10 ⁵	10 нг	100 нг	1 мкг	10 мкг	100 мкг
D6	1:10 ⁶	1 нг	10 нг	100 нг	1 мкг	10 мкг
D7	1:10 ⁷	100 пг	1 нг	10 нг	100 нг	1 мкг
D8	1:10 ⁸	10 пг	100 пг	1 нг	10 нг	100 нг

* Темная заливка — дозы аллопатического диапазона; светлая заливка — дозы порогового токсикологического значения

кологическую активность или механизм действия (при наличии релевантных/чувствительных тест-систем и моделей), или теоретического обоснования ожидаемой терапевтической эффективности.

5. Клиническая оценка эффективности ГЛП требует доказательности результатов клинических плацебо-контролируемых исследований (при необходимости в сочетании со стандартной терапией аллопатическими средствами).

6. При оценке эффективности и безопасности ГЛП необходимо учитывать аллопатическую составляющую их действия и возможный риск взаимодействия действующих веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». Available from: <https://goo.gl/eqyIO3>.
2. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 26.08.2010 г. № 750н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов». Available from: <https://goo.gl/0BcLTr>.
3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 13.12.2012 г. № 1041н «О внесении изменений в приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 26 августа 2010 г. № 750н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов». Available from: <https://goo.gl/zCwXKQ>.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.
5. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. М.: Гриф и К; 2013.
6. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. II. М.: Гриф и К; 2013.
7. Оленина НГ, Крутикова НМ, Сюбаев РД, Енгальчева ГН, Васильев АН, Бунятян НД. Регистрация гомеопатических лекарственных средств в России и за рубежом. Фармация 2015; (6): 46–52.
8. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. Available from: <https://goo.gl/20sO2J>.
9. Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use. Available from: <https://goo.gl/0HDyqi>.
10. British Homeopathic Association. Available from: <https://goo.gl/bSWbh2>.
11. The research evidence base for homeopathy. Available from: <https://goo.gl/G9pn26>.
12. Guideline on the limits of genotoxic impurities. London, 28 June 2006. CPMP/SWP/5199/02, EMEA/CHMP/QWP/251344/2006). Available from: <https://goo.gl/049hig>.
13. Points to consider on non-clinical safety of homeopathic medicinal products of botanical, mineral and chemical origin. Homeopathic medicinal product working group (HMPWG). July 2007. Available from: <https://goo.gl/jqH43K>.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2. Сюбаев Рашид Даутович. Начальник управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.

Крутикова Наталья Макарьевна. Аналитик управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. биол. наук.

Енгальчева Галина Нинелевна. Заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. биол. наук.

Оленина Надежда Геннадьевна. Ведущий эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Сюбаев Рашид Даутович; Subaev@expmed.ru

CONSIDERATIONS REGARDING DEMONSTRATION OF EFFICACY AND SAFETY OF HOMEOPATHIC MEDICINES

R. D. Syubaev, N. M. Krutikova, G. N. Engalycheva, N. G. Olenina

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

Abstract: The article analyses the regulatory and legal framework for medicines evaluation in the Russian Federation and abroad, as well as guidelines, scientific literature and practical experience to justify criteria for evaluation of efficacy and safety of homeopathic medicines. When selecting appropriate evaluation criteria the authors took into account specificity of homeopathic medicines composition and dosage form formulation, specific characteristics of pharmaceutical substances and therapeutic action, as well as known limitations on the use of standard test methods. The key criteria for homeopathic medicines evaluation are: compliance of the substance quality and the drug production technology with corresponding pharmacopoeial requirements, substantiation of the drug composition safety, and confirmation of the proposed efficacy and safety by the evidence-based pre-clinical and clinical programme.

Key words: medicines quality evaluation; homeopathic medicines; efficacy; safety; evaluation criteria.

For citation: Syubaev RD, Krutikova NM, Engalycheva GN, Olenina NG. Considerations regarding demonstration of efficacy and safety of homeopathic medicines. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 98–103.

REFERENCES

1. Federal Law of the Russian Federation of 12.04.2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines». Available from: <https://goo.gl/eqy-l03> (in Russian).
2. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of 26.08.2010, No 750n «On approval of rules of expert evaluation of medicinal products for human use, and of the expert commission opinion form». Available from: <https://goo.gl/0BcLTp> (in Russian).
3. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 13.12.2012, No. 1041n «On amendments to the Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of 26.08.2010, No. 750n «On approval of rules of expert evaluation of medicinal products for human use, and of the expert commission opinion form». Available from: <https://goo.gl/zCwXKQ> (in Russian).
4. Guidance on preclinical evaluation of medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012 (in Russian).
5. Guidance on evaluation of medicines. V. I. Moscow: Grif i K; 2013 (in Russian).
6. Guidance on evaluation of medicines. V. II. Moscow: Grif i K; 2013 (in Russian).
7. Olenina NG, Krutikova NM, Syubaev RD, Engalycheva GN, Vasilev AN, Bunyatyan ND. Registration of homeopathic medicines in Russia and abroad. Farmatsiya 2015; (6): 46–52 (in Russian).
8. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. Available from: <https://goo.gl/20s02J>.
9. Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use. Available from: <https://goo.gl/OHDyqi>.
10. British Homeopathic Association. Available from: <https://goo.gl/bSWbh2>.
11. The research evidence base for homeopathy. Available from: <https://goo.gl/G9pn26>.
12. Guideline on the limits of genotoxic impurities. London, 28 June 2006. CPMP/SWP/5199/02, EMEA/CHMP/QWP/251344/2006). Available from: <https://goo.gl/049hig>.
13. Points to consider on non-clinical safety of homeopathic medicinal products of botanical, mineral and chemical origin. Homeopathic medicinal product working group (HMPWG). July 2007. Available from: <https://goo.gl/jqH43K>.

AUTHORS

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

Syubaev RD. Head of Division No. 4 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences.

Krutikova NM. Analyst of Division No. 4 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Biological Sciences.

Engalycheva GN. Deputy Head of Division No. 4 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Biological Sciences.

Olenina NG. Leading expert of Division No. 4 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products.

CONTACT E-MAIL

Syubaev Rashid Dautovich; Subaev@expmed.ru

Оценка фармакокинетики эндогенных соединений на примере препаратов кальция

Н. Н. Еременко, Д. В. Горячев, Е. В. Ших

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

Статья поступила 30.12.2016 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: В статье представлен анализ данных научной литературы по вопросам проведения фармакокинетических исследований *in vivo* лекарственных препаратов, аналогов эндогенных соединений. Рассмотрены подходы к оценке фармакокинетических параметров лекарственных препаратов кальция. Установлено, что для оценки фармакокинетических параметров лекарственных препаратов, содержащих в своем составе ионы кальция в виде различных солей, необходимо изучение нескольких фармакокинетических параметров: параметры, характеризующих абсорбцию кальция ($C_{\max}$ и AUC с учетом фоновых эндогенных концентраций кальция), гомеостатические механизмы, регулирующие концентрацию данного эндогенного соединения (параметры выведения кальция), а также гормональную регуляцию фосфатно-кальциевого гомеостаза (паратиреоидный гормон).

Ключевые слова: фармакокинетика; клинические исследования *in vivo*; паратгормон; кальций; эндогенные соединения.

Библиографическое описание: Еременко НН, Горячев ДВ, Ших ЕВ. Оценка фармакокинетики эндогенных соединений на примере препаратов кальция. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 104–110.

На сегодняшний день насчитывается большое количество лекарственных препаратов (ЛП), являющихся аналогами эндогенных соединений, в основном это гормоны, ферменты, белки, ионы, витамины, ферменты.

Эндогенные соединения — это соединения, которые вырабатываются клетками организма человека вследствие протекающих в нем физиологических и (или) патологических процессов и которые, как правило, являются биологически активными веществами, участвующими в различных метаболических процессах организма [1].

Для оценки фармакокинетики, относительной биодоступности и биоэквивалентности ЛП — аналогов эндогенных соединений, необходимо учитывать природу каждого отдельного эндогенного вещества, механизмы регуляции его гомеостаза, а также то, что в организме указанные соединения всегда присутствуют в фоновых эндогенных концентрациях.

К эндогенным соединениям также относятся и ЛП, содержащие в своем составе ионы кальция в виде различных солей.

Цель работы — сравнительный анализ подходов к оценке фармакокинетики эндогенных соединений на примере препаратов кальция.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее время в Российской Федерации зарегистрированы ЛП различных солей кальция в различных формах (табл. 1) [2].

По данным ВОЗ [3], препараты кальция имеют код АТХ (анатомо-терапевтически-химическая классификация) A12A (табл. 2).

С учетом интереса к ЛП кальция, обусловленным большим спектром заболеваний, связанных с нарушением обмена кальция в организме, необходимо выработать единые подходы к проведению и оценке

результатов изучения сравнительной фармакокинетики ЛП, содержащих в своем составе ионы кальция в виде различных солей, в том числе с учетом зарубежных рекомендаций, в которых содержится информация по вопросам проведения биоэквивалентности подобных ЛП.

Оценка фармакокинетических параметров ЛП, содержащих в составе соли кальция, осложняется присутствием в организме фоновых эндогенных концентраций кальция.

Различают несколько видов фоновых линий эндогенных концентраций. Для препаратов кальция характерен так называемый «непредсказуемо нестабильный» вид базовой линии концентраций (рис. 1) эндогенных веществ [4–6]. Данный вид базовой линии может наблюдаться в двух случаях:

- реагирование по типу «обратной связи» — организм пытается контролировать концентрации эндогенных веществ и уменьшает синтез эндогенного вещества в ответ на введение экзогенного;

- стабилизация концентраций вследствие гомеостаза; существующие гомеостатические механизмы поддержания уровня некоторых эндогенных веществ в пределах физиологической нормы не допускают изменения концентрации до токсичного уровня. Это утверждение относится к ряду ионов (калия, кальция, магния, железа и алюминия), глутамину, L-карнитину и некоторым витаминам (D2, D3 и B12) [7].

В некоторых случаях применение даже большого количества ЛП — аналога эндогенных соединений — не изменяет гомеостатического равновесия эндогенного вещества и приводит к незначительному повышению его концентрации в крови, тем самым усложняя оценку фармакокинетики подобных ЛП [7].

Одним из основных изучаемых фармакокинетических параметров, который определяется в клини-

ческом исследовании фармакокинетики и на основании которого традиционно делается вывод о сравнительной биодоступности и биоэквивалентности

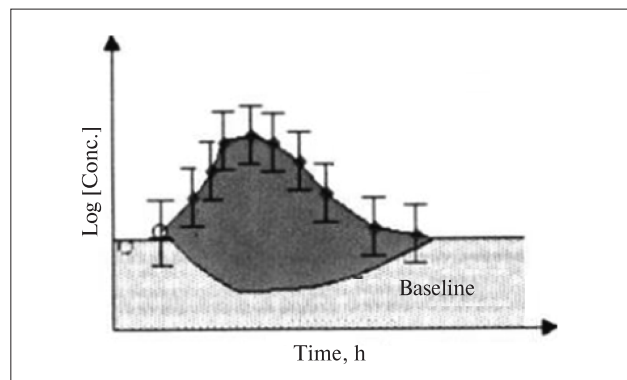


Рис. 1. Виды базовых линии концентраций эндогенных веществ. «Непредсказуемо нестабильная базовая линия»

Таблица 1

**СПИСОК СОЛЕЙ КАЛЬЦИЯ
В СОСТАВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ,
ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ [2]**

Соль кальция	Форма выпуска
Кальция глюконат (calcium gluconate)	Раствор для внутривенного и внутримышечного введения. Таблетки. Таблетки шипучие. Таблетки жевательные
Кальция глицерофосфат (calcium glycerylphosphate)	Таблетки 200 мг
Кальция добезилат	Капсулы 500 мг
Кальция карбонат (calcium carbonate)	Таблетки шипучие 1,25 г и 4,2 г. Таблетки жевательные (с лимонным вкусом) 250 мг
Кальция фосфат (calcium phosphate)	Вспомогательное вещество — порошок
Кальция фолинат (calcium folinate)	Лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения
Кальция хлорид (calcium chloride)	Раствор для внутривенного введения. Концентрат для приготовления раствора для инфузий
Кальция карбонат + колекальциферол	Таблетки жевательные. Таблетки жевательные (мятные). Порошок для приготовления суспензии для приема внутрь
Кальция карбонат + кальция лактоглюконат	Таблетки шипучие
Кальция глюконат + Мафенид + Натрия алгинат + Фенозановая кислота	Губка
Кальция глюконат + Натрия алгинат + Нитрофура	Губка

препаратов, является площадь под фармакокинетической кривой «концентрация—время» вещества (AUC). Поскольку эндогенные вещества присутствуют в организме в определенных базовых (фоновых) концентрациях, площадь под фармакокинетической кривой «концентрация—время» эндогенного вещества состоит из суммы его базовой концентрации (baseline) и экзогенной концентрации.

Учитывая высокий эндогенный уровень кальция и волнообразное колебание его после приема ЛП, содержащего кальций, в клинических исследованиях необходимо предусматривать расчет фармакокинетических параметров с учетом (вычетом) эндогенного уровня, что согласуется с рядом зарубежных и отечественных руководств: Руководством Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) [8], Руководством Управления по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration, FDA) [9], «Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» Евразийской экономической комиссии [10], «Руководством по экспертизе лекарственных средств» [11].

В настоящее время изучению фармакокинетики ЛП, содержащих ионы кальция, посвящен ряд исследований, в которых освещены разные подходы и изучены различные параметры фармакокинетики. Суммируя имеющийся научный опыт, целесообразно составить план комплексного изучения фармакокинетики подобных препаратов.

Таблица 2

КОД АТХ ПРЕПАРАТОВ КАЛЬЦИЯ [3]

Код АТХ	Название	Доза	Путь введения
A	Пищеварительный тракт и метаболизм (ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM)		
A12	Минеральные добавки (MINERAL SUPPLEMENTS)		
A12A	Кальций (CALCIUM)		
A12AA	Кальций (Calcium)		
A12AA01	calcium phosphate	2 г	Оральный
A12AA02	calcium gluconate	2,75 г	Парентеральный
A12AA03	calcium gluconate	3 г	Оральный/ парентеральный
A12AA04	calcium carbonate	3 г	Оральный
A12AA05	calcium lactate	2 г	Оральный
A12AA06	calcium lactate gluconate	3 г	Оральный
A12AA07	calcium chloride	0,2 г	Парентеральный
A12AA08	calcium glycerylphosphate		
A12AA09	calcium citrate lysine complex	0,5 г	Оральный
A12AA10	calcium glucoheptonate	3 г	Оральный
A12AA11	calcium pangamate		
A12AA13	calcium citrate		
A12AA20	calcium (different salts in combination)	0,5 г	Оральный
A12AA30	calcium laevulate	1 г	Парентеральный

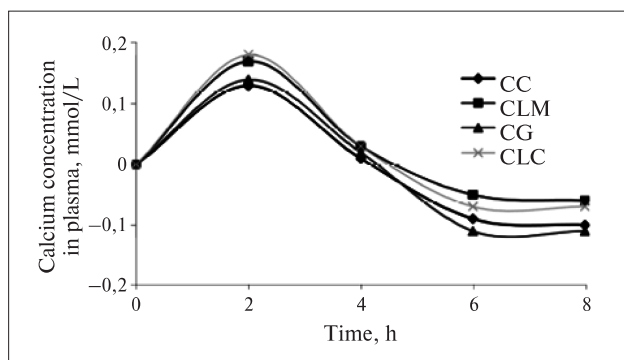


Рис. 2. Изменение концентрации общего кальция в сыворотке крови в течение 8 часов после приема препаратов кальция различных солей [12]

В клиническом исследовании [12], целью которого было сравнение биодоступности четырех ЛП, содержащих в своем составе различные соли кальция (кальция карбонат, кальция глюконат, кальция лактат малат и кальция лактат цитрат), принимали участие здоровые добровольцы-мужчины. После однократного приема препаратов, содержащих 500 мг кальция, проводили забор крови для определения концентрации кальция в сыворотке крови. Пробы крови отбирали до приема препаратов и через 2, 4, 6, 8, 12 и 24 ч после приема препаратов кальция. Максимальное значение концентрации общего кальция ($C_{\max}$) и значение площади под кривой «концентрация кальция—время» (AUC) в сыворотке крови для каждого изучаемого препарата были рассчитаны путем вычитания значения, полученного при взятии нулевой точки (до приема препарата), от максимального значения зарегистрированного после получения изучаемой дозы. Результаты проведенного клинического исследования [12] показали, что в зависимости от соли кальция, которая содержится в ЛП, из препаратов высвобождается различное количество кальция, изучаемые препараты различаются по растворимости, а, следовательно, и по биодоступности и по фармакокинетическим параметрам ($C_{\max}$ и AUC) (табл. 3, рис. 2).

В другом клиническом исследовании [13] с участием здоровых добровольцев изучались ЛП пяти различных солей кальция (кальция карбонат, кальция глюконат, кальция цитрат, кальция пидолат, кальция гидроксиапатитный комплекс) в сравнении с плацебо. После однократного приема препаратов, содержащих кальций, проводили забор крови для определения концентрации кальция в сыворотке крови. Пробы крови отбирали до приема препаратов и через

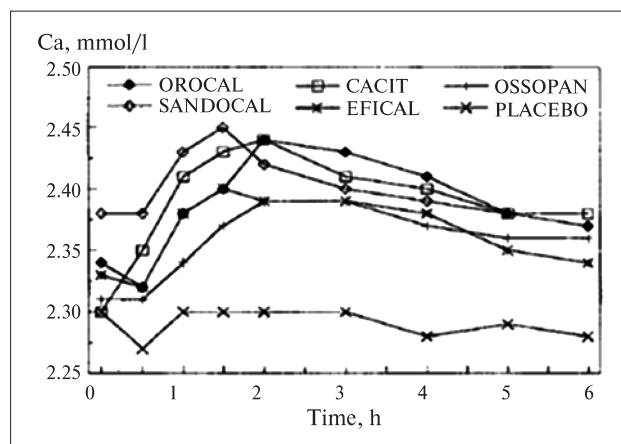


Рис. 3. Средние значения концентрации кальция в сыворотке крови в течение 6 часов после приема препаратов кальция различных солей [13]

30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 и 360 мин после приема препаратов кальция. Для каждого изучаемого препарата определялись статистически значимые изменения площади под кривой «концентрация кальция—время» (AUC) в каждой точке забора крови по сравнению с фоновыми значениями концентрации, при использовании поправки Бонферони для множественных сравнений [14]. В ходе исследования наблюдалось изменение концентрации общего кальция в сыворотке крови в течение 6 часов после приема препаратов кальция различных солей (табл. 4, рис. 3). Было отмечено, что применение всех изучаемых ЛП вызывало значительное увеличение концентрации кальция в сыворотке крови, однако это увеличение было статистически различным в зависимости от изучаемой соли кальция [13].

Таким образом, при планировании сравнительных клинических исследований для изучения фармакокинетики ЛП, содержащих ионы кальция, особое внимание необходимо обращать на соли кальция, которые содержатся в изучаемом препарате (табл. 1) [2].

Для комплексной оценки фармакокинетики ЛП, содержащих в своем составе соли кальция, помимо определения концентрации кальция в сыворотке крови, необходимо учитывать существующие гомеостатические механизмы, которые поддерживают уровень кальция в пределах физиологической нормы [15]. Так, рациональным является изучение выведения кальция с мочой для оценки соотношения кальция и креатинина, которое должно сохраняться в пределах физиологической нормы [15].

Таблица 3

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КАЛЬЦИЯ ЧЕТЫРЕХ РАЗЛИЧНЫХ СОЛЕЙ [12]

Соль кальция (в том числе смешанные соли)	Концентрация кальция ($C_{\max}$)	AUC 0–8 ч (ммоль/л·ч)	iPTH 0–8 ч (пмоль/л·ч)	Растворимость в воде/яблочном соке (21 °C)	Максимальная раствори- мость Ca/100 мл H ₂ O // Ca/100 мл в яблочном соке
CLM (кальция лактат малат)	18,1 %	0,24±0,95	–5,82±5,44	115/110 г/л	2082 мг//1991 мг
CLC (кальция лактат цитрат)	16,2 %	0,21±0,79	–7,17±4,59	98/80 г/л	1588 мг//1296 мг
CC (кальция карбонат)	40,0 %	0,07±1,28	–6,15±5,18	0,014/3,0 г/л	0,56 мг//120 мг
CG (кальция глюконат)	9,0 %	–0,36±1,87	–4,29±5,54	30/50 г/л	270 мг// 450 мг

Примечание: AUC — площадь под фармакокинетической кривой «концентрация—время»; iPTH — интактный паратиреоидный гормон.

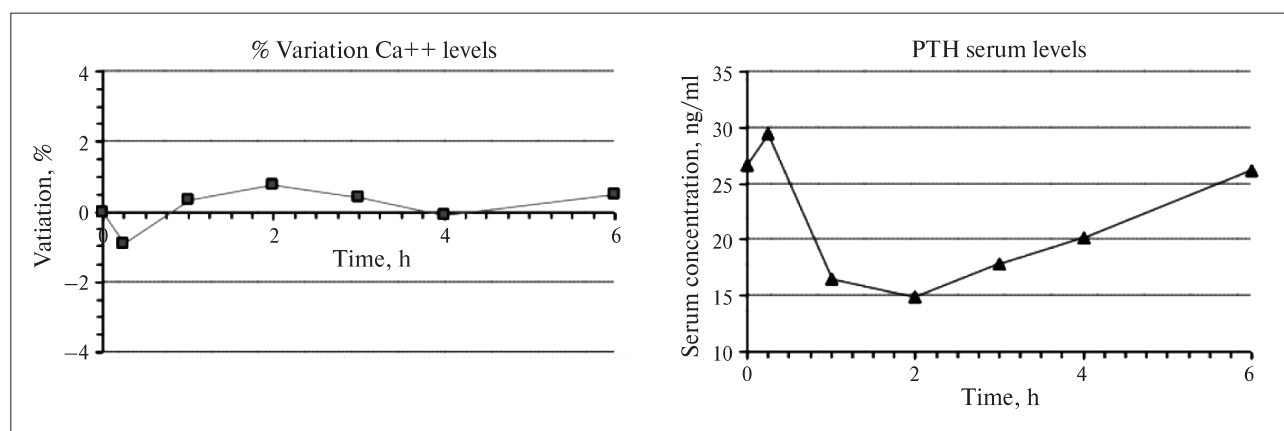


Рис. 4. Фармакодинамика и фармакокинетика: всасывание кальция и ПТГ [15, 16]

Следующим параметром изучения фармакокинетики ЛП, содержащих в своем составе соли кальция, является изучение изменения уровня паратиреоидного гормона (ПТГ). Это обусловлено тем, что iPTH (интактный паратгормон) — один из главных гормонов, регулирующих фосфатно-кальцевый гомеостаз. Основная функция ПТГ и, в то же время, важный стимулятор его секреции — концентрация ионизированного кальция (Ca^{2+}) в сыворотке крови. Механизм действия ПТГ складывается из нескольких моментов: усиление реабсорбции кальция в почках и, как следствие, снижение его выведения с мочой; повышение активности ренальной α -гидроксилазы и стимуляция синтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (таким образом ПТГ опосредовано оптимизирует всасывание кальция в тонком кишечнике); увеличение потери фосфата с мочой и снижение уровня фосфата крови. Кроме того, снижение концентрации ПТГ после приема ЛП, содержащего кальций, является проявлением биологически значимого эффекта и широко используется за рубежом в качестве критерия эф-

фективности при регистрации ЛП, содержащих кальций [16, 17] (рис. 4).

В клинических исследованиях [12, 13], помимо определения концентрации кальция в сыворотке крови, изучался и уровень ПТГ в сыворотке крови здоровых добровольцев-мужчин после приема ЛП, содержащих кальций. Для ПТГ в сыворотке крови определялись статистически значимые изменения параметра в каждой точке забора крови по сравнению с фоновыми значениями концентрации [14], поскольку известно, что уровень ПТГ подвержен циркадному ритму [18]. В ходе исследований было отмечено изменение концентрации ПТГ в сыворотке крови здоровых добровольцев-мужчин в течение 8 часов после приема ЛП различных солей кальция (табл. 3, рис. 5) [12] и в течение 6 часов после приема ЛП различных солей кальция (табл. 4, рис. 6) [13], а именно значительное снижение ПТГ. Однако необходимо обратить внимание на существенные различия, которые наблюдаются в снижении значения ПТГ в зависимости от изучаемой соли кальция (табл. 3, 4 и рис. 5, 6).

Таблица 4

**СРЕДНЕЕ ЗНАЧЕНИЕ СЫВОРОТКИ КАЛЬЦИЯ (CALCIUM) И ПАРАТГОРМОНА (PTH)
У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ (N = 18) ДО И ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИССЛЕДУЕМЫХ ПРЕПАРАТОВ [13]**

TREATMENT	CALCIUM		PTH	
	До применения препарата normal range (2,15–2,55) (ммоль/л)	После применения препарата AUC (ммоль/л·мин) 0–360	До применения препарата normal range (10–65) (пг/мл)	После применения препарата AUC (пг/мл·мин) 0–360
	m±sem		m±sem	
Кальция карбонат OROCAL®	2,34±0,034	934,8 ^a ±9,14	18,55±1,897	4705 ^a ±359,5
Кальция глюконат SANDOCAL®	2,38±0,039	936,9 ^a ±10,31	19,22±2,216	5193 ^{a,b} ±425,1
Кальция цитрат CACIT®	2,30±0,027	935,6 ^a ±9,53	18,39±1,619	4769 ^a ±334,8
Кальция пидолат EFICAL®	2,33±0,036	924,9 ^a ±10,82	22,80±3,425	5423 ^{a,b} ±694,1
Гидроксиапатитный комплекс OSSOPAN®	2,31±0,034	922,4 ^a ±12,77	20,90±2,614	6070 ^{a,b} ±508,5
Плацебо VEHICLE	2,30±0,023	893,8 ^b ±7,55	20,78±2,263	80,19,5 ^b ±829

Примечание: a: $p < 0,05$ vs VEHICLE; b: $p > 0.05$ vs VEHICLE.

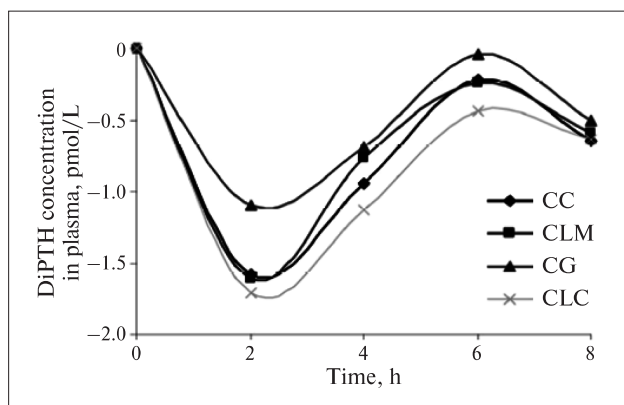


Рис. 5. Изменение концентрации паратиреоидного гормона в сыворотке крови в течение 8 часов после приема препаратов кальция различных солей [12]

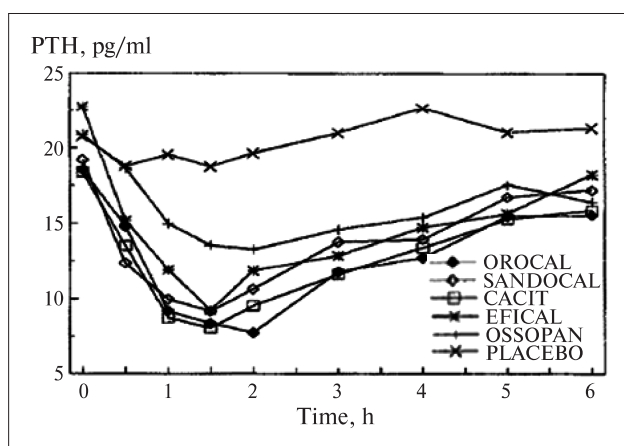


Рис. 6. Средние значения концентрации паратиреоидного гормона в сыворотке крови в течение 6 часов после приема препаратов кальция различных солей [13]

Поскольку в данных исследованиях [12, 13] принимали участие только мужчины, полученные результаты трудно экстраполировать на другие популяции, например, на женщин в постменопаузе, так как известно, что сывороточные концентрации общего кальция и содержание ПТГ находятся под влиянием эстрогенов [19–21]. Однако, результаты, полученные в данных клинических исследованиях [12, 13], сходны с описанными в научной литературе [22–29].

В отношении ЛП — аналогов эндогенных соединений — в настоящее время в Российской Федерации отсутствуют нормативно-правовые акты, которые регулируют правила проведения фармакокинетических исследований *in vivo* для конкретных ЛП — аналогов эндогенных соединений [1]. При изучении фармакокинетики ЛП, содержащих в своем составе различные соли кальция, следует руководствоваться имеющейся научной литературой, опытом проведения подобных клинических исследований, комплексно оценивая параметры фармакокинетики, гомеостатические механизмы, регулирующие концентрацию кальция, и его гормональную регуляцию — паратиреоидный гормон.

ВЫВОДЫ

Для оценки фармакокинетических параметров ЛП, содержащих в своем составе ионы кальция в виде различных солей, необходимо изучение нескольких параметров фармакокинетики: параметры, характеризующие абсорбцию кальция (C_{max} и AUC с учетом фоновых эндогенных концентраций кальция), гомеостатические механизмы, регулирующие концентрацию данного эндогенного соединения (параметры выведения кальция), а также гормональную регуляцию фосфатно-кальциевого гомеостаза (паратиреоидный гормон).

ЛИТЕРАТУРА

1. Адонин ВК, Ромодановский ДП, Ниязов РР. Особенности проведения исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов — аналогов эндогенных соединений. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2015; (3): 3–8.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/>.
3. ATC/DDD Index 2017. Available from: http://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code.
4. Colucci P, Pasternyk-Di Marco M, Potvinand D, Ducharme MP. Bioequivalence Assessment of Endogenous Drug Substances: Pharmacokinetics and Statistical Evaluation. In: Generic Drug Product Development: Bioequivalence; 2007. P. 233–56.
5. Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances («endogenous drugs»): considerations to optimize study design. Br Journal Clinical Pharmacology 2010; 69(3): 238–44.
6. Gabrielsson J, Weiner, D. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic data analysis: Concepts and applications. Available from: <http://bit.ly/cikale4>.
7. Kressel G, Wolters M, Hahn A. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. Food and Nutrition Sciences 2010; (1): 53–8.
8. Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. Available from: <https://goo.gl/de2Xjs>.
9. Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://goo.gl/ikROcx>.
10. Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. Совет Евразийской экономической комиссии. Решение от 3 ноября 2016 г. № 85. Available from: <https://goo.gl/BBDIFk>.
11. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. М.: Гриф и К; 2013.
12. Kressel G, Wolters M, Hahn A. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. Food and Nutrition Sciences 2010; (1): 53–8.
13. Deroisy R, Zartarian M, Meurmans L, Nelissen N, Micheletti MC, Albert A, Reginster JY. Acute hormone intake of changes in serum calcium and parathyroid circulating levels induced by the oral five currently available calcium salts in healthy male volunteers. Clinical Rheumatology 1997, 16(3): 249–53. Available from: <https://goo.gl/93Cm40>.
14. Godfrey K. Statistics in practice: comparing the means of several groups. N Engl J Med. 1985; 313(23): 1450–6.
15. Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances («endogenous drugs»): considerations to optimize study design. Br J Clin Pharmacol. 2010; 69(3): 238–44.
16. Marzo A. Master Universitario di II Livello Ricerca e Sviluppo Pre-Clinico e Clinico del Farmaco Modulo 4. Sviluppo Clinico dei Farmaci Chieti, 14–15 novembre 2013.
17. Marzo A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. Pharmacol Res. 1999; 40(4): 357–68.
18. El-Hajj Fuleihan G, Klerman EB, Brown EN, Choe Y, Brown EM, Czeisler CA. The Parathyroid Hormone Circadian Rhythm Is Truly Endogenous — A General Clinical Research Center Study. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1997; 82(1): 281–6.

19. Jacono JJ, Robertson JM. The Effects of Estrogen, Progesterone, and Ionized Calcium on Seizures during the Menstrual Cycle of Epileptic Women. *Epilepsia* 1987; 28(5): 571–7.
20. Pitkin RM, Reynolds WA, Williams GA, Hargis GK. Calcium-Regulating Hormones during the Menstrual Cycle. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1978; 47(3): 626–32.
21. Heller HJ, Greer LG, Haynes SD, Poindexter JR, Pak CYC. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Comparison of Two Calcium Supplements in Postmenopausal Women. *Journal of Clinical Pharmacology* 2000; 40(11): 1237–44.
22. Ekman M, Reizenstein R, Teigen SW, Ronneberg R. Comparative absorption of calcium from carbonate tablets, lactogluconate/carbonate effervescent tablet and chloride solution. *Bone* 1991; 12(2): 93–7.
23. Need AG, Horowitz M, Philcox JC, Nordin BEC. Biochemical effects of a calcium supplement in osteoporotic postmenopausal women with normal absorption and malabsorption of calcium. *Miner Electrolyte Metab.* 1987; 13(2): 112–6.
24. Nicar MJ, Pak CY. Calcium bioavailability from calcium carbonate and calcium citrate. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1985; 61(2): 391–3.
25. Reginster JY, Denis D, Albert A, Gaspar S, Heynen G, Deroisy R, Franchimont R. Influence of the nature of calcium salts on serum calcium, phosphorus, calcitonin, growth hormone, and somatomedin C. *Res Exp Med.* 1988; 188(2): 131–7.
26. Reginster JY, Denis D, Bartsch V, Deroisy R, Zegels B, Franchimont P. Acute biochemical variation induced by four different calcium salts in healthy male volunteers. *Osteoporos Int.* 1993; 3(5): 271–5.
27. Reid IR, Schooler BA, Hannan SE, Ibbertson HK. The acute biochemical effects of four proprietary calcium preparations. *Aust N Z J Med.* 1986; 16(2): 193–7.
28. Sheikh MS, Santa Ana CA, Nicar MJ, Schiller LR, Fordtran JS. Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. *N Engl J Med.* 1987; 317(9): 532–6.
29. Woo J, Swaminathan R, Lau E, Mac Donald D, Pang CP, Nordin BEC. Biochemical effects of a single dose of oral calcium on bone metabolism in elderly Chinese women. *Calcif Tissue Int.* 1991; 48: 157–60.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
 Еременко Наталья Николаевна. Главный эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук.
 Горячев Дмитрий Владимирович. Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.
 Ших Евгения Валерьевна. Ведущий научный сотрудник Центра клинической фармакологии, д-р мед. наук, проф.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Еременко Наталья Николаевна; Eremenko@expmed.ru

EVALUATION OF ENDOGENOUS COMPOUNDS PHARMACOKINETICS AS ILLUSTRATED BY CALCIUM

N. N. Eremenko, D. V. Goryachev, E. V. Shikh

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

Abstract: The article reviews scientific literature on the conduct of *in vivo* pharmacokinetic studies of drugs that are similar to endogenous compounds. It summarises approaches to pharmacokinetic evaluation of calcium drugs. It was demonstrated that the pharmacokinetic evaluation of drugs containing calcium ions in the form of various salts requires assessment of several parameters: parameters indicative of calcium absorption (C_{max} and AUC with due regard to baseline concentrations of endogenous calcium), homeostatic mechanisms which regulate the concentration of this endogenous compound (calcium excretion parameters) and hormonal regulation of phosphate and calcium homeostasis (parathyroid hormone).

Key words: pharmacokinetics; clinical studies *in vivo*; parathormone; calcium; endogenous compounds.

For citation: Eremenko NN, Goryachev DV, Shikh EV. Evaluation of endogenous compounds pharmacokinetics as illustrated by calcium. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2017; 7(2): 104–110.

REFERENCES

1. Adonin VK, Romodanovskiy DP, Niyazov RR. Specific features of the bioequivalence study of drugs — analogs of endogenous compounds. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2015; (3): 3–8 (in Russian).
2. State Register of medicines. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/> (in Russian).
3. ATC/DDD Index 2017. Available from: http://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code.
4. Colucci P, Pasternyk-Di Marco M, Potvinand D, Ducharme MP. Bioequivalence Assessment of Endogenous Drug Substances: Pharmacokinetics and Statistical Evaluation. In: *Generic Drug Product Development: Bioequivalence*; 2007. P. 233–56.
5. Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances («endogenous drugs»): considerations to optimize study design. *Br Journal Clinical Pharmacology* 2010; 69(3): 238–44.
6. Gabrielsson J, Weiner, D. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic data analysis: Concepts and applications. Available from: <http://bit.ly/cikale4>.
7. Kressel G, Wolters M, Hahn A. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. *Food and Nutrition Sciences* 2010; (1): 53–8.
8. Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. Available from: <https://goo.gl/de2Xjs>.

9. Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://goo.gl/ikR0cx>.
10. On the adoption of Rules for carrying out bioequivalence studies of medicinal products in the Euroasian Economic Union. Council of the Eurasian Economic Commission. Decision of 3 November 2016 No. 85. Available from: <https://goo.gl/BBDIFk> (in Russian).
11. Guidance on evaluation of medicines. Vol. I. Moscow: Grif i K; 2013 (in Russian).
12. Kressel G, Wolters M, Hahn A. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. *Food and Nutrition Sciences* 2010; (1): 53–8.
13. Deroisy R, Zartarian M, Meurmans L, Nelissen N, Micheletti MC, Albert A, Reginster JY. Acute hormone intake of changes in serum calcium and parathyroid circulating levels induced by the oral five currently available calcium salts in healthy male volunteers. *Clinical Rheumatology* 1997; 16(3): 249–53. Available from: <https://goo.gl/93Cm40>.
14. Godfrey K. Statistics in practice: comparing the means of several groups. *N Engl J Med*. 1985; 313(23): 1450–6.
15. Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances («endogenous drugs»): considerations to optimize study design. *Br J Clin Pharmacol*. 2010; 69(3): 238–44.
16. Marzo A. Master Universitario di Il Livello Ricerca e Sviluppo Pre-Clinico e Clinico del Farmaco Modulo 4. Sviluppo Clinico dei Farmaci Chieti, 14–15 novembre 2013.
17. Marzo A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. *Pharmacol Res*. 1999; 40(4): 357–68.
18. El-Hajj Fuleihan G, Klerman EB, Brown EN, Choe Y, Brown EM, Czeisler CA. The Parathyroid Hormone Circadian Rhythm Is Truly Endogenous — A General Clinical Research Center Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82(1): 281–6.
19. Jacono JJ, Robertson JM. The Effects of Estrogen, Progesterone, and Ionized Calcium on Seizures during the Menstrual Cycle of Epileptic Women. *Epilepsia* 1987; 28(5): 571–7.
20. Pitkin RM, Reynolds WA, Williams GA, Hargis GK. Calcium-Regulating Hormones during the Menstrual Cycle. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1978; 47(3): 626–32.
21. Heller HJ, Greer LG, Haynes SD, Poindexter JR, Pak CYC. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Comparison of Two Calcium Supplements in Postmenopausal Women. *Journal of Clinical Pharmacology* 2000; 40(11): 1237–44.
22. Ekman M, Reizenstein R, Teigen SW, Ronneberg R. Comparative absorption of calcium from carbonate tablets, lactogluconate/carbonate effervescent tablet and chloride solution. *Bone* 1991; 12(2): 93–7.
23. Need AG, Horowitz M, Philcox JC, Nordin BEC. Biochemical effects of a calcium supplement in osteoporotic postmenopausal women with normal absorption and malabsorption of calcium. *Miner Electrolyte Metab*. 1987; 13(2): 112–6.
24. Nicar MJ, Pak CY. Calcium bioavailability from calcium carbonate and calcium citrate. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1985; 61(2): 391–3.
25. Reginster JY, Denis D, Albert A, Gaspar S, Heynen G, Deroisy R, Franchimont R. Influence of the nature of calcium salts on serum calcium, phosphorus, calcitonin, growth hormone, and somatomedin C. *Res Exp Med*. 1988; 188(2): 131–7.
26. Reginster JY, Denis D, Bartsch V, Deroisy R, Zegels B, Franchimont P. Acute biochemical variation induced by four different calcium salts in healthy male volunteers. *Osteoporos Int*. 1993; 3(5): 271–5.
27. Reid IR, Schooler BA, Hannan SE, Ibbertson HK. The acute biochemical effects of four proprietary calcium preparations. *Aust N Z J Med*. 1986; 16(2): 193–7.
28. Sheikh MS, Santa Ana CA, Nicar MJ, Schiller LR, Fordtran JS. Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. *N Engl J Med*. 1987; 317(9): 532–6.
29. Woo J, Swaminathan R, Lau E, Mac Donald D, Pang CP, Nordin BEC. Biochemical effects of a single dose of oral calcium on bone metabolism in elderly Chinese women. *Calcif Tissue Int*. 1991; 48: 157–60.

AUTHORS

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

Eremenko NN. Chief expert of the Division No. 1 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences.

Goryachev DV. Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences.

Shikh EV. Leading research associate of the Clinical Pharmacology Centre. Doctor of Medical Sciences, professor.

CONTACT E-MAIL

Eremenko Natalia Nikolaevna; Eremenko@expmed.ru

Методические подходы к оценке нейротоксичности фармакологических веществ

М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, Е. В. Шекунова

Закрытое акционерное общество
«Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»,
188663, Российская Федерация, Ленинградская обл., Всеволожский район,
г.п. Кузьмолровский, ул. Заводская, д. 3, к. 245

Статья поступила 18.04.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: В статье рассмотрены методические подходы к оценке нейротоксичности фармакологических веществ. Описана основная батарея тестов на животных, проводимая до начала клинических исследований для оценки влияния препарата на функцию жизненно-важных систем организма. Рассмотрены такие аспекты, как выбор вида животных, выбор дозы и длительность введения фармакологического вещества, проведение клинического обследования, функциональных тестов и гистологических исследований. Отмечено, что правильное обоснование программы исследования может позволить существенно сократить перечень исследований. Обоснована целесообразность использования не менее двух видов животных для оценки нейротоксичности, с обязательным использованием не грызунов, результаты которой позволяют в максимально возможном объеме в ходе доклинических исследований изучить профиль безопасности лекарственного препарата и обеспечить необходимый уровень безопасности для человека при переходе на I фазу клинических исследований.

Ключевые слова: нейротоксичность; нервная система; координация движений; сенсорные реакции; когнитивные функции; фармакологическая безопасность; лабораторные животные.

Библиографическое описание: Макарова МН, Макаров ВГ, Шекунова ЕВ. Методические подходы к оценке нейротоксичности фармакологических веществ. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 111–116.

Согласно современным требованиям, неотъемлемой частью изучения безопасности оригинальных (референтных) лекарственных препаратов являются исследования фармакологической безопасности. До начала клинических исследований необходимо провести так называемую основную батарею тестов и оценить влияние препарата на функцию жизненно-важных систем организма: центральную нервную, сердечно-сосудистую, дыхательную. В случае получения какой-либостораживающей информации, проводят «последующие» исследования для углубленного изучения выявленных эффектов [1–4].

При оценке токсикологических характеристик фармакологических веществ одним из важнейших аспектов является оценка потенциальных нейротоксических эффектов. Многие современные высокоэффективные фармакологические вещества, такие как цитостатики, антибактериальные препараты, местные анестетики, диссоциативные анестетики, препараты лития, антипсихотические препараты, нестероидные противовоспалительные препараты и другие индуцируют клинически значимые, зачастую дозозависимые проявления нейротоксичности, которые требуют модифицирования доз, отсрочки очередных циклов или прекращения лечения.

Отчасти при изучении острой или хронической токсичности уже происходит первоначальная оценка наличия/отсутствия нейротоксичности у тестируемого вещества, и при наличии наблюдений, связанных с влиянием на центральную или периферическую нервную систему, необходимо провести углубленное изучение этих эффектов. Также исследование нейротоксичности необходимо проводить в тех случаях, когда механизм действия тестируемого вещества напрямую или косвенно связан с влиянием на нервную ткань, или химическая структура тестируемого веще-

ства позволяет предположить у него наличие нейротоксических свойств.

Также необходимо учитывать, что тестируемые фармакологические вещества могут влиять на несколько органов/тканей мишеней, по разным механизмам действия, а поскольку ни один из тестов не способен дать полную информацию о нейротоксическом действии, целесообразно использовать также биохимические, гистологические и другие методы оценки.

Исследования основной батареи тестов предпочтительно проводить на животных, находящихся в свободном состоянии (ненаркотизированных и неиммобилизованных). Для оценки влияния препарата на функцию центральной нервной системы (ЦНС) используют тест Ирвина (модифицированный тест Ирвина) [5, 6] или функциональные наблюдательные тесты (Functional Observation Battery, FOB) у мелких грызунов. Это позволяет получить информацию о влиянии препарата на следующие параметры:

- автономные — слюноотечение, слезотечение, пилоэрекция, аномальное мочеиспускание и/или дефекация, аномальное дыхание, диаметр зрачка, ректальная температура;

- сенсорно-моторные — реакция на прикосновение (реакция ушной раковины), пальцебральный рефлекс, рефлекс на звуковой раздражитель, пинетальный рефлекс, установочный рефлекс;

- нейромышечные — постуральные реакции, реакция Штраубе, тонус тела, птоз, экзофтальм, сила сцепления, сгибательный рефлекс, тремор, судороги;

- поведенческие (этологические) — возбуждение, уровень спонтанной активности, вокализация, агрессивность, обнюхивание, груминг, расчесы, вставание на задние лапы, стереотипия, странное поведение.

На основании проведенных исследований составляют отчет, результаты также должны быть включены в Брошюру исследователя.

Последующие исследования влияния препарата на ЦНС не являются строго обязательными, их дизайн зависит от выявленных негативных эффектов препарата.

ВЫБОР ВИДА ЖИВОТНЫХ

Различные виды животных имеют разный по выраженности ответ на введение нейротоксикантов. Для изучения нейротоксичности обычно используют крыс, хотя при определенном обосновании могут использоваться и другие виды животных.

Так, для оценки нейротоксичности ингибиторов ацетилхолинэстеразы (АХЭ), целесообразно использовать кур, поскольку у кур и человека под влиянием этих препаратов происходят схожие гистопатологические изменения и развиваются однотипные neuropathies. Также удобной моделью для этих целей являются морские свинки [7], особый интерес здесь представляет отсроченная нейротоксичность для плода во время беременности [8]. В целом же морские свинки (*Cavia porcellus*) в качестве модели для изучения нейротоксичности используются по двум основным причинам: имеются их сходство с людьми с точки зрения развития мозга до рождения [9] и выраженная чувствительность холинергической системы морских свинок к ингибиторам АХЭ [10, 11].

При изучении картины интоксикации под влиянием атипичных нейролептиков у крыс в дозе, в 2,5 раза превышающей высшую терапевтическую дозу (ВТД), мы наблюдали парадоксальную реакцию на введение препаратов (в виде агрессивного поведения) [12], что может быть связано с быстрым увеличением плотности дофаминовых рецепторов, особенно D2- и D4-рецепторов, под влиянием атипичного нейролептика, что показано для этого вида животных [13].

Кролики зарекомендовали себя как биологический объект, наиболее слабо реагирующий на введение антипсихотических препаратов. В основном их реакция заключалась в выраженном угнетении поведения и вегетативных реакциях, даже при введении дозы, в 3,2 раза превышающей ВТД. Выраженность вегетативных реакций снижает привлекательность кроликов как биологического объекта для изучения безопасности антипсихотических препаратов [12].

В отличие от крыс, у карликовых свиней типичная картина интоксикации наблюдается на протяжении всего периода введения антипсихотических препаратов (в дозе, в 3 раза превышающей ВТД) и напоминает симптомы побочных эффектов у человека [12].

В целом вопрос использования карликовых свиней для изучения эффектов антипсихотических препаратов широко обсуждается в научной литературе. Этот вид лабораторных животных на сегодняшний день признают весьма перспективным, так как карликовые свиньи отображают большее фармакологическое сходство с человеком, нежели грызуны [14, 15]. Рядом исследователей установлено, что эффективность и побочные эффекты психоактивных лекарственных препаратов, наблюдаемые у карликовых свиней, отсутствуют у грызунов [16, 17].

ВЫБОР ДОЗЫ И ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ВВЕДЕНИЯ

Выбор доз должен осуществляться с учетом любых полученных ранее данных о токсичности и фар-

макокинетики для тестируемого препарата или родственных соединений. Максимальный уровень дозы должен предположительно вызывать нейротоксическое действие или очевидные токсические эффекты. В идеальном случае дозы должны быть подобраны таким образом, чтобы можно было отличить общесоматическую токсичность от влияния на нервную систему. При тестировании с предельной дозой минимальная доза должна быть не менее 1000 мг/кг массы тела/сутки при парентеральных путях введения, и не менее 2000 мг/кг при пероральном введении, которые не должны вызывать очевидного нейротоксического действия. Приведенные дозы являются базовыми для любых токсикологических исследований [18–20]. В случае изучения острой токсичности тестируемое вещество вводят однократно или дробно через короткие интервалы в течение суток. При исследовании подострой или хронической токсичности тестируемое вещество экспериментальным животным вводят семь дней в неделю в течение не менее 21–28 дней. Использование пятидневного режима дозирования или более короткого периода введения должно быть обосновано. При проведении основной батареи тестов в рамках изучения фармакологической безопасности, как правило, используют однократное введение препарата, начиная с доз терапевтического диапазона.

КЛИНИЧЕСКИЙ ОСМОТР

Подробное клиническое обследование должно проводиться вне клетки содержания на стандартной площадке или в «открытом поле».

Клиническое обследование обычно включает: изучение изменений кожи, шерсти, глаз, слизистых оболочек, появление выделений, экскрементов и вегетативной активности (например, слезотечение, piloerection, изменение размеров зрачка и др.).

Также необходимо регистрировать любые необычные результаты в отношении положения тела, уровня активности и координации движений. Изменения в походке (например, раскачивающаяся походка, атаксия), позы (например, прогиб в спине) и реакции на раздражители окружающей среды, а также наличие клонических или тонических судорог и дрожи, стереотипии, аномальное поведение или агрессия должны быть зарегистрированы. Также необходимо оценить потребление пищи и воды животными, при продолжительных исследованиях (более 14 дней) необходимо проводить офтальмологический осмотр.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ

Функциональные тесты должны включать в себя проверку сенсорной реакции на раздражители различных модальностей, например, слуховые, зрительные и проприоцептивные раздражители [21–23], оценку силы сцепления конечностей [24] и оценку двигательной активности животных [25].

Также для оценки поражения могут быть использованы электрофизиологические методы исследования.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистологическое исследование должно быть проведено для всех отделов центральной и периферической нервной системы: передний мозг, центральный отдел головного мозга, в том числе гиппокамп, средний мозг, мозжечок, варолиев мост, продолговатый

мозг, глаза, зрительный нерв, сетчатка, спинной мозг на уровне шейного и поясничного отделов, дорсальные корешковые ганглии, волокна дорсального и вентрального корешков, проксимальный конец седалищного нерва, проксимальный конец большеберцового нерва и ветви большеберцового нерва в икроножных мышцах. Спинной мозг и отделы периферической нервной системы должны быть представлены в виде крестовых или поперечных и продольных срезов. Необходимо уделить внимание сосудам нервной системы. Также необходимо обследовать образец скелетных мышц, особенно икроножных мышц. Особое внимание уделяют тем участкам центральной и периферической нервной системы, на которые предположительно действует нейротоксикант.

Клинические признаки могут также свидетельствовать о необходимости оценки других тканей или использования специальных процедур окрашивания [26, 27]. Также при гистологическом исследовании могут быть использованы специальные красители для демонстрации конкретных видов патологических изменений [28].

Исследования на курах. Обычно используют молодых самцов кур в возрасте 6 месяцев, одной породы. Для оценки неврологического статуса птиц может быть использована широко применяемая классификация [29–31], описывающая четыре стадии неврологических расстройств у кур:

1 стадия — умеренная атаксия, проявляется медленной, неуклюжей и неустойчивой походкой;

2 стадия — грубая атаксия, походка также медленная, неуклюжая, вразвалочку, но птица еще активна. Часто наблюдаются шатание и падение;

3 стадия — легкий паралич, курица сохраняет типичную позу, сидя на ягодицах, расставив ноги и пригнув голову. Курица может передвигаться с помощью взмаха крыльев;

4 стадия — тяжелый паралич, птица не в состоянии сохранять позу.

Исследования на морских свинках. Введение исследуемых веществ осуществляется взрослым морским свинкам или пренатально [6]. Введение тестируемых объектов в случае использования взрослых животных может осуществляться 21 или 28 суток. Обычно этого периода введения хватает для развития нейропатологии, однако введение можно осуществлять также более длительно, например, 3, 6 или 12 месяцев, в зависимости от длительности планируемого применения в клинических условиях.

При изучении отсроченной нейротоксичности, проявляющейся у потомства, введение тестируемых объектов осуществляют на 50-й день беременности и продолжают ежедневно в течение десяти дней.

Введение с 50-го дня беременности используется, поскольку этот срок у морских свинок совпадает с периодом бурного роста головного мозга (~50 день внутриутробного развития) и периодом быстрой миелинизации (~60 день внутриутробного развития) [32]. Человек и морские свинки являются выводковыми видами, у которых развитие мозга большей частью происходит до рождения. Для сравнения, крысы и мыши демонстрируют послеродовой всплеск роста головного мозга [9]. Морские свинки и человек также имеют более низкие уровни циркулирующих в крови карбоксиэстераз, которые гидролизуют ацетилхолин, по сравнению с высокими уровнями, обнаруженными у крыс и мышей [10, 11].

Нейротоксичность у морских свинок оценивают по клиническому осмотру и функциональным тес-

там, чаще всего используют водный лабиринт Морриса [33, 34].

Исследования на крысах или мышах. Исследования на крысах лучше начинать как можно раньше после прекращения грудного вскармливания, обычно используют животных от шести- до девятинедельного возраста.

При изучении отсроченной нейротоксичности, проявляющейся у потомства, введение тестируемых объектов осуществляют беременным самкам как минимум ежедневно с момента имплантации (6 день беременности) и во время лактации (21 день молочного периода), что будет у крыс соответствовать пренатальному и раннему постнатальному росту головного мозга человека. Введение препарата также может начаться с начала беременности, но в этом случае должно учитываться, что некоторые вещества могут вызвать гибель зародыша до имплантации.

У животных, подвергнутых исследованию во взрослом возрасте, могут быть изучены следующие показатели: клинические наблюдения и масса тела, подробные клинические наблюдения, двигательная активность, сенсорная активность, обучение и память, вес мозга, гистологические исследования.

Оценку нейротоксичности проводят на основании клинического осмотра и батареи функциональных тестов [35, 36]. Обычно оценивают уровень спонтанной активности, реактивности и возбуждения, походку и позу (осанку), наличие непроизвольных движений, стереотипии, странного поведения (самокалечение, изогнутость хвоста, корчи).

Систематическое исследование неврологических рефлексов или реакций позволяет оценить целостность отдельных нервов или нервных путей. Поскольку рефлексы/реакции являются общими для многих видов, эти результаты могут способствовать экстраполяции данных, полученных у животных, на человека. Обычно оценивают реакцию на свет, рефлекс ушной раковины, рефлекс мышц разгибателей.

Оценка поструральной реакции и нейромышечные тесты позволяют оценить силу захвата, способность сохранения позы после падения с небольшой высоты, способность удерживать массу тела на одной конечности и способность поддерживать позу при перемещении. Тесты на силу захвата позволяют оценить количественно мышечную силу, данный параметр отражает степень скоординированности работы периферической нервной системы и мышц [24].

У крыс и мышей широко используют тесты для оценки когнитивных функций: тест пассивного избегания [37], условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ), метод четырех пластин [38], тест темной светлой камеры (стандартная методика была разработана для мышей [39] и модифицирована для крыс [40]), тест рефлекса активного избегания в челночной камере.

Для изучения пространственной памяти и обучения у крыс и мышей разработаны такие тесты, как тест пространственной дискриминации и водный лабиринт Морриса [41, 42].

С целью тестирования рабочей памяти наиболее широко на крысах и мышах используют метод распознавания новых объектов.

Исследования на карликовых свинках. Исследования на взрослых карликовых свинках начинают с возраста самцов 6 месяцев и самок 8 месяцев (возраст, когда животные достигают половозрелости). Однако при изучении нейротоксичности отдельных групп препаратов могут быть использованы самые разные возрастные параметры в зависимости от возрастной

группы, для которой предназначен исследуемый препарат.

При изучении отсроченной нейротоксичности, проявляющейся у потомства, введение тестируемых объектов осуществляют беременным самкам как минимум ежедневно с момента имплантации (срок уточняется в зависимости от породы карликовых свиней) и во время лактации, что должно соответствовать пренатальному и раннему постнатальному росту головного мозга человека. Также препарат можно вводить с начала беременности, но в этом случае следует учитывать, что некоторые вещества могут вызывать гибель зародыша до имплантации.

У животных, подвергнутых исследованию во взрослом возрасте, могут быть изучены следующие показатели: клинические наблюдения и масса тела, подробные клинические наблюдения, двигательная активность, сенсорная активность, обучение и память, вес мозга, гистологические исследования.

Для карликовых свиней в последнее время разработаны и широко применяются функциональные тесты, например, реакция удаления от человека (метод определения мотивированной страхом реакции удаления от человека у разных видов животных) [43], оценка уровня спонтанной активности в тесте «открытое поле» [14, 44] или тест распознавания объектов [45]. Инверсия поведения до и после введения исследуемых объектов может свидетельствовать о нейротоксичности.

Для изучения у карликовых свиней когнитивных функций (рабочая (краткосрочная) память и долговременная память) разработан тест пространственной дискриминации [46].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При разработке программы исследования нового фармакологического вещества необходимо учитывать имеющиеся в наличии данные о его потенциальной нейротоксичности. Предпосылками для оценки нейротоксичности могут служить данные, полученные в экспериментах по острой или хронической токсичности, сведения о механизме действия тестируемого вещества или его химической структуре.

Различные группы фармакологических препаратов имеют разные проявления нейротоксичности, и при формировании программы исследования необходимо учесть эти данные, выбирая подходящий вид животных и перечень тестов. Также полезно учесть длительность применения фармакологического препарата, схему применения, возрастной контингент, для которого он предназначен (дети, взрослые или пожилые люди), в случае изучения психотропных препаратов — патологию, на которую нацелено лечение, возможность применения исследуемого препарата во время беременности. Нет необходимости выполнять все описанные тесты, правильное обоснование программы исследования может позволить существенно сократить перечень исследований. В ряде случаев целесообразно предусмотреть использование как минимум двух видов животных для оценки нейротоксичности, с обязательным использованием не грызунов, что позволит в максимально возможном объеме в ходе доклинических исследований изучить профиль безопасности препарата и создать необходимый уровень безопасности для человека при переходе на I фазу клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals (ICH Topic S7A), 2000. Available from: <https://goo.gl/H0MQFy>.
2. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. М.: Гриф и К; 2013.
3. ГОСТ Р 56700–2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические фармакологические исследования безопасности. М.: Стандартинформ; 2016.
4. Енгальцева ГН, Сюбаев РД, Васильев АН, Снегирева АА, Верстакова ОЛ. Оценка фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2013; (1): 10–3.
5. Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia* 1968; 13(3): 222–57.
6. Irwin S. Drug screening and evaluation of new compounds in animals. In: Nodin JH, Siegler PE, eds. *Animal and clinical techniques in drug evaluation*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1964. P. 36–54.
7. Зильбер ЮД. Влияние трикрезилфосфата на миелиновые оболочки и его мембранотоксическое действие (Некоторые вопросы патогенеза отравлений): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1971.
8. Mullins RJ, Xu S, Pereira EF, Pescrille JD, Todd SW, Mamczarz J, et al. Prenatal exposure of guinea pigs to the organophosphorus pesticide chlorpyrifos disrupts the structural and functional integrity of the brain. *Neurotoxicology* 2015; 48: 9–20.
9. Dobbing J, Sands J. Growth and development of the brain and spinal cord of the guinea pig. *Brain Res.* 1970; 17(1): 115–23.
10. Inns RH, Leadbeater L. The efficacy of bispyridinium derivatives in the treatment of organophosphonate poisoning in the guinea-pig. *J Pharm Pharmacol.* 1983; 35(7): 427–33.
11. Fonnum F, Sterri SH, Aas P, Johnsen H. Carboxylesterases, importance for detoxification of organophosphorus anticholinesterases and trichothecenes. *Fundam Appl Toxicol.* 1985; 5(6 Pt 2): S29–38.
12. Авдеева ОИ, Макарова МН, Макаров ВГ. Особенности изучения общетоксических свойств антипсихотических средств. *Фармация* 2017; (4). В печати.
13. Moran-Gates T, Massari C, Graulich A, Liegeois JF, Tarazi FI. Long-term effects of JL 13, a potential atypical antipsychotic, on rat dopamine and serotonin receptor subtypes. *Journal of Neuroscience Research* 2006; 84(3): 675–82.
14. Van der Staay FJ, Pouzet B, Mahieu M, Nordquist RE, Schuurman T. The d-amphetamine-treated Göttingen miniature pig: an animal model for assessing behavioral effects of antipsychotics. *Psychopharmacology* 2009; 206(4): 715–29.
15. Minuzzi L, Olsen AK, Bender D, Arnfred S, Grant R, Danielsen EH, Cumming P. Quantitative autoradiography of ligands for dopamine receptors and transporters in brain of Göttingen minipig: comparison with results in vivo. *Synapse* 2006; 59(4): 211–19.
16. Elman I, Borsook D, Lukas SE. Food intake and reward mechanisms in patients with schizophrenia: implications for metabolic disturbances and treatment with second-generation antipsychotic agents. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(10): 2091–120.
17. Haddad PM, Wieck A. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia: mechanisms, clinical features and management. *Drugs* 2004; 64(20): 2291–314.
18. ГОСТ Р 56701–2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств. М.: Стандартинформ; 2016.
19. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Test № 418: Delayed Neurotoxicity of Organophosphorus Substances Following Acute Exposure.
20. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Test № 424: Neurotoxicity Study in Rodents.
21. Tupper DE, Wallace RB. Utility of the Neurologic Examination in Rats. *Acta Neurobiol Exp.* 1980; 40(6): 999–1003.
22. Gad SC. A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. *J Toxicol Environ Health* 1982; 9(5–6): 691–704.
23. Moser VC, McDaniel KM, Phillips PM. Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of Amitraz. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1991; 108(2): 267–83.
24. Meyer OA, Tilson HA, Byrd WC, Riley MT. A method for the routine assessment of fore- and hindlimb grip strength of rats and mice. *Neurobehav Toxicol.* 1979; 1(3): 233–6.

25. Crofton KM, Howard JL, Moser VC, Gill MW, Reiter LW, Tilson HA, MacPhail RC. Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. *Neurotoxicol Teratol.* 1991; 13(6): 599–609.
26. Environmental Health Criteria Document 60: Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. World Health Organization, 1986.
27. Spencer PS, Schaumburg HH. Experimental and Clinical Neurotoxicology. Baltimore/London: Williams and Wilkins; 1980.
28. Bancroft JD, Steven A. Chapter 17. Theory and Practice of Histological Techniques. In: *Neuropathological Techniques*. Churchill Livingstone: Lowe, James and Cox; 1990.
29. Abou-Donia MB, Graham DG. Delayed neurotoxicity of subchronic oral administration of leptophos to hens: recovery during four months after exposure. *J Toxicol Environ Health.* 1979; 5(6): 1133–47.
30. Konno N, Katoh K, Yamauchi T, Fukushima M. The effects of drug metabolism inducers on the delayed neurotoxicity and disposition of tri-o-cresyl phosphate in hens following a single intravenous administration. *J Toxicol Sci.* 1988; 13(1): 17–30.
31. Yamauchi T, Katoh K, Konno N, Fukushima M. Delayed neurotoxicity and toxicokinetics of leptophos in hens given repeatedly by low-dose intravenous injections. *J Toxicol Sci.* 1989; 14(1): 11–21.
32. Kapoor A, Matthews SG. Prenatal stress modifies behavior and hypothalamic-pituitary-adrenal function in female guinea pig offspring: effects of timing of prenatal stress and stage of reproductive cycle. *Endocrinology* 2008; 149(12): 6406–15.
33. Dringenberg HC, Richardson DP, Brien JF, Reynolds JN. Spatial learning in the guinea pig: cued versus non-cued learning, sex differences, and comparison with rats. *Behav Brain Res.* 2001; 124(1): 97–101.
34. Lewejohann L, Pickel T, Sachser N, Kaiser S. Wild genius — domestic fool? Spatial learning abilities of wild and domestic guinea pigs. *Front Zool.* 2010; (7): 9.
35. Mattsson JL, Spencer PJ, Albee RR. A performance standard for clinical and functional observation battery examination of rats. *J Am Coll Toxicol.* 1996; 15(3): 239–54.
36. Current protocols in toxicology. Vol. 2. New York: Wiley and Sons; 2005.
37. Netto CA, Izquierdo I. On how passive is inhibitory avoidance. *Behav Neural Biol.* 1985; 43(3): 327–30.
38. Boissier JR, Simon P, Aron C. A new method for rapid screening of minor tranquilizers in mice. *Europ J Pharmacol.* 1968; 4(2): 45–51.
39. Jarvik ME, Kopp R. An improved one-trial learning situation in mice. *Psychol Rep.* 1967; 21(1): 221–4.
40. King RA, Glasser RL. Duration of electroconvulsive shock-induced retrograde amnesia in rats. *Physiol Behav.* 1970; 5(3): 335–9.
41. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci.* 1984; 11(1): 47–60.
42. Morris R, Anderson E, Lynch G, Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Nature* 1986; 319(6056): 774–6.
43. Ланкин ВС, Никитин СВ, Трапезов ОВ. Факторы изменчивости мотивированной страхом реакции удаления от человека у мини-свиней селекции ИЦиГ СО РАН. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 2015; 19(5): 613–23.
44. Lind NM, Arnfred SM, Hemmingsen RP, Hansen AK, Jensen KH. Open field behaviour and reaction to novelty in Göttingen miniature pigs: effects of d-amphetamine and Haloperidol. *Scan J Lab Animal Sci.* 2005; 32: 103–12.
45. Moustgaard A, Lind NM, Hemmingsen R, Hansen AK. Spontaneous Object Recognition in the Göttingen Minipig. *Neural Plast.* 2002; 9(4): 255–9.
46. Haagenen AM, Klein AB, Ettrup A, Matthews LR, Sorensen DB. Cognitive Performance of Göttingen Minipigs Is Affected by Diet in a Spatial Hole-Board Discrimination Test. *PLoS One* 2013; 8(11): e79429.

ОБ АВТОРАХ

Закрытое акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ». Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245.

Макарова Марина Николаевна. Директор, д-р мед. наук.

Макаров Валерий Геннадьевич. Заместитель директора по науке, д-р мед. наук.

Шекунова Елена Васильевна. Руководитель группы экспериментальной фармакологии, канд. биол. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Макарова Марина Николаевна; makarova.mn@doclinika.ru

METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE ASSESSMENT OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES NEUROTOXICITY

M. N. Makarova, V. G. Makarov, E. V. Shekunova

CJSC Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY»,
Zavodskaya street 3/245, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district,
Leningrad region 188663, Russian Federation

Abstract: The article reviews methodological approaches to the assessment of pharmaceutical substances neurotoxicity. It describes the main battery of animal tests that are conducted prior to clinical trials in order to assess drug effects on the functioning of vital body systems. The article addresses the choice of animal species, dosage and duration of pharmaceutical substance administration, as well as the conduct of clinical trials, functional tests and histological studies. It points out that an adequate justification of the study programme may help substantially reduce the number of tests. The authors assert the need to use at least two animal species in neurotoxicity studies, one of which must be a non-rodent species, in order to be able to investigate the drug safety profile during preclinical studies in as much detail as possible and to assure the required safety level for people when moving on to Phase I of clinical trials.

Key words: neurotoxicity; nervous system; motor coordination; sensory reactions; cognitive functions; safety pharmacology; laboratory animals.

For citation: Makarova MN, Makarov VG, Shekunova EV. Methodological approaches to the assessment of pharmaceutical substances neurotoxicity. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2017; 7(2): 111–116.

REFERENCES

1. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals (ICH Topic S7A), 2000. Available from: <https://goo.gl/H0MQFy>.
2. Guidance on evaluation of medicines. Vol. I. Moscow: Grif i K; 2013 (in Russian).
3. State Standard R 56700–2015. Medicinal products for human use. Preclinical safety pharmacology studies. Moscow: Standartinform; 2016 (in Russian).
4. Engalycheva GN, Syubaev RD, Vasiliev AN, Snegireva AA, Verstakova OL. Drug pharmacological safety evaluation in preclinical stu-

- dies. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2013; (1): 10–3 (in Russian).
5. Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia* 1968; 13(3): 222–57.
 6. Irwin S. Drug screening and evaluation of new compounds in animals. In: Nodin JH, Siegler PE, eds. *Animal and clinical techniques in drug evaluation*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1964. P. 36–54.
 7. Zilber YuD. The effect of tricresyl phosphate on myelin sheaths and its membrane toxicity (Some aspects of poisoning pathogenesis). *Dr. Med. Sci [thesis]*. Moscow; 1971 (in Russian).
 8. Mullins RJ, Xu S, Pereira EF, Pescrille JD, Todd SW, Mamczarz J, et al. Prenatal exposure of guinea pigs to the organophosphorus pesticide chlorpyrifos disrupts the structural and functional integrity of the brain. *Neurotoxicology* 2015; 48: 9–20.
 9. Dobbing J, Sands J. Growth and development of the brain and spinal cord of the guinea pig. *Brain Res.* 1970; 17(1): 115–23.
 10. Inns RH, Leadbeater L. The efficacy of bispyridinium derivatives in the treatment of organophosphonate poisoning in the guinea-pig. *J Pharm Pharmacol.* 1983; 35(7): 427–33.
 11. Fonnum F, Sterri SH, Aas P, Johnsen H. Carboxylesterases, importance for detoxification of organophosphorus anticholinesterases and trichothecenes. *Fundam Appl Toxicol.* 1985; 5(6 Pt 2): S29–38.
 12. Avdeeva OI, Makarova MN, Makarov VG. Aspects of studying general toxic properties of antipsychotic agents. *Pharmacy* 2017; (4) (in Russian). In press.
 13. Moran-Gates T, Massari C, Graulich A, Liegeois JF, Tarazi FI. Long-term effects of JL 13, a potential atypical antipsychotic, on rat dopamine and serotonin receptor subtypes. *Journal of Neuroscience Research* 2006; 84(3): 675–82.
 14. Van der Staay FJ, Pouzet B, Mahieu M, Nordquist RE, Schuurman T. The d-amphetamine-treated Göttingen miniature pig: an animal model for assessing behavioral effects of antipsychotics. *Psychopharmacology* 2009; 206(4): 715–29.
 15. Minuzzi L, Olsen AK, Bender D, Arnfred S, Grant R, Danielsen EH, Cumming P. Quantitative autoradiography of ligands for dopamine receptors and transporters in brain of Göttingen minipig: comparison with results in vivo. *Synapse* 2006; 59(4): 211–19.
 16. Elman I, Borsook D, Lukas SE. Food intake and reward mechanisms in patients with schizophrenia: implications for metabolic disturbances and treatment with second-generation antipsychotic agents. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(10): 2091–120.
 17. Haddad PM, Wieck A. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia: mechanisms, clinical features and management. *Drugs* 2004; 64(20): 2291–314.
 18. State Standard R 56701–2015. Medicinal products for human use. Guideline on planning preclinical safety studies for the purpose of subsequently conducting clinical trials and carrying out authorisation of medicines. Moscow: Standartinform; 2016 (in Russian).
 19. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Test № 418: Delayed Neurotoxicity of Organophosphorus Substances Following Acute Exposure.
 20. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Test № 424: Neurotoxicity Study in Rodents.
 21. Tupper DE, Wallace RB. Utility of the Neurologic Examination in Rats. *Acta Neurobiol Exp.* 1980; 40(6): 999–1003.
 22. Gad SC. A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. *J Toxicol Environ Health* 1982; 9(5–6): 691–704.
 23. Moser VC, McDaniel KM, Phillips PM. Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of Amitraz. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1991; 108(2): 267–83.
 24. Meyer OA, Tilson HA, Byrd WC, Riley MT. A method for the routine assessment of fore- and hindlimb grip strength of rats and mice. *Neurobehav Toxicol.* 1979; 1(3): 233–6.
 25. Crofton KM, Howard JL, Moser VC, Gill MW, Reiter LW, Tilson HA, MacPhail RC. Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. *Neurotoxicol Teratol.* 1991; 13(6): 599–609.
 26. Environmental Health Criteria Document 60: Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. World Health Organization, 1986.
 27. Spencer PS, Schaumburg HH. *Experimental and Clinical Neurotoxicology*. Baltimore/London: Williams and Wilkins; 1980.
 28. Bancroft JD, Steven A. Chapter 17. Theory and Practice of Histological Techniques. In: *Neuropathological Techniques*. Churchill Livingstone: Lowe, James and Cox; 1990.
 29. Abou-Donia MB, Graham DG. Delayed neurotoxicity of subchronic oral administration of leptophos to hens: recovery during four months after exposure. *J Toxicol Environ Health.* 1979; 5(6): 1133–47.
 30. Konno N, Katoh K, Yamauchi T, Fukushima M. The effects of drug metabolism inducers on the delayed neurotoxicity and disposition of tri-o-cresyl phosphate in hens following a single intravenous administration. *J Toxicol Sci.* 1988; 13(1): 17–30.
 31. Yamauchi T, Katoh K, Konno N, Fukushima M. Delayed neurotoxicity and toxicokinetics of leptophos in hens given repeatedly by low-dose intravenous injections. *J Toxicol Sci.* 1989; 14(1): 11–21.
 32. Kapoor A, Matthews SG. Prenatal stress modifies behavior and hypothalamic-pituitary-adrenal function in female guinea pig offspring: effects of timing of prenatal stress and stage of reproductive cycle. *Endocrinology* 2008; 149(12): 6406–15.
 33. Dringenberg HC, Richardson DP, Brien JF, Reynolds JN. Spatial learning in the guinea pig: cued versus non-cued learning, sex differences, and comparison with rats. *Behav Brain Res.* 2001; 124(1): 97–101.
 34. Lewejohann L, Pickel T, Sachser N, Kaiser S. Wild genius — domestic fool? Spatial learning abilities of wild and domestic guinea pigs. *Front Zool.* 2010; (7): 9.
 35. Mattsson JL, Spencer PJ, Albee RR. A performance standard for clinical and functional observation battery examination of rats. *J Am Coll Toxicol.* 1996; 15(3): 239–54.
 36. Current protocols in toxicology. Vol. 2. New York: Wiley and Sons; 2005.
 37. Netto CA, Izquierdo I. On how passive is inhibitory avoidance. *Behav Neural Biol.* 1985; 43(3): 327–30.
 38. Boissier JR, Simon P, Aron C. A new method for rapid screening of minor tranquilizers in mice. *Europ J Pharmacol.* 1968; 4(2): 45–51.
 39. Jarvik ME, Kopp R. An improved one-trial learning situation in mice. *Psychol Rep.* 1967; 21(1): 221–4.
 40. King RA, Glasser RL. Duration of electroconvulsive shock-induced retrograde amnesia in rats. *Physiol Behav.* 1970; 5(3): 335–9.
 41. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci.* 1984; 11(1): 47–60.
 42. Morris R, Anderson E, Lynch G, Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Nature* 1986; 319(6056): 774–6.
 43. Lankin VS, Nikitin SV, Trapezev OV. Factors contributing to the variation of the fearful withdrawal response to humans in minipigs bred at ICG SB RAS. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 2015; 19(5): 613–23 (in Russian).
 44. Lind NM, Arnfred SM, Hemmingsen RP, Hansen AK, Jensen KH. Open field behaviour and reaction to novelty in Göttingen miniature pigs: effects of d-amphetamine and Haloperidol. *Scan J Lab Animal Sci.* 2005; 32: 103–12.
 45. Moustgaard A, Lind NM, Hemmingsen R, Hansen AK. Spontaneous Object Recognition in the Göttingen Minipig. *Neural Plast.* 2002; 9(4): 255–9.
 46. Haagensen AM, Klein AB, Ettrup A, Matthews LR, Sorensen DB. Cognitive Performance of Göttingen Minipigs Is Affected by Diet in a Spatial Hole-Board Discrimination Test. *PLoS One* 2013; 8(11): e79429.

AUTHORS

Closed Joint Stock Company Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY», Zavodskaya street 3/245, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation.

Makarova MN. Director. Doctor of Medical Sciences.

Makarov VG. Deputy Director for Science. Doctor of Medical Sciences.

Shekunova EV. Head of the Experimental Pharmacology Group. Candidate of Biological Sciences.

CONTACT E-MAIL

Makarova Marina Nikolaevna; makarova.mn@doclinika.ru

Различия в фармакокинетике ибупрофена в моно- и многокомпонентных препаратах

Л. М. Красных¹, В. В. Смирнов^{1,2}, Г. Ф. Василенко¹,
О. А. Горошко¹, Е. А. Егоренков², В. И. Зозина²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
127051, Российская Федерация, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский университет), 119991, Российская Федерация,
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Статья поступила 27.03.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Представлены результаты исследования фармакокинетики моно- и комбинированных препаратов ибупрофена после однократного перорального приема здоровыми добровольцами. Определена концентрация ибупрофена в плазме крови с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием. Рассчитаны основные фармакокинетические параметры после однократного приема внутрь изучаемых препаратов: $C_{\max}$, $T_{\max}$, $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} , MRT , K_{el} , T_S . Показано, что фармакокинетика препаратов Ибупрофен/моно и Ибупрофен/(питофенон+фенпивериния бромид) после однократного приема не имеет статистически значимых различий, тогда как комбинированный препарат Ибупрофен/парацетамол имеет статистически значимые различия фармакокинетики по сравнению с монопрепаратом ибупрофена.

Ключевые слова: ибупрофен; нестероидные противовоспалительные средства; высокоэффективная жидкостная хроматография; фармакокинетика; монопрепарат; комбинированный препарат.

Библиографическое описание: Красных ЛМ, Смирнов ВВ, Василенко ГФ, Горошко ОА, Егоренков ЕА, Зозина ВИ. Различия в фармакокинетике ибупрофена в моно- и многокомпонентных препаратах. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 117–121.

Согласно фармакологической классификации ибупрофен относится к классу нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВС) и является производным пропионовой кислоты. Его основные эффекты — жаропонижающий и противовоспалительный — опосредованы ингибированием активности циклооксигеназы и, соответственно, синтеза простагландинов — медиаторов боли, воспаления и температурной реакции [1]. Ибупрофен также обладает анальгезирующим эффектом, что широко используется для купирования головной боли (мигрени) [2], зубной боли [3], боли в горле [4] и пр. Ибупрофен, обладая высокой эффективностью и низкой токсичностью, широко применяется при длительном лечении различных воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата [5]. Обычная пероральная доза для взрослых составляет 400–800 мг/сут для лечения болевого синдрома и 1600–2400 мг/сут для противовоспалительного действия. Анальгезирующий эффект начинается через 30 мин и длится 4–6 ч, жаропонижающее действие проявляется через 2–4 ч и продолжается 4–8 ч [6].

После приема внутрь препарат хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте. Пища мало влияет на биодоступность ибупрофена, которая составляет менее 80 %. Препарат связывается с белками плазмы на 90 %, метаболизируется в печени до двух неактивных метаболитов, быстро и практически полностью выделяется почками. Ибупрофен метаболи-

зируется в печени изоферментами цитохрома P450 (CYP) CYP2C9 и CYP2C8. Именно быстрым метаболизмом и отсутствием образования активных метаболитов объясняется низкая токсичность ибупрофена [1].

Ибупрофен возможно использовать как в монотерапии, так и в составе комбинированной терапии в сочетании с другими лекарственными средствами. Так, добавление к ибупрофену тизанидина не только повышает эффективность терапии, но и снижает частоту нежелательных явлений от применения НПВС. Пациенты, получавшие комбинированную терапию ибупрофен/тизанидин, значимо реже отмечали побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта по сравнению с группой плацебо/ибупрофен ($p < 0,002$) [7]. Комбинация ибупрофен/парацетамол у пациентов с болевым синдромом после первого применения демонстрирует выраженный анальгетический эффект, который сохраняется несколько дольше, чем при применении монопрепаратов и нарастает после второго и третьего приемов в течение первых суток, а с третьего дня лечения становится устойчивым и достоверно превышает аналогичные показатели монопрепаратов [8].

Клинический опыт использования ибупрофена при самых частых формах болевых синдромов демонстрирует его эффективность не только как средства для купирования болевых эпизодов, но и для курсового лечения хронической боли. Дополнительным

преимуществом данного препарата является существование его в нескольких лекарственных формах [9].

Повышение эффективности и безопасности лекарственной терапии возможно благодаря подробному изучению фармакокинетических и фармакодинамических показателей, поэтому целью настоящего исследования явилось изучение фармакокинетики ибупрофена в моно- и многокомпонентных препаратах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты:

1. Ибупрофен/моно — таблетки, покрытые оболочкой, содержащие активное вещество: ибупрофен 400 мг.

2. Ибупрофен/комб. 1 — таблетки, покрытые пленочной оболочкой, содержащие активные вещества: ибупрофен 400 мг, питофенона гидрохлорид 5 мг, фенпивериния бромид 0,1 мг.

3. Ибупрофен/комб. 2 — таблетки, покрытые пленочной оболочкой, содержащие активные вещества: ибупрофен 400 мг, парацетамол 325 мг.

В фармакокинетическое исследование было включено по 24 здоровых добровольца (на каждый исследуемый препарат), без патологий желудочно-кишечного тракта, печени, почек, сердечно-сосудистой системы. Предварительно проведенные клинико-лабораторные и инструментальные исследования не выявили наличия каких-либо заболеваний. Препараты давали натощак однократно внутрь, по одной таблетке одного из исследуемых препаратов. Отбор проб крови проводили до приема препарата и через 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 12 и 24 ч после приема препарата. Отделенную плазму помещали в маркированные пробирки. До момента анализа все образцы хранились при температуре минус 35 °С.

Количественное определение проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для хроматографического анализа подготовку проб осуществляли методом осаждения белков. В центрифужные пробирки типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл вносили 250 мкл исследуемого образца плазмы, затем к нему добавляли 750 мкл ацетонитрила, перемешивали на встряхивателе типа «Вортекс» в течение 15 секунд, далее центрифугировали в течение 10 мин при 13200 об/мин. Полученный супернатант переносили в хроматографические флаконы и анализировали на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (США) со спектрофотометрическим детектором при длине волны $\lambda = 260$ нм. Хроматографическое разделение проводили на колонке Agilent Eclipse XDB-C18 (150×4,6 мм; 5 мкм). В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила с фосфатным буфером в соотношении 60:40 v/v (pH 7,0) в изократическом режиме элюирования со скоростью потока 0,8 мл/мин.

С целью оценки линейности методики осуществляли построение калибровочного графика. Для построения калибровочного графика готовили калибровочные модельные смеси путем внесения в интактную плазму крови соответствующих стандартных растворов ибупрофена. В диапазоне концентраций 0,5–50 мкг/мл калибровочный график описывался линейной функцией с высоким показателем достоверности аппроксимации. Коэффициент корреляции составил 0,9985.

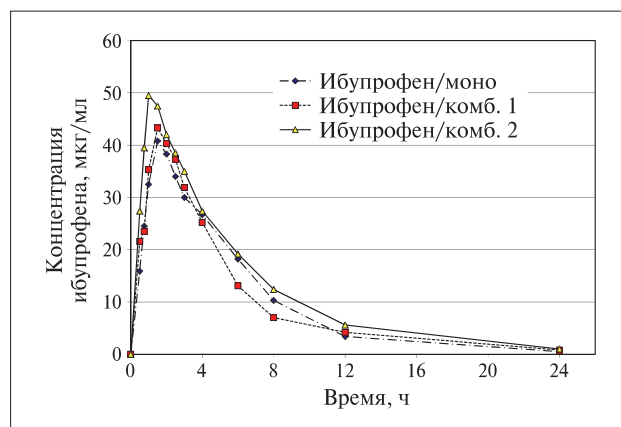


Рис. 1. Усредненные фармакокинетические кривые ибупрофена в плазме крови добровольцев после однократного приема внутрь препаратов Ибупрофен/моно, Ибупрофен/комб. 1 и Ибупрофен/комб. 2

Правильность и прецизионность методики соответствовала критериям приемлемости (не более 20 % — для нижней точки, не более 15 % — для остальных).

Статистическая обработка полученных результатов. На основании полученных результатов измерения концентрации ибупрофена в плазме крови добровольцев с помощью программы R project (версия 3.2.5, лицензия GPL-2/GPL-3) были вычислены следующие фармакокинетические параметры изучаемого действующего вещества: $C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, MRT , K_{el} , T_s .

Используя программу IBM SPSS Statistics v. 22.0.0.0. рассчитывали следующие статистические параметры: среднее арифметическое (Mean), среднее геометрическое (GMean), стандартное отклонение (SD), медиана (Median), коэффициент вариации (CV), нижняя граница 90 % доверительного интервала (L-90), верхняя граница 90 % доверительного интервала (U-90). Достоверность различий полученных параметров оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены усредненные фармакокинетические кривые ибупрофена в плазме крови добровольцев после однократного приема внутрь изучаемых препаратов, где анализируемое вещество определялось в течение 24 ч.

После однократного приема исследуемых препаратов фармакокинетические кривые имеют схожую форму. Максимальная концентрация ибупрофена в плазме крови достигается достаточно быстро — через 1–1,5 ч после приема препаратов. Далее наблюдается постепенное снижение концентрации ибупрофена, и к 24 часу эксперимента действующее вещество в плазме крови определяется в незначительных количествах.

Следует отметить, что после приема исследуемых препаратов имеет место значительная межличностная вариация во всех точках отбора крови. Коэффициент вариации колебался от 11 до 56 % после приема препарата Ибупрофен/моно, от 32 до 71 % — после приема Ибупрофен/комб. 1 и от 17 до 58 % — после приема Ибупрофен/комб. 2.

УСРЕДНЕННЫЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ИЗУЧАЕМЫХ ПРЕПАРАТОВ

	$C_{\max}$, мкг/мл	$T_{\max}$, ч	AUC_{0-t} , мкг·ч/мл	$AUC_{0-\infty}$, мкг·ч/мл	$C_{\max}/AUC_{0-\infty}$	K_{el} , ч ⁻¹	T_S , ч	MRT, ч
Препарат Ибупрофен/моно								
Mean	43,9	1,64	211,7	225,3	0,214	0,258	2,54	4,86
GMean	43,8	1,58	207,9	220,7	0,210	0,279	2,49	4,83
SD	4,0	0,45	40,9	48,4	0,039	0,059	0,57	0,61
CV	9,2	27,3	19,3	21,5	18,1	20,55	22,4	12,6
Median	44,7	1,50	202,7	213,1	0,204	0,288	2,42	4,64
L-90	42,4	1,47	195,9	206,5	0,198	0,262	2,32	4,62
U-90	45,5	1,81	227,6	244,0	0,229	0,307	2,76	5,10
Препарат Ибупрофен/комб. 1								
Mean	44,8*	1,56*	196,1*	204,7*	0,234*	0,268	2,82*	4,42*
GMean	42,9	1,45	185,1	193,6	0,232	0,257	2,69	4,37
SD	5,9	0,58	69,4	70,8	0,026	0,069	0,96	0,70
CV	28,7	36,9	35,4	34,6	10,9	25,9	34,1	15,8
Median	45,8	1,50	193,3	205,8	0,233	0,292	2,38	4,40
L-90	40,5	1,37	172,8	180,9	0,225	0,244	2,50	4,19
U-90	49,2	1,76	219,4	228,5	0,242	0,291	3,12	4,66
Препарат Ибупрофен/комб. 2								
Mean	49,5**	1,23**	293,9**	300,0**	0,165**	0,288	3,46**	5,53*
GMean	46,2	1,12	285,4	291,2	0,160	0,293	3,29	5,45
SD	7,4	0,55	61,2	65,2	0,020	0,051	0,62	0,70
CV	32,2	29,4	21,5	26,3	12,4	15,4	25,0	14,2
Median	47,2	1,20	274,1	305,0	0,162	0,296	3,11	5,23
L-90	43,4	1,12	269,3	286,3	0,158	0,268	3,24	5,35
U-90	52,8	1,38	302,2	315,0	0,172	0,300	3,58	5,69

* $p < 0,05$ ** $p > 0,05$

Полученные экспериментальные данные концентрации ибупрофена были обработаны с использованием метода математического моделирования, что позволило рассчитать параметры фармакокинетики изучаемых препаратов. Значения усредненных фармакокинетических параметров представлены в таблице 1.

После однократного перорального приема препаратов Ибупрофен/комб. 1 и Ибупрофен/моно время достижения максимальной концентрации составило $1,56 \pm 0,58$ ч и $1,64 \pm 0,45$ ч, соответственно. Значение максимальной концентрации после однократного перорального приема препарата Ибупрофен/комб. 1 было несколько выше, чем после приема препарата Ибупрофен/моно, и составило $44,8 \pm 5,9$ мкг/мл и $43,9 \pm 4,0$ мкг/мл, соответственно, а время ее достижения наступало быстрее при приеме препарата Ибупрофен/комб. 1. Площадь под фармакокинетической кривой у препарата Ибупрофен/комб. 1 была меньше ($AUC_{0-\infty} = 204,7 \pm 70,8$ мкг·ч/мл), чем после приема препарата Ибупрофен/моно ($AUC_{0-\infty} = 225,3 \pm 48,4$ мкг·ч/мл). Однако статистически значимых различий фармакокинетики этих препаратов установлено не было ($p < 0,05$).

Основной параметр, характеризующий степень биологической доступности препарата AUC_{0-24} , а также максимальная концентрация $C_{\max}$ имеют статистически значимые отличия ($p > 0,05$) после одно-

кратного перорального приема препаратов Ибупрофен/моно и Ибупрофен/комб. 2. Площадь под фармакокинетической кривой больше после приема препарата Ибупрофен/комб. 2, чем после приема препарата Ибупрофен/моно, значение максимальной концентрации также выше у препарата Ибупрофен/комб. 2. Другие изученные в данном исследовании фармакокинетические параметры также статистически достоверно отличаются ($p > 0,05$) при приеме этих препаратов. Препарат Ибупрофен/комб. 2 быстрее всасывается в системный кровоток, чем Ибупрофен/моно. Период элиминации и время удерживания увеличивается после приема комбинированного препарата Ибупрофен/комб. 2, по сравнению с монопрепаратом.

Таким образом, проведенное исследование показало, что исследуемые препараты Ибупрофен/моно (ибупрофен 400 мг) и комбинированный препарат Ибупрофен/комб. 1 (ибупрофен 400 мг + питофенон 5 мг + фенпивериния бромид 0,1 мг) имеют схожий фармакокинетический профиль после однократного приема внутрь здоровыми добровольцами. Однако, при приеме монопрепарата Ибупрофен/моно (ибупрофен 400 мг) и комбинированного препарата Ибупрофен/комб. 2 (ибупрофен 400 мг + парацетомол 325 мг) были установлены статистически значимые различия в фармакокинетике этих препаратов. Эти различия, по-видимому, и объясняют лучший тера-

певтический эффект комбинированной формы Ибупрофена (ибупрофен+парацетамол) по сравнению с монопрепаратом Ибупрофена [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Mazaleuskaya LL, Theken KN, Gong L, Thorn CF, FitzGerald GA, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: ibuprofen pathways. *Pharmacogenet Genomics*. 2015; 25(2): 96–106.
2. Holland S, Silberstein SD, Freitag F, Dodick DW, Argoff C, Ashman E. Evidence-based guideline update: NSAIDs and other complementary treatments for episodic migraine prevention in adults. *Neurology* 2012; 78(17): 1346–53.
3. Hersh EV, Kane WT, O'Neil MG, Kenna GA, Katz NP, Golubic S, et al. Prescribing recommendations for the treatment of acute pain in dentistry. *Compend Contin Educ Dent*. 2011; 32(3): 24–30.
4. Brain P, Leyva R, Doyle G, Kellstein D. Onset of analgesia and efficacy of ibuprofen sodium in postsurgical dental pain. *Clin J Pain*. 2015; 31(5): 444–50.
5. Khalifa N, El-Husseini T, Morrah A, Mostafa E, Hamoud H. Use of ibuprofen sustained release for treating osteoarthritic pain: findings from 15 general medical practices in Egypt. *Open Access Rheumatol*. 2014; (6): 49–56.
6. Beaver WT. Review of the analgesic efficacy of ibuprofen. *Int J Clin Pract*. 2003; (135): 13–7.
7. Berry H, Hutchinson DR. Tizanidine and ibuprofen in acute low-back pain: results of a double-blind multicentre study in general practice. *J Int Med Res*. 1988; 16(2): 83–91.
8. Баранова ЛН, Купряшина НВ, Львова ЛВ, Мазуренко ДВ, Морозенко ОА, Муратхузина АР, и др. Эффективность и безопасность фиксированной комбинации ибупрофен/парацетамол при лихорадочном и болевом синдромах в амбулаторной практике. *Клиническая фармакология и терапия* 2014; (4): 95–8.
9. Rainsford KD. Fifty years since the discovery of ibuprofen. *Inflammopharmacology* 2011; 19(6): 293–7.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
Красных Людмила Михайловна. Начальник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, канд. биол. наук.
Смирнов Валерий Валерьевич. Ведущий научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, канд. фарм. наук.
Василенко Галина Федоровна. Ведущий научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, канд. биол. наук.
Горошко Ольга Александровна. Старший научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, канд. фарм. наук.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет). Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, д. 8, стр. 2.
Егоренков Евгений Андреевич. Аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева.
Зозина Владлена Игоревна. Аспирант кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Красных Людмила Михайловна; lkrasnykhLM59@mail.ru

DIFFERENCES IN THE PHARMACOKINETICS OF IBUPROFEN IN MONO- AND MULTI-COMPONENT DRUGS

L. M. Krasnykh¹, V. V. Smirnov^{1,2}, G. F. Vasilenko¹, O. A. Goroshko¹,
E. A. Egorenkov², V. I. Zozina²

¹ Federal State Budgetary Institution
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation

² Federal State Autonomous Budgetary Educational Institution of Higher Education
I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation

Abstract: The article reports the results of the study which investigated the pharmacokinetics of mono- and multi-component ibuprofen-containing drugs following single oral administration to healthy volunteers. Plasma concentration of ibuprofen was determined by HPLC with spectrophotometric detection. The main pharmacokinetic parameters — $C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, MRT, K_{el} , T_s — were calculated after single oral administration of the tested drugs. The pharmacokinetics of Ibuprofen/mono and Ibuprofen (pitofenone+fenpiverinium bromide) after single administration did not demonstrate any statistically significant differences, while the combination drug Ibuprofen/paracetamol did have statistically significant differences in pharmacokinetics as compared to the monocomponent Ibuprofen drug.

Key words: ibuprofen; nonsteroidal anti-inflammatory drugs; high performance liquid chromatography; pharmacokinetics; mono-component drug; combination drug.

For citation: Krasnykh LM, Smirnov VV, Vasilenko GF, Goroshko OA, Egorenkov EA, Zozina VI. Differences in the pharmacokinetics of ibuprofen in mono- and multi-component drugs. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2017; 7(2): 117–121.

REFERENCES

1. Mazaleuskaya LL, Theken KN, Gong L, Thorn CF, FitzGerald GA, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: ibuprofen pathways. *Pharmacogenet Genomics*. 2015; 25(2): 96–106.
2. Holland S, Silberstein SD, Freitag F, Dodick DW, Argoff C, Ashman E. Evidence-based guideline update: NSAIDs and other complementary treatments for episodic migraine prevention in adults. *Neurology* 2012; 78(17): 1346–53.
3. Hersh EV, Kane WT, O'Neil MG, Kenna GA, Katz NP, Golubic S, et al. Prescribing recommendations for the treatment of acute pain in dentistry. *Compend Contin Educ Dent*. 2011; 32(3): 24–30.
4. Brain P, Leyva R, Doyle G, Kellstein D. Onset of analgesia and efficacy of ibuprofen sodium in postsurgical dental pain. *Clin J Pain*. 2015; 31(5): 444–50.
5. Khalifa N, El-Husseini T, Morrah A, Mostafa E, Hamoud H. Use of ibuprofen sustained release for treating osteoarthritic pain: findings from 15 general medical practices in Egypt. *Open Access Rheumatol*. 2014; (6): 49–56.
6. Beaver WT. Review of the analgesic efficacy of ibuprofen. *Int J Clin Pract*. 2003; (135): 13–7.
7. Berry H, Hutchinson DR. Tizanidine and ibuprofen in acute low-back pain: results of a double-blind multicentre study in general practice. *J Int Med Res*. 1988; 16(2): 83–91.
8. Baranova LN, Kupryashina NV, Lvova LV, Mazurenko DV, Morozenko OA, Muratkuzina AR, et al. Efficacy and safety of fixed ibuprofen/paracetamol combination in fever and pain syndromes in ambulatory practice. *Clinical Pharmacology and Therapy* 2014; (4): 95–8 (in Russian).

AUTHORS

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

Krasnykh LM. Head of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre. Candidate of Biological Sciences.

Smirnov VV. Leading research associate of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre.

Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Vasilenko GF. Leading research associate of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre.

Candidate of Biological Sciences.

Goroshko OA. Senior research associate of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre.

Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Federal State Autonomous Budgetary Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation.

Egorenkov EA. Postgraduate student of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry named after A. P. Arzamastsev.

Zozina VI. Postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases.

CONTACT E-MAIL

Krasnykh Lyudmila Mikhaylovna; lkrasnykhLM59@mail.ru

Применение информационных технологий для управления фармацевтическими данными

К. А. Кошечкин, Е. М. Рычихина

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

Статья поступила 24.01.2017 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Подготовлен обзор международного опыта применения информационных технологий для управления фармацевтическими данными. Изучена возможность внедрения CALS/PLM-технологий для информатизации фармации на примере внедрения формата регистрационного досье eCTD. Рекомендованы направления работы по переходу на аналогичный формат в рамках работы регуляторных органов Российской Федерации и применению его для формирования единого рынка лекарственных средств Евразийского экономического союза. Приведена краткая характеристика модулей, входящих в общий технический документ, и их наполнение, а также общие принципы создания электронной версии согласно данному формату. Применение единого электронного формата предоставления досье позволит автоматизировать контроль за полнотой направляемых документов, интегрировать информационные системы разработчиков лекарственных препаратов и регуляторных органов.

Ключевые слова: регистрационное досье; CTD; eCTD; OTD; информатизация фармации; CALS/PLM-технологии.

Библиографическое описание: Кошечкин КА, Рычихина ЕМ. Применение информационных технологий для управления фармацевтическими данными. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 122–125.

После технологических революций XX века современная цивилизация вошла в стадию глобализации. На этом этапе развития достижения в улучшении общественного здоровья в одной стране имеют последствия для всего мирового сообщества. Соответственно, существуют неоспоримые доводы в пользу организации эффективного международного сотрудничества в сфере здравоохранения, и такое сотрудничество является необходимой основой устойчивого развития. В соответствии с Договором о Евразийском экономическом союзе (ЕврАзЭС) от 29 мая 2014 года [1] информационное взаимодействие уполномоченных органов стран-участников ЕврАзЭС друг с другом, а также с Евразийской экономической комиссией, осуществляется в рамках реализации общих процессов средствами интегрированной информационной системы внешней и взаимной торговли, а также создаваемой на основе расширения ее функциональных возможностей интегрированной информационной системы.

Согласно проекту Правил регистрации и экспертизы лекарственных средств (ЛС) в рамках ЕврАзЭС [2] определены единые требования к порядку регистрации, подтверждения регистрации (перерегистрации), внесения изменений в регистрационное досье и экспертизы лекарственных препаратов (ЛП). В целях формирования общего рынка ЛС в рамках ЕврАзЭС определены требования к документам и данным регистрационного досье в формате общего технического документа, предоставляемого на регистрацию ЛП. Таким образом, определен стандарт предоставления информации о ЛП, согласованный на международном уровне и гармонизированный с требованиями регуляторных органов развитых стран.

Регистрационное досье в формате общего технического документа основано на практике приме-

нения за рубежом ряда международных стандартов и спецификаций. В них описаны и регламентированы базовые технологии представления данных и управления этими данными, а также регламентированы информационные модели для различных предметных областей.

Спецификация CTD (англ. Common Technical Document — Общий технический документ) является одним из стандартов для обмена информацией о ЛП. Данная спецификация была разработана для досье при регистрации ЛП и применяется в Европе, Японии и США. Этот формат является международно признанным для подготовки документов, касающихся новых препаратов, для подачи в региональные регуляторные органы вышеупомянутых стран. Он был разработан EMA (European Medicines Agency, Европейское агентство по лекарственным средствам), FDA (Food and Drug Administration, Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств, США) и Министерством здравоохранения, труда и социального обеспечения (Ministry of Health, Labour and Welfare, Япония). Стандарт CTD утвержден ICH (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных средств для применения у человека).

Спецификация CTD включает в себя 5 модулей. Первый из них является специфичным для страны, где используется документ, сформированный с соблюдением данного стандарта. Модули 2, 3, 4 и 5 предназначены для использования во всех странах, принявших данный формат для обмена информацией. Национальные регуляторные органы стран, использующих данный формат, публикуют методи-

ческие рекомендации, которые предназначены для обеспечения корректности формирования модулей документа и его пригодности для регуляторных органов.

Модуль № 1 содержит административную информацию, такую как формы заявлений или предлагаемые макеты этикетки. Содержимое и формат этого модуля задаются регуляторными органами каждой из стран.

Модуль № 2 содержит выдержки из остальных модулей общего технического документа. Он включает вводную часть с общей информацией о фармацевтических характеристиках, фармакологическую группу, вид действия и предлагаемого клинического использования. Также в этот модуль включены обзоры по доклиническим и клиническим исследованиям, представленным в досье. Остальные подразделы этого модуля содержат в себе заключения, предлагаемые заявителем на основе представляемых данных. Эти заключения относятся к трем следующим модулям документа: заключение по качеству, заключение по доклиническим испытаниям и заключение по клиническим испытаниям.

Модуль № 3 содержит подробную информацию по качеству препарата. Во-первых, это информация о лекарственных субстанциях, используемых в составе препарата. Для них должна быть включена информация о названии, структуре, общих свойствах. Указан производитель, приведено описание производственного процесса и его контроля. Описан контроль материалов, контроль критических этапов и промежуточной продукции, валидация процесса производства и/или его оценка. Также описывается разработка производственного процесса. Указываются сведения о примесях. Приводятся данные о контроле лекарственных веществ: спецификация, аналитические методики, валидация аналитических методик, аналитические протоколы нескольких серий, обоснование спецификации. Перечисляются требуемые стандартные образцы или вещества. Приводится характеристика системы упаковки/упорки, определение стабильности. Также в этот модуль включаются резюме относительно стабильности и выводы.

Сведения о ЛП включают описание и состав ЛП, сведения о фармацевтической разработке, используемые вспомогательные вещества. Сведения о процессе разработки состава, физико-химические и биологические свойства, данные о разработке производственного процесса, разработке системы упаковки/упорки, микробиологические характеристики, совместимость с другими ЛП.

Также указываются производители используемых компонентов, состав на серию, описание производственного процесса и его контроля, контроль критических этапов и промежуточной продукции, валидация процесса и/или его оценка. Информация о том, как проводится контроль вспомогательных веществ, спецификации, аналитические методики, валидация аналитических методик, обоснование спецификаций, указываются вспомогательные вещества человеческого и животного происхождения, новые вспомогательные вещества. Описываются применяемые стандартные образцы и вещества. Дополнительно при необходимости предоставляются сведения о технических средствах и оборудовании, необходимых для осуществления контроля качества. Оценка безопасности относительно посторонних микроорганизмов. Предоставляются копии использованных литературных источников.

Модуль № 4 содержит отчеты о доклинических исследованиях. В нем представлены отчеты об исследовании, первичная фармакодинамика, вторичная фармакодинамика, фармакология безопасности, фармакодинамические лекарственные взаимодействия. Фармакокинетика препарата описывается на основании аналитических методов и отчетов относительно их валидации по всасыванию, распределению и метаболизму. Исследования по токсикологии включают в себя токсичность при введении однократной дозы, токсичность при введении повторных доз, генотоксичность, канцерогенность, репродуктивную и онтогенетическую токсичность, местную переносимость и другие исследования токсичности. Все сведения подтверждаются копиями использованных литературных источников.

Модуль № 5 включает перечень проведенных клинических исследований и сами протоколы проведения клинических исследований. Перечень всех клинических испытаний, представленный в виде таблицы, а также отчеты о клинических испытаниях, отчеты о биофармацевтических исследованиях, отчеты об исследованиях, которые касаются фармакокинетики при использовании биоматериалов человека. Отчеты о фармакокинетических исследованиях у человека. Отчеты о фармакодинамических исследованиях у человека. Отчеты об исследовании эффективности и безопасности. Отчеты о пострегистрационном опыте применения. Образцы индивидуальных регистрационных форм и индивидуальные списки пациентов. Копии использованных литературных источников [3, 4].

Стандарт CTD был создан еще до повсеместного перевода информации в электронный вид. Его логическим развитием стала спецификация eCTD (Electronic Common Technical Document, Электронный общий технический документ), которая предназначена для передачи информации между участниками фармацевтической индустрии и регуляторными органами в электронном виде. Он был разработан также в рамках работы ICH, а именно ICH M2 EWG (The International Conference on Harmonisation Multidisciplinary Group 2 Expert Working Group, Мультидисциплинарная экспертная рабочая группа № 2) и принят 1 января 2008 года в FDA в качестве формата, необходимого для предоставления электронной информации. К настоящему моменту в FDA в данном формате было передано более 100 тыс. электронных записей, объявлено о разработке законодательной базы для придания этому формату статуса официальных требований к предоставлению информации. Переход на стандарт eCTD будет осуществлен с мая 2017 года по май 2018 года для разного типа досье. В ЕМА осуществляется прием документов в рамках централизованной процедуры в формате eCTD с 2003 года. Начиная с 2014 года данный формат стал обязательным для представления досье. Для децентрализованной процедуры этот стандарт предлагается в качестве рекомендаций в рамках методических рекомендаций агентства.

С точки зрения предметной области, данный формат содержит все те же 5 модулей (рис. 1), отличия заключаются только в способе передачи информации.

Однако с точки зрения информационно-технологического сопровождения жизненного цикла ЛП и CALS/PLM-технологий (Continuous Acquisition and Lifecycle Support/Product Lifecycle Management в пер.

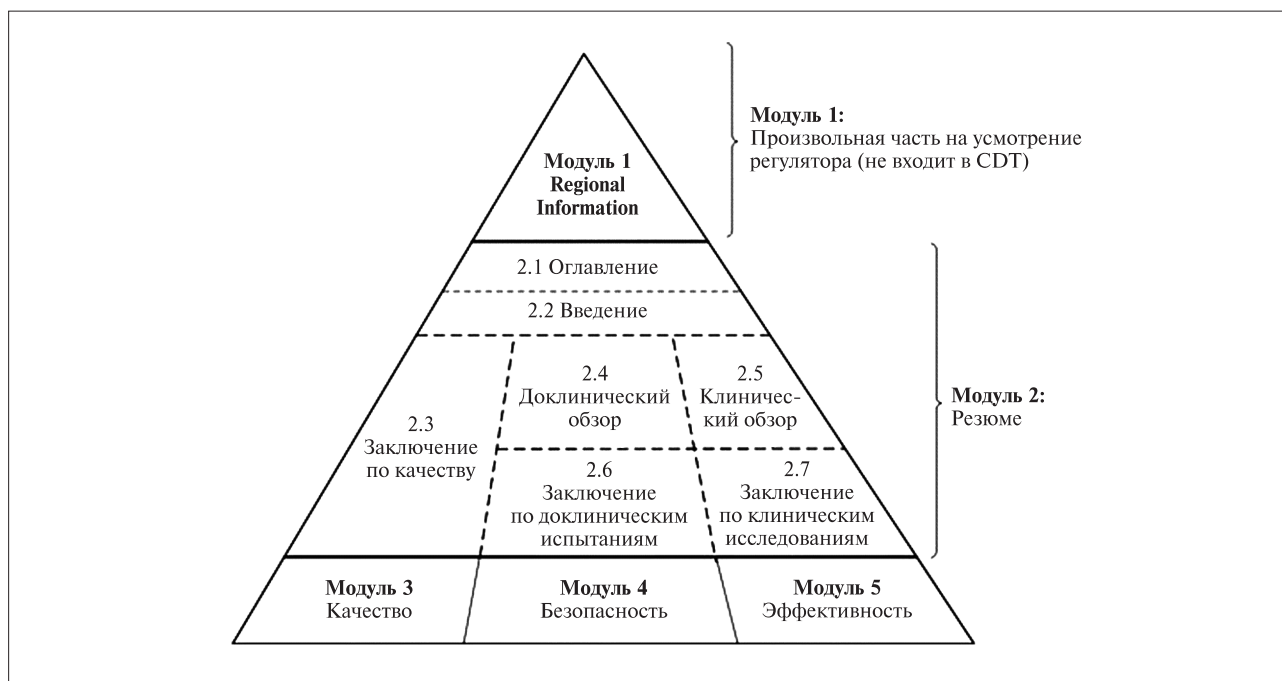


Рис. 1. Структура электронного досье [4]

с англ. технологии непрерывной поддержки поставок и жизненного цикла/управления жизненным циклом) в целом, необходимо более подробно остановиться на характеристиках данного формата.

eCTD представляет собой транспортный формат для передачи файлов и метаданных от отправителя получателю. Основными его техническими компонентами являются:

- высокоуровневая структура папок (обязательных);
- «скелет» в XML-формате, содержащий метаданные о файлах и информацию об их жизненном цикле для системы получателя;
- необязательный уровень подпапок внутри папок первого уровня (с учетом рекомендаций по их наименованиям);
- форматы предоставленных файлов и таблицы стилей.

Каждое сообщение в формате eCTD содержит одну последовательность данных. При этом досье в формате eCTD может содержать суммарно информацию нескольких последовательностей. Одиночную последовательность данных можно просматривать в простом веб-браузере, а для просмотра суммарного eCTD документа необходимо специальное программное обеспечение. XML-файл содержит метаданные обо всех элементах сообщения и оглавление всего содержимого досье, что используется как навигация. Управление жизненным циклом сообщения заключается в хранении первичного сообщения и последующих дополнений к нему с соответствующей инкрементной нумерацией [5–7].

С января 2016 года вступила в силу поправка к Федеральному закону от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (далее — Закон), регламентирующая необходимость представления заявителями и разработчиками ЛС для регистрации в Российской Федерации и проведения других сопутствующих регуляторных процедур регистрационных досье в формате общего технического документа. Российский формат по своей концепции близок к

CTD, одно из отличий заключается в отсутствии в российской версии модуля 2 с обобщающей информацией [8].

Формат eCTD или его российский электронный аналог напрямую в Законе не предусматривается, но норма, предписывающая представление документов регистрационного досье в уполномоченный федеральный орган исполнительной власти в электронном виде, косвенно указывает на необходимость его создания, как минимум, на уровне информационных систем Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Развитие научно-технического прогресса, создание единого рынка ЛС на уровне стран-членов Евразийского экономического союза и разработка единых требований к формату представляемых регистрационных досье неизбежно ведут к скорому внедрению формата eCTD. Гармонизация правил предоставления информации о ЛП в регуляторные органы [9] является важным шагом на пути устранения барьеров для доступа на рынок современных высокоэффективных ЛС, в том числе препаратов для лечения орфанных заболеваний. Применение единого электронного формата предоставления досье позволит автоматизировать контроль за полнотой направляемых документов, интегрировать информационные системы разработчиков лекарственных препаратов и регуляторных органов. Также в формате общего технического документа будет осуществляться обмен данными о регистрируемых лекарственных средствах в рамках работы процедуры взаимного признания в рамках Евразийского экономического союза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Договор о Евразийском экономическом союзе, Астана, 29 мая 2014 года. Available from: <https://goo.gl/lKMy0L>.
2. Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения. Проект. Available from: <https://goo.gl/1Uo9T5>.

- Guidance for Industry, ICH M4. Organization of the CTD. U. S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). August 2001.
- Бунятян НД, Сакаева ИВ, Косарева ТВ, Корсун ЛВ, Саканян ВА. Сравнительная характеристика системы регистрации лекарственных препаратов в Российской Федерации и странах Европейского Союза. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2011; (2): 39–42.
- U. S. FDA Signals Intent to Reject eCTDs with Technical Issues. Available from: <https://goo.gl/7sstwY>.
- Clark K. Updates from the Regulators: FDA. Available from: <https://goo.gl/zdiHUQ>.
- Clark K. DIA Update: News from the FDA. Available from: <https://goo.gl/hN45JN>.
- Федеральный закон Российской Федерации от 22 декабря 2014 г. № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Available from: <https://goo.gl/VOzDjU>.
- Меркулов ВА, Бунятян НД, Кошечкин КА, Сбоев ГА. Современное состояние и перспективы развития единого информационного пространства ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2013; (4): 38–41.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.
 Кошечкин Константин Александрович. Начальник Управления информатизации, канд. биол. наук.
 Рычихина Екатерина Михайловна. Начальник Контрольно-организационного управления, канд. биол. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Кошечкин Константин Александрович; koshechkin@expmed.ru

INFORMATION TECHNOLOGIES AS A TOOL OF PHARMACEUTICAL DATA MANAGEMENT

K. A. Koshechkin, E. M. Rychikhina

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

Abstract: The article analyses international experience of information technology use in pharmaceutical data management. It investigates the possibility of using CALS/PLM-technologies for IT-based management of pharmacy-related activities as exemplified by the introduction of the eCTD format of the registration dossier. The authors provide recommendations that could facilitate the Russian regulatory system's transition to a similar format and help use this format to create the common medicines market within the Eurasian Economic Union. A brief description of the modules included in the common technical document and their content is provided, as well as general principles of developing an electronic version of the present format. The use of a single electronic format for dossier submission will make it possible to automatically control the completeness of submitted materials and to integrate information systems used by manufactures and regulatory authorities.

Key words: registration dossier; CTD; eCTD; computerisation of pharmacy-related activities; CALS/PLM-technologies.

For citation: Koshechkin KA, Rychikhina EM. Information technologies as a tool of pharmaceutical data management. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 122–125.

REFERENCES

- Treaty on the Eurasian Economic Union, Astana, May 29, 2014. Available from: <https://goo.gl/lKMyOl> (in Russian).
- Draft rules for registration and analysis of medical products for human use. Available from: <https://goo.gl/1Uo9T5> (in Russian).
- Guidance for Industry, ICH M4. Organization of the CTD. U. S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). August 2001.
- Bunyatyan ND, Sakaeva IV, Kosareva TV, Korsun LV, Sakanyan VA. Comparative analysis of drug registration system in the Russian Federation and in the European Union. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2011; (2): 39–42 (in Russian).
- U. S. FDA Signals Intent to Reject eCTDs with Technical Issues. Available from: <https://goo.gl/7sstwY>.
- Clark K. Updates from the Regulators: FDA. Available from: <https://goo.gl/zdiHUQ>.
- Clark K. DIA Update: News from the FDA. Available from: <https://goo.gl/hN45JN>.
- Federal Law of the Russian Federation of 22.12.2014 No. 429-FZ «On Amending the Federal Law «On Circulation of Medicines» (in Russian). Available from: <https://goo.gl/VOzDjU> (in Russian).
- Merkulov VA, Bunyatyan ND, Koshechkin KA, Sboev GA. Current status and future development of the single information space of the FSBI «SCEMAP» of the Ministry of Health of the Russian Federation. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2013; (4): 38–41 (in Russian).

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.
 Koshechkin KA. Head of Informatization Division. Candidate of Biological Sciences.
 Rychikhina EM. Head of Management and Control Division. Candidate of Biological Sciences.

CONTACT E-MAIL

[Koshechkin Konstantin Alexandrovich; Koshechkin@expmed.ru](mailto:koshechkin@expmed.ru)

Внедрение эффективных систем управления качеством в организациях, проводящих доклинические и клинические исследования и осуществляющих фармаконадзор

Д. М. Мануилов

Общество с ограниченной ответственностью «НоваМедика»,
125047, Российская Федерация, Москва, 2-я Брестская ул., д. 8

Статья поступила 23.11.2016 г. Принята к печати 29.05.2017 г.

Резюме: Представлены результаты анализа основных требований в области качества к организациям, участвующим в проведении доклинических и клинических исследований, фармаконадзоре. Описаны основные элементы системы менеджмента качества, даны практические рекомендации по их внедрению, проведен анализ часто встречающихся ошибок. Отмечена необходимость внедрения комплексного риск-ориентированного процессного подхода на всех этапах разработки лекарственных препаратов, усовершенствования процедуры по контролю за производством и обращением исследуемых препаратов, обеспечения доступности для общественности и научного сообщества результатов исследований, а также необходимость внедрения в область доклинических и клинических исследований лекарственных средств концепции «встроенного качества», широко применяющейся при производстве лекарственных препаратов.

Ключевые слова: доклинические исследования; клинические исследования; обеспечение качества; контроль качества; система менеджмента качества; фармаконадзор; управление качеством.

Библиографическое описание: Мануилов ДМ. Внедрение эффективных систем управления качеством в организациях, проводящих доклинические и клинические исследования и осуществляющих фармаконадзор. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 126–132.

Основная цель системы менеджмента качества (СМК) — определение стандартов, которым организация должна соответствовать, установление требуемого уровня воспроизводимости и постоянства результатов ее деятельности, способов достижения этих результатов и документирования. В соответствии с ГОСТ Р ИСО 9001–2015 «Системы менеджмента качества. Требования» [1], «применение системы менеджмента качества является стратегическим решением для организации, которое может помочь улучшить результаты ее деятельности и обеспечить прочную основу для инициатив, ориентированных на устойчивое развитие». Фармацевтическая отрасль отличается высокой степенью нормативного регулирования, и в первую очередь любая СМК нацелена на обеспечение безусловного соблюдения регуляторных требований. СМК организаций, занимающихся проведением доклинических (ДКИ) и клинических исследований (КИ), должна соответствовать стандартам надлежащих практик (Good Practices, GxP), прежде всего — надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice, GLP) [2, 3] и надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice, GCP) [4, 5]. Для фармацевтических компаний также актуальны требования надлежащей практики фармаконадзора (Good Pharmacovigilance Practice, GVP) [6].

Общие принципы обеспечения качества применимы к любым организациям, участвующим в проведении исследований, начиная с фармацевтических компаний и заканчивая исследовательскими лабораториями. При этом необходимо разделять понятия «обеспечение качества» (quality assurance, QA) и «контроль качества» (quality control, QC). Контроль качества проводится на определенных этапах процесса, «встроен» в процедуры; без проведения QC невозможен переход к следующему этапу. Например, без верификации монитором первичных данных (source data verification, SDV), перенесенных исследователя-

ми из карт субъектов КИ в индивидуальные регистрационные карты (ИРК), не допускается отправка ИРК из исследовательского центра; а в случае с электронной ИРК — данные не могут считаться пригодными для дальнейшей обработки до их верификации (этап QC). Обеспечение качества — это комплекс мер, направленных на создание условий, не позволяющих выполнить процесс иначе, чем требуется в рамках СМК. Например, дополнительное обучение исследователей и мониторов и применение основанного на оценке рисков подхода (risk-based approach, RBA) к мониторингу данных в рамках концепции risk-based monitoring позволяет избежать необходимости 100 % SDV с сохранением уверенности в приемлемом качестве данных.

ТРЕБОВАНИЯ К ВНЕДРЕНИЮ СМК В ОРГАНИЗАЦИИ

Требования надлежащих практик интегрированы в законодательство многих стран, в том числе и России; гармонизация этих требований под эгидой организации ICH (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use — Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения) [7, 8] позволяет международным компаниям создавать глобальные системы качества, единые для всех подразделений, а локальным компаниям — использовать международный опыт при построении собственных систем качества. Тем не менее, по мере увеличения количества локальных организаций, занимающихся проведением клинических и доклинических исследований в России, а также по мере повышения требований к качеству проведения локальных исследований, перед многими организациями встает вопрос о необходимости внедрения полностью локальных систем каче-

ства, отвечающих международным требованиям и лучшим отраслевым практикам. Это относится не только к организаторам исследований (фармацевтическим компаниям-спонсорам) и их субподрядчикам (контрактным исследовательским организациям, КИО), которые должны иметь системы качества в соответствии с требованием GCP, но и к исследовательским центрам и лабораториям, которые стремятся иметь преимущества в высококонкурентной среде. Практика проведения преквалификационных и квалификационных аудитов качества всех участников исследований (включая клинические центры) до начала исследования, изначально применявшаяся в России только некоторыми западными компаниями, сегодня все шире распространяется на локальном рынке; регуляторы многих стран вводят новые требования к системам качества всех организаций, участвующих в исследованиях. Проект обновления стандарта ICH GCP E6 (R2) [9] содержит большое количество требований именно к системам качества участников клинических исследований, особенно — спонсоров и КИО.

GVP в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС) также регламентирует требования к SMK держателей регистрационных удостоверений и включает все элементы SMK, описанные ниже. С учетом схожести процессов фармаконадзора и проведения исследований с точки зрения управления качеством, целесообразно выстраивать единую SMK.

Целесообразность внедрения SMK и отдельных ее элементов в организации определяется ее ролью в исследованиях. GCP устанавливает, что SMK необходима спонсорам КИ и КИО. Следует отметить, что в соответствии с п. 5.2.1. GCP E6 (R2), SMK требуется спонсорам даже в тех случаях, когда вся деятельность по организации КИ передана по договору КИО (full outsource), поскольку спонсор должен осуществлять контроль (oversight) КИО.

SMK необходима в исследовательских лабораториях, проводящих доклинические исследования (в соответствии с требованием GLP), центральных и биоаналитических лабораториях, участвующих в проведении исследований фармакокинетики, поскольку такие лаборатории являются субподрядчиками спонсора КИ. SMK должна быть внедрена в организациях, отвечающих за производство, маркировку, хранение и транспортировку исследуемых препаратов в соответствии с требованиями GMP [10] и GCP. Фактически стандартом является требование о наличии SMK в исследовательских центрах, проводящих исследования I фазы и биоэквивалентности. Поскольку такие исследования значительно отличаются от рутинной медицинской деятельности, и даже одна ошибка может значительно повлиять на результат всего исследования, предъявляются повышенные требования к квалификации персонала, однородности и безошибочности выполнения всех процедур и их документированию, к оснащенности таких центров. В исследовательских центрах, проводящих КИ II–IV фазы, внедрение SMK пока не распространено, хотя руководство FDA (Food and Drug Administration — Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств, США) по обязанностям исследователей [11] рекомендует внедрение отдельных элементов SMK, а часть таких требований перенесена и в GCP E6 (R2), например, обязанность исследователя контролировать привлеченные третьи стороны.

УПРАВЛЕНИЕ КАЧЕСТВОМ В ОРГАНИЗАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 9001—2015 подчеркивает важность «процессного подхода» и риск-ориентированного мышления при разработке, внедрении и повышении эффективности SMK («Процессный подход позволяет организации планировать свои процессы и их взаимодействие»). При планировании внедрения SMK рекомендуется провести оценку рисков для выявления наиболее значимых областей деятельности, которые необходимо включить в SMK организации, и для определения необходимого и достаточного уровня качества. Чрезмерно повышенные требования к качеству для организации так же нежелательны, как и недостаточные, поэтому руководство должно определить требуемый уровень обеспечения качества исходя из стоящих перед организацией задач, требований к ней и существующих рисков, то есть осуществлять управление качеством. SMK — один из инструментов руководства, позволяющий, помимо соблюдения отраслевых требований и стандартов, управлять всей деятельностью организации и получать предсказуемый и приемлемый результат с заданным уровнем качества.

Независимо от типа организации, можно выделить основные процессы в управлении качеством:

- организационное управление;
- планирование деятельности;
- выполнение процессов;
- контроль результатов.

Организационное управление заключается в определении руководством организации эффективной организационной структуры, постановке целей организации, определении процессов принятия решений, установке требуемого уровня качества и выделения соответствующих цели ресурсов, включая наем квалифицированного персонала и т.д. Кроме этого, в соответствии с ГОСТ Р ИСО 9001—2015 «Высшее руководство должно демонстрировать свое лидерство и приверженность в отношении системы менеджмента качества».

Планирование деятельности лежит в основе SMK организации, при этом на основании целей планируются способы их достижения, процессы и процедуры, определяются необходимые исходные ресурсы и контрольные точки, учитываются возможные сценарии развития событий. Исходные ресурсы включают в себя требуемые персонал, материалы, оборудование и помещения; ресурсы должны явно и доказуемо соответствовать цели (принцип «demonstrably fit for purpose»). План должен быть достаточно детальным и приближенным к реальности, быть одобренным ответственными лицами до начала его выполнения и своевременно обновляться в случае необходимости. В то же время при планировании следует избегать излишней детализации, приводящей к ненужным ограничениям. План должен описывать действительно важные детали, оставляя достаточно гибкости там, где это не влияет на результат; планирование не должно быть «процессом ради процесса».

Если предполагается частое выполнение однотипных процессов, целесообразно использование стандартных операционных процедур (СОП) или их аналога.

Под **выполнением процесса** понимается применение заранее определенных методов к исходным ресурсам; ожидаемым результатом могут быть данные, записи, отчеты или образцы. Выполнение процесса (включая любые изменения и отклонения от плана) и

результаты должны документироваться и постоянно оцениваться с точки зрения соблюдения требований.

Контроль деятельности осуществляется в интересах руководства организации лицами, независимыми от контролируемой ими деятельности. С этой целью персонал, ответственный за обеспечение качества, как правило, выделен в обособленное структурное подразделение и подчиняется непосредственно руководству; это требование важно при проведении внутренних аудитов. На основании результатов контроля деятельности руководством осуществляется дальнейшее управление организацией.

При планировании и управлении качеством также часто используется цикл Деминга: планирование, действие, проверка, корректировка (Plan-Do-Check-Act, PDCA); представляющий собой алгоритм действий руководства по управлению процессом и достижению его целей. В соответствии с ГОСТ Р ИСО 9001—2015 «Реализация цикла PDCA позволяет организации обеспечить ее процессы необходимыми ресурсами, осуществлять их менеджмент, определять и реализовывать возможности для улучшения».

Всегда следует помнить о принципе целесообразности (fit for purpose) и сопоставлять каждое действие и выдвигаемое требование с сопутствующими рисками и возможностями. GCP E6 (R2) содержит указание спонсорам КИ «избегать излишней сложности, ненужных процедур и сбора лишних данных». Для организации одинаково неблагоприятны как отсутствие достаточно тщательного планирования, контроля и документирования, так и избыточные требования к процессам и документам, приводящие к ненужной бюрократической работе, значительным временным потерям, невозможности сосредоточить усилия на действительно важных задачах, и в конечном итоге — коммерческой неэффективности организации. Вследствие распыления внимания и снижения возможности контроля значительно повышаются риски для качества. Принцип «чем больше — тем лучше» для СМК неприемлем. Именно по этой причине необходимо внедрение подхода, основанного на оценке рисков, и системы управления рисками для качества.

Непосредственно за внедрение и поддержание СМК, как правило, отвечают сотрудники выделенного подразделения организации — QA (отдел обеспечения качества, ООК). Однако это не означает, что обеспечение и контроль качества — это задача только этого подразделения, поскольку все сотрудники организации в той или иной степени оказываются вовлеченными в этот процесс. Обособленность подразделения QA обусловлена необходимостью минимальной вовлеченности этих сотрудников в рутинные процессы проведения исследований и наличием возможности влиять на любые подразделения, будучи независимыми от них и подчиняясь непосредственно руководству организации.

Конечно, внедрение и поддержание СМК требует от руководства организации материальных и трудовых ресурсов, что может быть сложным для маленьких компаний, поэтому еще один важный вопрос — в какой момент оправдано внедрение СМК в растущей организации. Помимо формального соблюдения регуляторных требований, которое может в той или иной мере обеспечиваться (в зависимости от области деятельности), например, наличием СОП и присутствием номинальной должности QA в организационной структуре; для маленьких компаний (5–15 человек) наличие СМК не является критически важным, на первое место выходят опыт и способности ключевых сотрудников, осуществляющих «ручное

управление» всеми процессами и тем самым гарантирующих качество результата. Однако по мере роста и развития организации, увеличения количества и сложности проектов и привлечения новых сотрудников подобное «ручное управление» становится невозможным и возникает острая потребность в стандартизации процессов и внедрении эффективной и функционирующей СМК.

ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ И ПРОЦЕССЫ СМК

Система СОП и документооборот

Документооборот исключительно важен для всех организаций, поскольку именно документы являются главным объектом любого аудита или инспекции. В зависимости от назначения выделяют регламентирующую и регистрирующую документацию. К **регламентирующим** относятся документы, определяющие деятельность организации и устанавливающие порядок выполнения процессов: политики, приказы, руководства, регламенты, планы, СОП, рабочие инструкции, схемы, формы, шаблоны и т.д. В зависимости от уровня документа в иерархии, он может давать общее описание определенной области (политика, руководство) или детально описывать выполнение конкретных процедур (например, СОП, рабочая инструкция). Регламентирующие документы являются контролируемыми:

- одобрены уполномоченными лицами (в зависимости от уровня документа в иерархии) до начала использования;
- поддерживается контроль версий документа, указана дата введения в действие данной версии документа;
- защищены от случайных и неавторизованных изменений, что особенно актуально для электронных систем документооборота; бумажные документы должны быть скреплены, иметь сквозную нумерацию страниц и т.д.;
- доступны всем сотрудникам на их рабочих местах (в соответствии с функциями сотрудников);
- распространение документов и их копий в организации контролируется, сотрудникам в любой момент времени доступны только актуальные действующие версии документов, после окончания действия версии документа все его копии (кроме единственной архивной) изымаются у сотрудников и уничтожаются.

Персонал должен быть ознакомлен с документом (и обучен, когда требуется) до начала его использования (как правило, до даты вступления в действие).

Все эти сложные меры предпринимаются с единственной целью — обеспечить уверенность в том, что в любой момент времени все сотрудники выполняют свои обязанности единообразно, в точности как утверждено руководством.

Очень частая ошибка — стремление использовать «чужие» СОП без какой-либо их адаптации под особенности конкретной организации (ее структуру, функции, размер, типы проектов). СМК — это гораздо больше, чем просто набор готовых СОП, создание которых — лишь один из этапов ее разработки и внедрения.

Процесс одобрения документов должен быть рациональным. Например, если документ утверждается большим количеством лиц, есть риск того, что ни один из утверждающих не будет вчитываться в сам документ, рассчитывая на внимательность остальных. Если невозможно уменьшить количество утвер-

ждающих лиц, рекомендуется добавить краткий комментарий, объясняющий ответственность каждого из них за определенный аспект или часть документа.

Результатом деятельности организации и подтверждением выполнения процедур и процессов являются **регистрирующие документы**: отчеты и первичные документы. Первичные документы (журналы, логи, записи и прочие) делаются по факту выполнения процедур, при этом следует руководствоваться фундаментальным принципом надлежащих практик (GxP): «Что не задокументировано — то не сделано». К любым первичным записям в рамках СМК применимы требования GCP E6 (R2) (сокращенно ALCOACSEA, по первым буквам английских слов):

- определено, кто и когда сделал запись: подпись, инициалы, дата (attributable);
- запись разборчивая (legible);
- сделана одновременно с действием (contemporaneous);
- подлинная, любые изменения авторизованы и сделаны с сохранением «документального следа» (original);
- запись точно, полностью и последовательно отражает действие, событие или их последовательность (accurate, complete, consistent);
- запись должна быть долговечной и стойкой (enduring);
- должна быть доступной для проверки в установленных случаях (available).

Удобным инструментом для записей о выполнении стандартных процедур является использование стандартных форм и шаблонов, включенных, например, в качестве приложений к СОП. Такие формы, содержащие обозначенные поля для записи всех необходимых данных, облегчают правильное, «интуитивное» выполнение процедуры, снижают риск случайного пропуска действия или невнесения нужной информации в запись.

Отчеты, в отличие от записей, содержат обобщенные данные и анализ результатов деятельности; отчеты, как и планы, должны утверждаться авторизованными лицами и быть контролируемыми документами.

Хранение документов в рамках СМК должно обеспечивать их сохранность на протяжении длительного периода времени. Де-факто стандартом является хранение документов, связанных с исследованиями, в течение 15 лет, хотя некоторые компании требуют более длительного хранения. Процедура архивации должна предполагать помещение документов по завершившимся исследованиям в специально оборудованное, защищенное от несанкционированного и неконтролируемого доступа помещение под ответственность специально назначенного сотрудника — архивариуса.

Квалификация персонала и распределение обязанностей

Персонал организации, его опыт и квалификация — как правило, основной фактор, определяющий качество деятельности организации и, соответственно, выбор данной организации в качестве контрагента и партнера. Кроме этого, достаточная квалификация персонала является требованием надлежащих практик и нормативных документов.

С точки зрения СМК ключевым является ответ на 2 вопроса:

- Как руководство организации распределяет и контролирует функции и ответственность между сотрудниками?

— Соответствуют ли квалификация и опыт сотрудников выполняемым ими функциям?

Распределение функций определяется такими документами, как схема организационной структуры («оргчарт», org chart) компании, регламенты и должностные инструкции каждого сотрудника.

Поскольку «оргчарт» часто запрашивается на аудитах, рекомендуется тщательно его оформить:

- должно быть понятно количество сотрудников по должностям или по отделам;
- для ключевых должностей желательно указать ФИО сотрудников и заместителей (back-up), выполняющих обязанности в случае отсутствия;
- должны быть показаны линии подчинения, у каждого сотрудника должен быть один линейный руководитель, а функциональное подчинение (например, в рамках проекта) можно указать отдельно;
- «оргчарт» должен быть утвержден, иметь контроль версий и своевременно обновляться ответственным лицом.

Функция должностных инструкций в рамках СМК — подтвердить передачу определенных обязанностей сотруднику и его согласие с ними; должностные инструкции утверждаются руководителем организации (или уполномоченным лицом) и подписываются сотрудником при приеме на работу (либо при изменении должностных полномочий) не позднее начала выполнения своих обязанностей.

Должностные инструкции сотрудников требуются и по трудовому законодательству, хотя в рамках СМК можно использовать упрощенные, специально разработанные документы. Возможно иметь стандартные должностные инструкции для каждой должности, либо создавать их для каждого сотрудника отдельно. Первый вариант больше подходит для крупных компаний с большим количеством однотипных должностей (например, монитор КИ в глобальных КИО), второй — для небольших организаций, где каждый сотрудник, в зависимости от своей квалификации, может выполнять разные функции.

Документы, подтверждающие квалификацию сотрудников, включают в себя резюме (CV, curriculum vitae), содержащее основные сведения о квалификации и опыте сотрудника, и документы об обучении. Резюме должно своевременно обновляться (как правило, не реже раза в год) и быть подписано сотрудником. Внешнее обучение сотрудников (например, курсы GCP) может быть эффективно дополнено внутренним обучением (прежде всего — по СОП организации).

Система обучения должна, с одной стороны, гарантировать своевременное ознакомление сотрудников со всеми необходимыми процедурами и документами, их обновлениями, а с другой — не перегружать сотрудников излишними требованиями (например, представляется излишним требование многих компаний проводить ежегодное базовое обучение по GCP для всех без исключения исследователей); план обучения организации должен быть одобрен руководством. Необходимо предусмотреть процедуру вводного обучения для новых сотрудников и при переводе на новую должность, которое должно включать не только теоретическое, но и практическое обучение под руководством, аттестацию и допуск к самостоятельной работе.

Все основные документы, подтверждающие квалификацию и обучение сотрудников, например, резюме, должностная инструкция, документы о внутреннем и внешнем обучении, диплом и сертификаты

об образовании удобнее разместить в личных папках, которые ведутся каждым сотрудником и периодически проверяются руководителем,

Контроль оборудования и помещений

Значимость данного элемента СМК зависит от организации: если для исследовательской лаборатории оборудование и помещения — один из главных активов, то для КИО важны лишь ИТ-оборудование и архив; при этом КИО может использовать облачные технологии для хранения данных и субпоставщика для архивирования бумажных документов. Безопасное хранение и резервное копирование данных имеют большое значение при планировании непрерывности деятельности, ведь данные — это конечная цель любых исследований.

Для лабораторий и исследовательских центров необходимо обеспечить контроль соответствия оборудования установленным требованиям, в том числе проводить своевременную калибровку, поверку или валидацию (в соответствии с типом оборудования), вести журналы использования оборудования, обучать сотрудников работе с оборудованием и надлежащему документированию. План помещений должен содержать всю значимую для эксплуатации и планирования непрерывности деятельности информацию.

Внутренние аудиты

Проведение внутренних аудитов — один из главных элементов СМК. Объектом внутреннего аудита являются сама организация и ее СМК (либо отдельные подразделения или проекты), цель аудита — удостовериться в соблюдении применимых (в том числе нормативных и контрактных) требований и определить потенциал для улучшения. Внутренние аудиты проводятся по заранее составленной программе в соответствии с общим планом, одобренным руководством организации (как заказчиком аудита); результатом аудита является отчет, содержащий общие выводы и перечень выявленных отклонений и несоответствий.

Аудит — это комплексная и независимая проверка, поэтому аудитор должен быть независим от проверяемых процессов. Как правило, внутренние аудиты проводятся не реже одного раза в год. Небольшие и средние по размеру компании часто не могут позволить себе наем выделенного аудитора дополнительно к сотрудникам подразделения QA; для соблюдения принципа независимости часто используется внешний аудитор. Использовать только сотрудников подразделения QA для проведения внутренних аудитов нельзя, поскольку необходимо проведение независимой оценки, в том числе СМК и деятельности QA.

Управление отклонениями, корректирующие и профилактические мероприятия (corrective and preventive actions, CAPA)

В процессе работы неизбежно возникают отклонения от запланированного процесса или применимых требований, выявляемые спонтанно, при проведении контроля качества или при аудитах. Любые отклонения должны документироваться и оцениваться; организация должна «учиться на своих ошибках», важный элемент оценки — анализ основной причины (root cause analysis, RCA). По итогам оценки разрабатывается план CAPA, направленный на устранение негативных последствий и предупреждение подобных отклонений в будущем. План должен быть одобрен руководством организации, подтверждаю-

щим выделение соответствующих ресурсов для реализации плана. План CAPA должен содержать детальное описание мероприятия и желаемый результат, ответственного за выполнение (рекомендуется назначать конкретного сотрудника) и срок для реализации. Выполнение плана должно контролироваться и оцениваться.

Контроль изменений (change control)

Чтобы вводимые изменения не приводили к отклонениям, внедряется процедура контроля изменений, предполагающая поэтапное планирование, внедрение и оценку значимых изменений. К ним могут относиться, например, внедрение новой ИТ-системы, переезд лаборатории, замена ключевого сотрудника. На основании анализа рисков формируется план внедрения изменения (по аналогии с планом CAPA), выполнение которого контролируется и оценивается, при необходимости план модифицируется.

Управление поставщиками (vendors management), аудиты и договоры подряда

Клинические и доклинические исследования — область, в которой широко распространен аутсорсинг (передача сторонней организации — поставщику услуг — части или всех функций в исследовании). Значимость поставщиков услуг определяется их ролью в исследовании и потенциальным влиянием на конечный результат (качественные данные и безопасность субъектов КИ): если для фармацевтической компании, полностью передающей проведение исследования в КИО, значимость процедуры отбора и управления поставщиком крайне высока, поскольку в соответствии с GCP ответственность за качество всегда лежит на спонсоре КИ, то поставщики исследовательского центра незначительно влияют на результат всего исследования.

Цель СМК при аутсорсинге — гарантировать соблюдение ГОСТ Р ИСО 9001–2015: «Организация должна обеспечить соответствие процессов, продукции и услуг, поставляемых внешними поставщиками, требованиям». Кроме того, многие компании успешно внедряют в эту процедуру бизнес-аспекты и управление рисками.

С точки зрения СМК поставщиков на основании оценки рисков можно разделить на:

- значимых (GxP-релевантных, деятельность которых может значительно сказаться на качестве данных и/или безопасности субъектов): КИО, биолaborатория, логистическая компания, клинический центр I фазы и прочие;
- незначимых (взаимодействие с которыми определяется только деловыми интересами): поставщики канцелярских товаров, курьерская служба и др.

К значимым поставщикам применяются процедуры отбора и контроля по качеству, такие как квалификационные и рутинные аудиты, опросники, метрики, выборочный контроль и другие. В больших организациях составляется перечень одобренных поставщиков, которых разрешено включать в закупочные процедуры компании. Итоговое решение по каждому поставщику должно приниматься с учетом оценки рисков на основании таких факторов, как результаты аудита, заполненный опросный лист, опыт работы с данным поставщиком, его значимость для организации.

Крайне важным является составление договора с поставщиками, обязательно необходимо указать:

- передаваемые функции, включая подробное распределение обязанностей;
- соблюдение применимого законодательства поставщиком;
- условия конфиденциальности и защиты интеллектуальной собственности;
- прямой доступ ко всем записям, которые связаны (в том числе косвенно, например, личные папки сотрудников и СОП поставщика) с КИ во время и после окончания исследования;
- условия проведения аудитов и инспекций во время и после окончания исследования;
- хранение всех документов (и специфичных, и общих) в течение необходимого периода или передача их спонсору;
- одобрение всех субпоставщиков КИО спонсором (требование GCP E6 (R2)) и включение вышеперечисленных условий в договоры с ними;
- какая информация может быть закреплена в договоре с субпоставщиками (например, финансовые условия).

Управление рисками для качества (quality risk management, QRM)

Управление рисками — одна из областей современной экономической науки, широко используемая во многих отраслях. ГОСТ Р ИСО 31000—2010 «Менеджмент риска. Принципы и руководство» [12], идентичный одноименному международному стандарту ИСО, устанавливает общие подходы к управлению рисками в организации. В фармацевтической промышленности успешно применяются принципы управления рисками для качества (QRM), которые постепенно входят и в область исследований. Подход, основанный на оценке рисков (risk-based approach, RBA), все шире применяется на протяжении жизненного цикла лекарственных средств. Например, GCP E6 (R2) вводит новые требования по внедрению подхода, основанного на оценке рисков, повторяющие руководство ICH Q9 [13]. Основными этапами процедуры являются выявление критических процессов и данных, выявление основных рисков и их оценка (используются шкалы по вероятности наступления риска, его значимости и возможности своевременно идентифицировать), разработка и внедрение мер по снижению риска.

Помимо соблюдения регуляторных требований, внедрение в организации RBA может принести ощутимую выгоду независимо от размера организации и ее роли при проведении исследований и ФН. В соответствии с ГОСТ Р ИСО 9001—2015 «Риск-ориентированное мышление позволяет организации определять факторы, которые могут привести к отклонению от запланированных результатов процессов и системы менеджмента качества организации, а также использовать предупреждающие средства управления для минимизации негативных последствий и максимального использования возникающих возможностей». Управленческие решения, опирающиеся на систематические данные, становятся более объективными; RBA помогает улучшить планирование и приоритизацию задач, а также распределять ресурсы наиболее оптимальным образом. Кроме того, повышается оперативность реагирования организации на непредвиденные обстоятельства.

Конечно, все эти преимущества могут быть реализованы только при условии соответствия системы управления рисками (и системы качества в целом)

размеру, функциям и другим особенностям организации.

Обеспечение непрерывности деятельности организации и восстановление в случае происшествий (business continuity and disaster recovery, BC/DR)

Процесс также основан на оценке и снижении рисков для организации, только в данном случае рассматриваются риски для самой организации — ее нормальной деятельности и выполнения своих обязательств перед партнерами, от происшествий (например, пожар) до ошибок в управлении организацией (например, одновременный уход ключевых сотрудников в отпуск, приведший к значительной задержке проекта). Для КИО, например, критическим является обеспечение сохранности данных и документации, для лаборатории — исправность оборудования и сохранность помещений.

Итогом анализа рисков и процессов является план, содержащий:

- оценку основных рисков для организации и меры по их снижению и предотвращению;
- данные о внедрении мер по снижению рисков и предотвращении происшествий, а также оценку их эффективности;
- порядок действий сотрудников в случае происшествий.

План должен постоянно проверяться и своевременно обновляться, все сотрудники должны проходить регулярное обучение.

Оценка эффективности СМК

Руководство организации должно проводить периодическую (например, ежегодную) оценку эффективности СМК, привлекая ключевых специалистов организации. В основе процесса лежат оценка основных рисков и возможностей для организации, а также функционирование СМК и выполнение основных ключевых показателей эффективности (КПЭ) организации по качеству. Итогом такой оценки становятся КПЭ по качеству на следующий период. Примеры КПЭ по качеству: доля успешно пройденных аудитов, отсутствие серьезных замечаний на инспекциях, отсутствие претензий со стороны клиентов, исполнение плана CAPA в срок и в полном объеме. Цели должны соответствовать критериям SMART: конкретный, измеримый, достижимый, актуальный, ограниченный во времени (specific, measurable, attainable, relevant, time-bound).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка и внедрение СМК в российских организациях, участвующих в проведении доклинических и клинических исследований — это не только вопрос использования опыта международных компаний, но и создание новых решений с учетом специфики локального рынка. Возрастает необходимость внедрения СМК в локальных организациях и с точки зрения гармонизации требований к системе фармаконадзора. Российским компаниям необходимо решить множество задач, выходящих за привычные рамки обеспечения и контроля качества, например, внедрить комплексный риск-ориентированный процессный подход на всех этапах разработки лекарственных препаратов, усовершенствовать процедуры по контролю за производством и обращением исследуемых препаратов, обеспечить доступность для общественности и научного сообщества результатов исследований, и

внедрить концепцию «встроенного качества» (quality by design, QbD), широко применяющуюся в производстве лекарственных средств, в область доклинических и клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО 9001–2015. Системы менеджмента качества. Требования. М.: Стандартинформ; 2015.
2. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».
3. OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997).
4. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики».
5. ГОСТ Р 52379–2005. Надлежащая клиническая практика. М.: Стандартинформ; 2005.
6. Распоряжение коллегии Евразийской экономической комиссии от 29 декабря 2015 г. № 185 «О проекте решения Совета Евразийской экономической комиссии «Об утверждении правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского Экономического Союза».
7. The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Available from: <http://www.ich.org/>.
8. ICH Q10 Pharmaceutical Quality System. International Conference on Harmonization; 2008.
9. Integrated Addendum to ICH E6 (R1): Guideline For Good Clinical Practice E6 (R2). Step 2b version.
10. Приказ Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 14 июня 2013 г. № 916 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики».
11. FDA Guidance for Industry (2009): Investigator Responsibilities — Protecting the Rights, Safety, and Welfare of Study Subjects.
12. ГОСТ Р ИСО 31000–2010. Менеджмент риска. Принципы и руководство. М.: Стандартинформ; 2010.
13. ICH Q9 Quality Risk management. International Conference on Harmonization; 2006.

ОБ АВТОРАХ

ООО «НоваМедика». Российская Федерация, 125047, Москва, 2-я Брестская ул., 8.
Мануилов Дмитрий Михайлович. Руководитель по научной работе.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Мануилов Дмитрий Михайлович; dmmanuilov@gmail.com

IMPLEMENTATION OF EFFICIENT QUALITY MANAGEMENT SYSTEMS IN ORGANIZATIONS ENGAGED IN PRECLINICAL AND CLINICAL TRIALS AND PHARMACOVIGILANCE

D. M. Manuilov

NovaMedica LLC, 2nd Brestskaya street 8, Moscow 125047, Russian Federation

Abstract: The article analyses main quality assurance requirements for organizations that participate in preclinical and clinical trials and pharmacovigilance. It describes the key elements of the quality management system, provides practical advice on their implementation, and reviews the most common mistakes. The author draws attention to the necessity of implementing a holistic, risk-oriented process approach at all stages of drugs development, the importance of improving control over manufacture and circulation of investigational drugs, the need to make trial results available to general public and academic community and to apply the quality by design concept to preclinical and clinical trials in a similar way as it is now applied to drug manufacture.

Key words: preclinical trials; clinical trials; quality assurance; quality control; quality management system; pharmacovigilance; quality management.

For citation: Manuilov DM. Implementation of efficient quality management systems in organizations engaged in preclinical and clinical trials and pharmacovigilance. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 126–132.

REFERENCES

1. State Standard P ISO 9001–2015. Quality management systems. Requirements. Moscow: Standartinform; 2015 (in Russian).
2. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 01.04.2016, No. 199 «On adoption of Good Laboratory Practice» (in Russian).
3. OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997).
4. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 01.04.2016, No. 200n «On adoption of Good Clinical Practice» (in Russian).
5. State Standard P 52379–2005. Good Clinical Practice. Moscow: Standartinform; 2005 (in Russian).
6. Decree of the Board of the Eurasian Economic Commission of 29.12.2015 No. 185 «Draft resolution of the Eurasian Economic Commission Council «On adoption of Good Pharmacovigilance Practice of the Eurasian Economic Union» (in Russian).
7. The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Available from: <http://www.ich.org/>.
8. ICH Q10 Pharmaceutical Quality System. International Conference on Harmonization; 2008.
9. Integrated Addendum to ICH E6 (R1): Guideline For Good Clinical Practice E6 (R2). Step 2b version.
10. Order of the Ministry of Trade and Industry of the Russian Federation of 14.06.2013, No. 916 «On adoption of Good Manufacturing Practice» (in Russian).
11. FDA Guidance for Industry (2009): Investigator Responsibilities — Protecting the Rights, Safety, and Welfare of Study Subjects.
12. State Standard R ISO 31000–2010. Risk management. Principles and guidance. Moscow: Standartinform; 2010 (in Russian).
13. ICH Q9 Quality Risk management. International Conference on Harmonization; 2006.

AUTHORS

NovaMedica LLC, 2nd Brestskaya street 8, Moscow 125047, Russian Federation.
Manuilov DM. Head of Research and Development.

CONTACT E-MAIL

Manuilov Dmitry Mikhaylovich; dmmanuilov@gmail.com