

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

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

СОДЕРЖАНИЕ

№ 2 2014

ЭКСПЕРТИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

- А.Н. Миронов, Д.П. Ромодановский, Р.Р. Ниязов, Д.В. Горячев**
Экспертные подходы к разработке и анализу результатов сравнительного теста кинетики растворения воспроизведенных лекарственных препаратов в твердых лекарственных формах с немедленным высвобождением 3
- С.В. Моисеев, Н.Е. Кузьмина, В.И. Крылов, В.А. Яшкир, В.А. Меркулов**
Определение параметров молекулярно-массового распределения декстранов методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР 9
- А.С. Осипов, Е.Б. Нечаева, Е.Л. Ковалёва, О.А. Победин**
Влияние температуры хроматографирования на разделение гомологов бензалкония хлорида 16
- О.А. Победин, Л.А. Трухачева, Е.Б. Нечаева**
Критерии оценки качества ингаляционных лекарственных форм 20
- С.И. Кулешова, Г.Ю. Романюк, С.А. Процак, С.А. Лисунова**
Особенности определения микробиологической чистоты антимикробных лекарственных средств 26

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

- Р.Н. Аляутдин, Б.К. Романов, А.П. Переверзев, Н.Д. Бунятян**
Электронная система выписывания рецептов и безопасность лекарственной терапии . . . 30
- М.В. Журавлева, С.Ю. Сереброва, Т.Р. Каменева**
Оценка гепатопротекторов на основе силимарина при проведении фармакотерапии неалкогольной жировой болезни печени с позиций доказательной медицины 34

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

- Н.Н. Еременко, А.И. Губенко, А.И. Зебрев, И.В. Лыскова**
Современные подходы в лечении ВИЧ-инфицированных больных 40
- А.А. Елапов, Н.В. Коробов, А.Н. Миронов**
Значение патентно-информационных исследований в планировании и оценке результатов научной деятельности государственного учреждения 46
- Н.Д. Бунятян, Н.В. Коробов, А.Н. Яворский С.А. Калинин, В.А. Меркулов**
Ответственность за нарушения в сфере обращения лекарственных средств 51

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАКОПЕЯ

- Н.П. Антонова, Е.П. Шефер, С.С. Прохвятилова, Н.Е. Семенова, У.С. Легонькова**
Стандартизация действующих веществ валерианы лекарственной в растительном сырье и таблетках экстракта валерианы 55
- Е.И. Саканян, Н.Д. Бунятян, М.Н. Лякина, Н.С. Терешина, Т.Б. Шемерянкина, Н.А. Постоюк**
Лекарственные формы и их место в современной гомеопатической практике 60

РАЗНОЕ

- Конференция Международной ассоциации фармакоэпидемиологов 2014 (Роттердам, Нидерланды) 25
- Визит сотрудников ФГБУ «НЦЭСМП» в лабораторию EDQM по контролю за обращением лекарственных средств, 2014 (Страсбург, Франция) 54
- 12-я Международная конференция по биоаналогам (Лондон, Великобритания) 64

Главный редактор
А.Н. Миронов

Зам. главного редактора:
Н.Д. Бунятян
В.А. Меркулов

Ответственный секретарь
А.Н. Яворский

Редакторы:
Н.В. Коробов
Л.В. Корсун

Редакционная коллегия:

Т.Н. Боковикова
В.П. Бондарев
И.В. Борисевич
А.Н. Васильев
А.Р. Волгин
М.А. Горбунов
О.В. Гунар
М.В. Журавлева
Е.Л. Ковалева
В.Г. Кукес
В.К. Лепяхин
Н.В. Медуницын
А.А. Мовсесянц
Б.К. Романов
И.В. Сакаева
Е.И. Саканян
Р.И. Ягудина

Редакционный совет:

А.Л. Гинцбург (Москва)
И.Н. Денисов (Москва)
А.Д. Дурнев (Москва)
Э.Э. Звартау
(Санкт-Петербург)
В.В. Зверев (Москва)
И.Г. Козлов (Москва)
А. Г. Муляр (Москва)
В.И. Петров (Волгоград)
В.Г. Савченко (Москва)
Х.С. Саядян (Москва)
Т.А. Сокольская (Москва)
Р.М. Хайтов (Москва)
В.П. Чехонин (Москва)

Свидетельство о регистрации средства массовой информации: ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.
© Вестомости НЦЭСМП
Адрес: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8
Телефоны: +7 (495) 214-62-33 (редакция);
625-43-50 (факс); +7 (495) 625-43-42 (секретариат)
E-mail: vedomosti@regmed.ru
<http://www.regmed.ru>

Подписано в печать 06.06.2014.
Формат 60x90/8. Печ. л. 8,0
Бумага мелованная. Печать офсетная
Заказ № 161. Тираж 200 экз.
Отпечатано в ООО «Асмин Принт»
390029, г. Рязань, ул. Чкалова, д. 19
Тел.: +7 (4912) 99-65-85, факс: +7 (4912) 50-07-34
asminprint@gmail.com



Editor in chief

A.N. Mironov

Deputy chief editors:

N.D. Bunyatyan

V.A. Merkulov

Executive editor

A.N. Yavorskiy

Editors:

N.V. Korobov

L.V. Korsun

Editorial staff:

T.N. Bokovikova

V.P. Bondarev

I.V. Borisevich

A.N. Vasilyev

A.R. Volgin

M.A. Gorbunov

O.V. Gunar

M.V. Zhuravleva

E.L. Kovaleva

V.G. Kukes

V.K. Lepakhin

N.V. Medunitzyn

A.A. Movsesyanz

B.K. Romanov

I.V. Sakaeva

E.I. Sakanyan

R.I. Yagudina

Editorial board:

A.L. Ginzburg (*Moscow*)

I.N. Denisov (*Moscow*)

A.D. Durnev (*Moscow*)

E.E. Zvartau

(*Saint-Petersburg*)

V.V. Zverev (*Moscow*)

I.G. Kozlov (*Moscow*)

A.G. Mulyar (*Moscow*)

V.I. Petrov (*Volgograd*)

V.G. Savchenko (*Moscow*)

H.S. Sayadyan (*Moscow*)

T.A. Sokol'skaya (*Moscow*)

R.M. Khaitov (*Moscow*)

V.P. Chekhonin (*Moscow*)

EXPERT EVALUATION OF MEDICINES

A.N. Mironov, D.P. Romodanovsky, R.R. Niyazov, D.V. Goryachev

Expert approaches to developing and analysing the results of comparative dissolution kinetics testing for generic medicines in solid dosage forms of immediate release 3

S.V. Moiseev, N.E. Kuzmina, V.I. Krylov, V.A. Yashkir, V.A. Merkulov

The determination of molecular weight distribution parameters of dextrans with the diffusion-ordered NMR spectroscopy technique 9

A.S. Osipov, E.B. Nechaeva, E.L. Kovaleva, O.A. Pobedin

The impact of the temperature on chromatographic separation of benzalkonium chloride homologs 16

O.A. Pobedin, L.A. Trukhacheva, E.B. Nechayeva

Quality assessment criteria for inhalation dosage forms 20

S.I. Kuleshova, G.Y. Romanyuk, S.A. Protsak, S.A. Lisunova

Specificity of determining microbiological purity of antimicrobial drugs. 26

CLINICAL PHARMACOLOGY

R.N. Alyautdin, B.K. Romanov, A.P. Pereverzev, N.D. Bunyatyan

Electronic prescribing system and the safety of drug therapy 30

M.V. Zhuravleva, S.Yu. Serebrova, T.R. Kameneva

The evaluation of hepatoprotector silymarin in pharmacotherapy of nonalcoholic fatty liver disease from the evidence-based medicine perspective 34

GENERAL AND TOPICAL ARTICLES

N.N. Eremenko, A.I. Gubenko, A.I. Zebrev, I.V. Lysikova

Modern approaches to the treatment of HIV-positive patients 40

A.A. Elapov, N.V. Korobov, A.N. Mironov

The importance of patent information research in assessing the results of a state institution scientific activity 46

N.D. Bunyatyan, N.V. Korobov, A.N. Yavorskiy, S.A. Kalinichev, V.A. Merkulov

Responsibility for violations in the field of drug circulation 51

STATE PHARMACOPOEIA

N.P. Antonova, E.P. Shefer, S.S. Prokhvatilova, N.E. Semenova, U.S. Legonkova

Standardization of Valeriana officinalis active ingredient in herbal raw material and in Valerian tablets 55

E.I. Sakanyan, N.D. Bunyatyan, M.N. Lyakina, N.S. Tereshina, T.B. Shemeryankina, N.A. Postoyuk

Dosage forms and their role in modern homeopathic practice 60

OTHER

Conference of the International Society for Pharmacoepidemiology 2014 (Rotterdam, Netherlands) 25

The experts of the FSBI «SCEEMP» paid a visit to Medicines Circulation Control Laboratory of the EDQM, 2014 (Strasbourg, France) 54

12th International Conference on Biosimilars (London, UK). 64



Экспертные подходы к планированию и анализу результатов сравнительного теста кинетики растворения воспроизведенных лекарственных препаратов в твердых лекарственных формах с немедленным высвобождением

А.Н. Миронов, Д.П. Ромодановский, Р.Р. Ниязов, Д.В. Горячев

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Проанализированы требования Европейского агентства по лекарственным средствам и Администрации по пищевым продуктам и лекарственным препаратам США и подходы к проведению сравнительного теста кинетики растворения (СТКР) лекарственных препаратов при оценке их биофармацевтических свойств, основанных на положениях биофармацевтической классификационной системы. Выделены основные подходы к планированию и оценке результатов СТКР с целью повышения качества, безопасности и эффективности отечественных лекарственных препаратов, внедрения международных стандартов проведения испытания для всех субъектов обращения лекарственных средств в Российской Федерации в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

Ключевые слова: биофармацевтическая классификационная система; испытание «Растворение»; сравнительный тест кинетики растворения; биофармацевтическая эквивалентность; лекарственные препараты с немедленным высвобождением.

EXPERT APPROACHES TO DEVELOPING AND ANALYSING THE RESULTS OF COMPARATIVE DISSOLUTION KINETICS TESTING FOR GENERIC MEDICINES IN SOLID DOSAGE FORMS OF IMMEDIATE RELEASE

A.N. Mironov, D.P. Romodanovsky, R.R. Niyazov, D.V. Goryachev

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: The article provides the results of analyzing foreign requirements (EMA – European Medicines Agency and FDA – the United States Food and Drug Administration) and the approaches to drug comparative dissolution kinetics test (CDKT) when assessing their biopharmaceutical properties, based on the provisions of biopharmaceutical classification system. The article outlines basic approaches to the development and evaluation of CDKT results in order to improve the quality, efficacy and safety of domestic medicines, to implement international test-performing standards for all the subjects of circulation of medicines in the Russian Federation according to the Federal targeted program «The development of pharmaceutical and medical industry in the Russian Federation until 2020 and further».

Key words: biopharmaceutical classification system; dissolution test; comparative dissolution kinetics test; biopharmaceutical equivalence; immediate release medicines.

Испытание «Растворение» является как технологическим, так и биофармацевтическим методом оценки качества лекарственных препаратов, отражающим кинетику растворения фармацевтической субстанции при высвобождении ее из лекарственной формы препарата, т.е. концентрацию вещества в растворе через определенный промежуток времени. Официально испытание «Растворение» введено в практику в 1970-х годах, однако еще в 1968 году в Фармакопею США были включены первые 12 лекарственных препаратов, оценку которых проводили по испытанию «Растворение» [1]. В России показатель «Растворение» был введен во второй том ГФ XI только в 1985 году. В настоящее время тест «Растворение» введен практически во все нормативные документы (НД) на твердые дозированные лекарственные формы, а также это испытание широко применяется для проведения сравнительных исследований лекарственных препаратов *in vitro* (сравнительный тест кинетики растворения (СТКР) с целью уменьшения

исследований *in vivo*. Первые официальные упоминания о таком применении испытания «Растворения» встречаются в приложении к утвержденным Минздравом России в 2004 г. методическим указаниям «Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств» [2]. В 2008 году рекомендации были пересмотрены, однако значимых изменений в отношении СТКР не произошло [3]. В 2010 г. Росздравнадзором были написаны рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности *in vitro* воспроизведенных лекарственных препаратов согласно процедуре «биоэвейвер» [4]. Также в современном научном обществе в Российской Федерации проблемы проведения СТКР широко изучаются, и обсуждаются ведущими учеными в области фармакокинетики и фармации [5–9].

Таким образом, в настоящее время в России вопросы проведения СТКР достаточно хорошо освещаются в научной литературе, разрабатываются различ-

ные рекомендации, регламентирующие проведение СТКР с целью доказательства его биофармацевтической эквивалентности *in vitro*. Однако, в процессе экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственных препаратов эксперты ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России сталкиваются с тем, что разработчики представляют значительно различающиеся по объему результаты СТКР, зачастую не соответствующие общепризнанным зарубежным нормам.

Согласно федеральной целевой программе «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» от 17.02.2011 г., одной из ее целей является гармонизация нормативно-правового поля сферы обращения лекарственных средств и медицинских изделий с международными стандартами, что свидетельствует в пользу необходимости объединения имеющегося отечественного опыта по вопросам проведения и оценки результатов СТКР, гармонизации его с современными зарубежными рекомендациями и создание новых единых рекомендаций в рамках нормативно-правового поля обращения лекарственных средств, т.е. создание новой нормативно-правовой базы в вопросах СТКР, а именно официальных требований к объемам предоставляемых материалов регистрационного досье, и требований к проведению экспертизы лекарственных средств в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

В связи с этим проводится анализ современных научно обоснованных подходов к планированию и проведению СТКР лекарственных препаратов за рубежом, планируется разработка нормативно-правовой базы по вопросам СТКР и внедрение их в практику обращения лекарственных средств в Российской Федерации. В данной статье отражены основные современные положения проведения СТКР, которые необходимо знать как разработчикам, предоставляющим результаты СТКР, так и экспертам, проводящим их анализ.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ РАСТВОРЕНИЕМ И БИОДОСТУПНОСТЬЮ

При разработке лекарственного препарата одним из инструментов для оценки его основных свойств, влияющих на биодоступность, является тест «Растворение».

Понятие «сравнительный тест кинетики растворения» (СТКР) отличается от фармакопейного теста «Растворение», т.к. его цель заключается в подтверждении эквивалентности профиля кинетики растворения фармацевтической субстанции исследуемого препарата по отношению к препарату сравнения, как правило, оригинальному, в условиях, близких к физиологическим условиям желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [10–12].

Взаимосвязь между растворением и БД является одним из примеров тесной взаимосвязи между качеством лекарственного препарата и его безопасностью и эффективностью.

БД лекарственного средства, а именно фармацевтической субстанции, после приема внутрь твердой лекарственной формы зависит от: 1) высвобождения действующего вещества (фармацевтической субстанции) из лекарственного препарата, 2) ее растворения (солюбилизации) в физиологических условиях (главным образом имеются в виду физиологические значения pH различных отделов ЖКТ, через которые проходит транспорт лекарственного препарата до всасывания растворенной фармацевтической субстанции) и 3) проницаемости через желудочно-кишечный тракт (всасывание субстанции). На этом основании была разработана биофармацевтическая классификационная система (БКС) (*Biopharmaceutical Classification System*), в которой выделяют 4 класса фармацевтических субстанций: 1 – с высокой растворимостью, высокой проницаемостью; 2 – низкой растворимостью, высокой проницаемостью; 3 – высокой растворимостью, низкой проницаемостью; 4 – низкой растворимостью, низкой проницаемостью [13–19]. Кроме того, лекарственные препараты с немедленным высвобождением делятся на быстро и медленно растворяющиеся [13, 18, 20].

За рубежом (в Европейском союзе (ЕС), в Соединенных Штатах Америки (США)) БКС является фундаментальной предпосылкой проведения СТКР [14, 15].

МЕСТО СТКР НА ЭТАПАХ «ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА» ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

За рубежом СТКР проводится в следующих целях:

- на стадии разработки: например, в целях подтверждения правильности выбора состава лекарственной формы препарата и пригодности процесса производства, что позволяет с большей вероятностью получить положительные результаты изучения биоэквивалентности *in vivo*;
- при государственной регистрации воспроизведенного лекарственного препарата: для подтверждения сопоставимости профиля растворения воспроизведенного лекарственного препарата и препарата сравнения;
- при государственной регистрации дополнительных дозировок воспроизведенного лекарственного препарата, не изученных в исследовании биоэквивалентности *in vivo*, – в качестве замены такого исследования на испытание *in vitro*;
- при изменении технологии производства, оборудования, состава лекарственной формы (пострегистрационные изменения): для подтверждения сопоставимости профиля растворения лекарственного препарата, подвергнувшегося изменению, с лекарственным препаратом до такого изменения.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ И ОЦЕНКЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СТКР

Метод и условия проведения СТКР должны обладать способностью обнаруживать минимальные

различия в функциональных характеристиках лекарственной формы исследуемого препарата и препарата сравнения, которые могут повлиять на биодоступность лекарственного препарата. Аналитическая методика должна быть валидирована, оборудование, использованное в исследовании, квалифицировано.

Чтобы получить полноценные профили растворения препаратов с немедленным высвобождением отбор проб производят в не менее чем трех (не считая 0) заранее установленных временных точках, интервалы между отбором проб должны быть достаточно частыми (по меньшей мере, каждые 15 минут, при этом точка «15 минут» является обязательной) и расположены равномерно в интервале времени исследования. В период максимального изменения профиля растворения отборы проб рекомендуется осуществлять еще чаще. Для построения правильного профиля растворения быстро растворяющихся лекарственных препаратов, полное растворение которых укладывается в 30 минут, отборы проб необходимо осуществлять каждые 5 или 10 минут.

СТКР должен проводиться в стандартных, и неизменных на протяжении всего теста, условиях: аппаратура, объем среды растворения, pH среды растворения (если не предусмотрено иначе, например, «двухэтапный тест»), скорость вращения мешалки, температура ($37 \pm 0,5$ °C).

Рекомендуется проведение СТКР на 3 сериях исследуемого препарата.

Если фармацевтическая субстанция является хорошо растворимой, разумно предположить, что проблемы с биодоступностью не возникнут, если в дополнение к этому лекарственная форма подвергается быстрому растворению (85% фармацевтической субстанции переходит в раствор в течение 30 минут и менее) при физиологических значениях pH, а вспомогательные вещества не влияют на биодоступность. И наоборот, если фармацевтическая субстанция ограничена или мало растворима, фактором, лимитирующим скорость всасывания, может стать растворение лекарственной формы. Аналогичная ситуация возникает, если вспомогательные вещества влияют на высвобождение и последующее растворение фармацевтической субстанции. В таких случаях СТКР необходимо проводить в различных условиях с соответствующей схемой отбора проб.

Если в течение 15 минут более 85% фармацевтической субстанции переходит в раствор, профили растворения признаются сопоставимыми без дальнейшего математического анализа.

Если 85% фармацевтической субстанции переходит в раствор в течение 30, а не 15 минут, то необходимы три временные точки: до истечения 15 минут, ровно через 15 минут (15 мин 1 с) и в точке, когда высвобождение равно около 85% (например, 5 мин; 15 мин 1 с; 30 мин).

Сопоставимость растворения в таких случаях (если растворилось менее 85% за 15 минут) определяется

с использованием фактора сходимости f_2 (всякое значение фактора сходимости (f_2) от 50 до 100 подтверждает сопоставимость профилей растворения).

При неприемлемости фактора сходимости f_2 растворимость можно сравнить, используя модельные или немодельные методы, включая многомерное статистическое сравнение параметров распределения Вейлбулла или доли растворения в разных временных точках [10].

Альтернативные f_2 -статистике методы считаются приемлемыми, если они статистически корректны, а их использование достаточно обосновано.

Более подробно порядок расчета фактора сходимости и необходимые условия описаны в соответствующих руководствах [10, 14, 15].

ОСНОВНЫЕ УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ СТКР

Аппараты. В настоящее время при проведении СТКР лекарственных препаратов чаще всего используются: аппарат 1 – «Вращающаяся корзинка» (ВК), аппарат 2 – «Лопастная мешалка» (ЛМ). Преимущество этих методов заключается в простоте, надежности, хорошей стандартизованности. Условия проведения испытания должны быть «мягкими», т.е. отражающими физиологические условия в желудочно-кишечном тракте, поэтому рекомендуемая рабочая скорость вращения для ВК – 100 об/мин, для ЛМ 50–75 об/мин. Считается, что ЛМ больше подходит для оценки таблетированных ЛФ, аппарат ВК – для капсул и ЛФ, которые флотируют (всплывают) или медленно распадаются [10].

Среда растворения. При проведении СТКР большое значение имеет выбор среды растворения. Подбор среды растворения должен основываться на физико-химических характеристиках фармацевтической субстанции, окружающих условиях, которым подвергнется лекарственная форма после ее приема внутрь (имеются в виду физиологические условия различных отделов ЖКТ, в которых распадается и затем растворяется лекарственная форма, а затем растворяется и абсорбируется фармацевтическая субстанция).

СТКР рекомендуется проводить с использованием 900 мл следующих растворителей: (1) 0,1 М HCl (или среда со значением pH 1,2 – имитирует кислотность в желудке натошак), (2) ацетатный буфер с pH 4,5 (имитирует значение pH в верхнем отделе тонкой кишки) и (3) фосфатный буфер с pH 6,8 (имитирует pH в среднем отделе тонкой кишки). В качестве дополнительных сред могут использоваться вода и среда для контроля качества по нормативной документации (НД) (если последняя отличается от вышеперечисленных). В отношении капсул и таблеток с желатиновой оболочкой допустимо использовать имитацию желудочного и кишечного сока с ферментами (пепсином или панкреатином) соответственно. Ферменты необходимы для растворения желатиновой капсулы. Температура среды должна быть неизменной – $37,5 \pm 0,5$ °C (соответ-

ствует физиологической). Однако в некоторых случаях вид и объем среды растворения может быть отличным от вышеуказанных, например, в зависимости от цели проведения СТКР и концентрации фармацевтической субстанции в лекарственной форме (объем среды от 500 до 1000 мл, в качестве среды растворения может быть использована среда растворения, указанная НД препарата, например, при пострегистрационных изменениях) [10, 14, 15].

В случае выбора отличных от вышеуказанных условий проведения испытания, заявитель должен полностью обосновать их.

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ УСЛОВИЯ И ТРЕБОВАНИЯ К СТКР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕГИСТРАЦИОННЫХ ЦЕЛЕЙ

Проведение исследования биоэквивалентности *in vivo*. За рубежом, с целью выявления наиболее подходящих и репрезентативных (с наиболее одинаковым профилем растворения) серий исследуемого лекарственного препарата [14], перед проведением исследования биоэквивалентности *in vivo* в рамках фармацевтической разработки проводят сравнительный тест кинетики растворения с препаратом сравнения, который в дальнейшем будет использоваться в исследовании биоэквивалентности *in vivo* (предпочтительно использовать оригинальный препарат). Это повышает шанс подтверждения их биоэквивалентности. Рекомендуемые условия проведения СТКР описаны выше.

СТКР как дополнение исследования биоэквивалентности *in vivo* при государственной регистрации воспроизведенных лекарственных препаратов. В ЕС, в целях определения эквивалентности профилей растворения серии исследуемого лекарственного препарата, изученного в исследовании биоэквивалентности *in vivo*, и препарата сравнения, СТКР проводят в трех средах растворения с рН 1,2; 4,5; 6,8 (которые соответствуют крайним физиологическим значениям рН в средах желудка и тонкой кишки); а также в среде для контроля качества (фармакопейной среде растворения) [14].

В США также допускается проведение СТКР в фармакопейных условиях растворения, описанных в USP или в условиях, рекомендованных FDA [15].

СТКР как замена исследования биоэквивалентности *in vivo* (биоэвейвер) для дополнительных дозировок. В ЕС в отношении дополнительных дозировок, не изученных в исследовании биоэквивалентности *in vivo*, следует представить научное обоснование отсутствия необходимости проведения исследования биоэквивалентности *in vivo* и профили кинетики растворения (высвобождения фармацевтической субстанции из лекарственной формы в раствор) дополнительных дозировок, профиль растворения которых должен быть подобен профилю растворения серии лекарственного препарата, для которого была подтверждена биоэквивалентность *in vivo* (профили

растворения должны быть подобны в не менее чем в трех средах растворения в диапазоне значений рН 1,2–6,8 (рекомендуемые среды: буферы с рН 1,2; 4,5; 6,8)) [14].

В США в рамках биоэвейвера допускается представить профиль растворения в одной среде растворения, если были разработаны соответствующие условия растворения, а результаты испытания подтверждают, что растворение препарата не зависит от дозировки ЛП.

СТКР при внесении изменений. В Евросоюзе, в зависимости от степени изменений, необходимо представить результаты СТКР в условиях, описанных в Руководстве по БЭ.

При значимых изменениях (изменение II типа, которое может оказать значимое влияние на качество, безопасность или эффективность рассматриваемого лекарственного препарата) требуется представление обоснования отсутствия необходимости проведения исследования БЭ *in vivo* или проведение нового исследования. Алгоритм по категории изменений и четкие требования к объему предоставляемых данных отсутствуют [21].

В США, в зависимости от степени (уровня) пострегистрационных изменений, производитель должен провести различный объем исследований, который подробно описан в соответствующем руководстве [22]. Выделяют три степени изменений: для изменений I или II уровня может быть достаточно проведения испытания «Растворение» (т.е. испытание в рамках нормативной документации препарата), СТКР (без проведения исследования БЭ), для изменений III уровня может быть достаточно СТКР (без проведения исследования БЭ), для всех других изменений III степени необходимо проведение СТКР и исследования БЭ.

Требования к отчетности по СТКР

Обоснование отнесения ФС к тому или иному классу по БКС.

Выбор условий растворения и обоснование такого выбора (в том числе обоснование непредставления данных, необходимых в соответствии со стандартными требованиями) с учетом лекарственной формы, БКС.

Отчет о проведении СТКР с представлением повествовательных, табличных и графических сведений, включающих:

- 1) место и дату проведения испытания;
- 2) состав исследуемого лекарственного препарата;
- 3) состав лекарственного препарата сравнения;
- 4) номера серий исследуемого препарата и препарата сравнения;
- 5) аппарат;
- 6) сведения о средах для проведения испытания (температура, объем, рН, состав);
- 7) скорость вращения;
- 8) отчет о квалификации оборудования (аппарата) и валидации методики количественного определения растворенной фармацевтической субстанции;

9) таблица результатов, содержащая значения растворения фармацевтической субстанции во времени (и коэффициенты вариации);

10) графики растворения;

11) расчет факторов сходимости.

Любые отклонения от стандартных условий/рекомендаций требуют подробного научного обоснования.

ВЫВОДЫ

Таким образом, на основании анализа международных подходов и современных научных взглядов на проведение СТКР с целью подтверждения приемлемой связи между растворением препарата и его биодоступностью, можно вынести следующие основные положения, которые необходимо учитывать разработчикам при подготовке досье на клиническое исследование, регистрационное досье и досье на изменение, и при проведении экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения.

СТКР проводят на различных этапах жизненного цикла лекарственного препарата как в период клинической разработки лекарственного препарата, так и при государственной регистрации и в пострегистрационный период.

При этом необходимо учитывать класс фармацевтической субстанции по БКС.

В зависимости от целей проведения СТКР условия его проведения могут незначительно отличаться друг от друга, однако при государственной регистрации воспроизведенного лекарственного препарата рекомендуется проведение СТКР в условиях, описанных выше (см. «Общие требования к проведению и оценке результатов СТКР»), которые согласуются с описанными в Руководстве по экспертизе ЛС, состав-

ленном в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [23], условиями планирования и проведения СТКР.

Допускается проведение СТКР и в других условиях, если такие условия имеют научное обоснование. В основе такого обоснования должны лежать физиологические (патологические) условия в различных отделах ЖКТ, которые влияют на функциональные свойства конкретной лекарственной формы и конкретной фармацевтической субстанции, заключенной в ней. СТКР проводится с серией лекарственного препарата, изученной в исследовании биоэквивалентности *in vivo* (с целью демонстрации, что профиль растворения исследуемого препарата сопоставим с референсным и что последующие серии препарата при испытании растворения не будут отличаться от серии, изученной в исследовании биоэквивалентности), а также с сериями дозировок лекарственного препарата, не изученных в исследовании биоэквивалентности *in vivo*.

Поскольку в настоящее время в России отсутствует градация степеней значимости вносимых изменений, заявителю рекомендуется предоставление обоснования отсутствия в необходимости проведения исследования биоэквивалентности *in vivo* и возможности замены такого исследования проведением СТКР.

Рекомендуется наиболее полно представлять результаты исследования, аналогично зарубежным требованиям по отчетности (см. «Требования к отчетности по СТКР»).

Основные положения проведения СТКР, изложенные выше, следует учитывать при разработке и оценке результатов СТКР, а также при дальнейшей разработке нормативно-правовой базы по вопросам СТКР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dressman J, Kramer J. Pharmaceutical Dissolution Testing. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group; 2005.
2. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания. М.: Фармакокинетика и фармакодинамика; 2005.
3. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания. М.: Русский врач; 2008.
4. Методические рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности *in vitro* дженерических лекарственных средств согласно процедуре «биовейвер». М.: Ремедиум; 2010.
5. Чистяков ВВ, Рейхарт ДВ. Анализ лекарственных средств при фармакокинетических исследованиях. Казанский медицинский журнал 2010; 4: 532–36.
6. Шохин ИЕ, Раменская ГВ. Оценка возможности замены исследований биоэквивалентности *in vivo* на изучение сравнительной кинетики растворения *in vitro*. Химико-фармацевтический журнал 2011; 45(2): 46–48.
7. Раменская ГВ, Шохин ИЕ, Кукес ВГ. Важнейшие биофармацевтические свойства лекарственных веществ на стадии абсорбции в желудочно-кишечном тракте. Химико-фармацевтический журнал 2011; 45(7): 37–40.
8. Жердев ВП, Кольванов ГБ, Литвин АА. Корреляция *in vitro/in vivo*: может ли тест «Растворение» заменить исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов. Фарматека 2003; 3: 109–111.
9. Чижова ДА, Бунятян НД, Василенко ГФ. Современные подходы к изучению высвобождения лекарственных веществ из твердых

REFERENCES

1. Dressman J, Kramer J. Pharmaceutical Dissolution Testing. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group; 2005.
2. Conducting of qualitative bioequivalence studies of drugs. Methodical instructions. Moscow: Farmakokinetika i farmakodinamika; 2005 (in Russian).
3. Evaluation of bioequivalence of drugs. Methodical instructions. Moscow: Russky vrach; 2008 (in Russian).
4. Guidelines for developers and manufacturers of drugs to assess the equivalence of *in vitro* of generic medicines according to the procedure «biowaiver». Moscow: Remedium; 2010 (in Russian).
5. Chistyakov VV, Reyhart DV. Analysis of medicaments for the pharmacokinetic studies. Kazansky meditsinsky journal 2010; 4: 532–36 (in Russian).
6. Shohin IE, Ramenskaya GV. Assessing the possibility of replacing the *in vivo* bioequivalence studies on the comparative study of the kinetics of dissolution *in vitro*. Himiko-farmatsevtichesky journal 2011; 45(2): 46–48 (in Russian).
7. Ramenskaya GV, Shohin IE, Kukes VG. Critical biopharmaceutical properties of drugs in the absorption step in the gastrointestinal tract. Himiko-farmatsevtichesky journal 2011; 45(7): 37–40 (in Russian).
8. Jerdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA. Correlation *in vitro/in vivo*: whether the test «Dissolution» replace bioequivalence studies of drugs. Farmateka 2003; 3: 109–111 (in Russian).
9. Chizhova DA, Bunyatyan ND, Vasilenko GF. Current approaches to the study of drug release from solid dosage forms *in vitro* and *in vivo*. Farmatsiya 2008; 2: 50–52 (in Russian).
10. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Rockville, MD: U. S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 1997.

- дозированных лекарственных форм в условиях *in vitro* и *in vivo*. Фармация 2008; 2: 50-52.
10. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Rockville, MD: U. S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 1997.
 11. Давыдова КС, Кулинич ЮИ, Шохин ИЕ. Тест «Растворение» в контроле качества лекарственных средств. Ремедиум 2010; 5: 42.
 12. Растворение для твердых дозированных лекарственных препаратов / ОФС-42-0135-09 // ГФ XII. 2010. ч. 2.
 13. Amidon GL, Lennerns H, Shah VP et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutics Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability // J Pharm Res 1995; 12: 413-20.
 14. Investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1. European Medicines Agency [cited 2013 Sept 27]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf.
 15. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bio-availability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 2000.
 16. Головенко МЯ, Баула ОП, Борисюк Ю. Біофармацевтична класифікаційна система. Киев: Авіцена; 2010.
 17. Раменская ГВ, Савченко АЮ, Шохин ИЕ, Котлова МА и др. Биофармацевтическая классификация жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Фармация 2011; № 5: 3-11.
 18. Amidon KS, Langguth P, Lennerns H, Yu L, Amidon GL. Bioequivalence of Oral Products and the Biopharmaceutics Classification System: Science, Regulation, and Public Policy. Clin Pharmacol Ther 2011; 3(90): 467-70.
 19. Dressman J, Butler J, Hempenstall J, Reppas C. The BCS: Where Do We Go from Here? Pharmaceutical Technology 2001, July: 68-76.
 20. Reddy BBK, Karunakar A. Biopharmaceutics Classification System: A Regulatory Approach. Dissolution Technologies 2011, February: 31-37.
 21. COMMISSION REGULATION (EC) № 1234/2008 of 24 November 2008 concerning the examination of variations to the terms of marketing authorizations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products [Internet]. [Cited 2014 May 12]. Available from: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/reg_2008_1234/reg_2008_1234_en.pdf.
 22. Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls, *In Vitro* Dissolution Testing, and *In Vivo* Bioequivalence Documentation. Rockville, MD: U. S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 1995.
 23. Миронов АН, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.
 24. Davydova KS, Kulich Yul, Shohin IE. Test «Dissolution» in quality control of medicines. Remedium 2010; 5: 42 (in Russian).
 25. The dissolution of solid dosage preparations. General pharmacopoeial article 42-0135-09 (in Russian).
 26. Amidon GL, Lennerns H, Shah VP et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutics Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability // J Pharm Res 1995; 12: 413-20.
 27. Investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1. European Medicines Agency [cited 2013 Sept 27]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf.
 28. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bio-availability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 2000.
 29. Golovenko MYa, Baula OP, Borisjuk IYu. Biopharmaceutical Classification System. Kiev: Avitsena; 2010 (in Ukrainian).
 30. Ramenskaya GV, Savchenko AYU, Shohin IE, Kotlova MA et al. Biopharmaceutical classification of vital and primary medicines. Farmatsiya 2011; № 5: 3-11 (in Russian).
 31. Amidon KS, Langguth P, Lennerns H, Yu L, Amidon GL. Bioequivalence of Oral Products and the Biopharmaceutics Classification System: Science, Regulation, and Public Policy. Clin Pharmacol Ther 2011; 3(90): 467-70.
 32. Dressman J, Butler J, Hempenstall J, Reppas C. The BCS: Where Do We Go from Here? Pharmaceutical Technology 2001, July: 68-76.
 33. Reddy BBK, Karunakar A. Biopharmaceutics Classification System: A Regulatory Approach. Dissolution Technologies 2011, February: 31-37.
 34. COMMISSION REGULATION (EC) № 1234/2008 of 24 November 2008 concerning the examination of variations to the terms of marketing authorizations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products [Internet]. [Cited 2014 May 12]. Available from: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/reg_2008_1234/reg_2008_1234_en.pdf.
 35. Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls, *In Vitro* Dissolution Testing, and *In Vivo* Bioequivalence Documentation. Rockville, MD: U. S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 1995.
 36. Mironov AN, ed. Guideline for expertise of drugs. V. 1. Moscow: Grif & K; 2013 (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

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

Миронов Александр Николаевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

Ромодановский Дмитрий Павлович. Эксперт 1-й категории управления экспертизы № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук.

Ниязов Равиль Рашидович. Эксперт 1-й категории управления экспертизы № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук.

Горячев Дмитрий Владимирович. Начальник управления экспертизы № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Ромодановский Дмитрий Павлович; Romodanovsky@expmed.ru

Статья поступила 07.02.2014 г.

Принята к печати 11.03.2014 г.

Определение параметров молекулярно-массового распределения декстранов методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР

С.В. Моисеев, Н.Е. Кузьмина, В.И. Крылов, В.А. Яшкир, В.А. Меркулов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Показана возможность применения метода диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР для изучения молекулярно-массового распределения декстранов. Предложены уравнения степенной регрессии для количественной оценки средневесовой (M_w), среднечисловой (M_n) молекулярных масс, молекулярной массы в максимуме пика (M_p) декстранов на основе двух параметров самодиффузии макромолекул полимера как единого целого – среднего коэффициента самодиффузии (D_s) и коэффициента самодиффузии в максимуме пика (D_p). Определение M_w , M_n , M_p на основе данных D_p приводит к лучшим результатам, чем на основе D_s . Значения индексов полидисперсности, определенные методом DOSY, не зависят от выбора диффузионного параметра (D_s или D_p).

Ключевые слова: диффузионно-упорядоченная спектроскопия ЯМР; параметры молекулярно-массового распределения полимеров; средний коэффициент самодиффузии; коэффициент самодиффузии в максимуме пика; декстраны.

THE DETERMINATION OF MOLECULAR WEIGHT DISTRIBUTION PARAMETERS OF DEXTRANS WITH THE DIFFUSION-ORDERED NMR SPECTROSCOPY TECHNIQUE

S.V. Moiseev, N.E. Kuzmina, V.I. Krylov, V.A. Yashkir, V.A. Merkulov

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: The article describes the using of diffusion-ordered NMR spectroscopy technique for the investigation of dextrans molecular weight distribution. The power regressions equations has been derived for quantitation of the weight-average molecular weight M_w , number-average molecular weight M_n and molecular weight at the peak maximum M_p using two self-diffusions parameters of dextrans macromolecules as a whole – the average self-diffusion coefficient (D_s) and the self-diffusion coefficient at the peak maximum (D_p). It is shown that the determination of M_w , M_n , M_p , based on the data D_p , gives better results, than the one, based on the data D_s . Polydispersity index values, determined by DOSY, do not depend on the choice of the diffusion parameter (D_s or D_p).

Key words: diffusion-ordered NMR spectroscopy; weight-average molecular weight; number-average molecular weight; molecular weight at the peak maximum; average self-diffusion coefficient; self-diffusion coefficient at the peak maximum; dextrans.

Декстраны – микробные полисахариды, которые продуцируются разными видами бактерий семейства стрептококковых *Streptococcaceae*. На протяжении последних 40 лет их широко используют в биотехнологии и фармацевтике, причем область применения декстранов в этих отраслях промышленности определяется средней молекулярной массой (ММ) биополимера. Так, декстран с ММ 70 кДа применяют для внутривенного введения как плазмозамещающий раствор при шоке, обширных ожогах и больших потерях крови [1]. Декстран с ММ 40 кДа используют для улучшения кровотока в капиллярах, снятия сосудистого спазма, для искусственной экстракорпоральной перфузии органов и др. Показана эффективность этой молекулярной фракции декстранов как адьювантов, переносчиков инсулина и витамина В12 в препаратах пролонгированного действия [1]. Низкомолекулярные формы декстрана с ММ 5–8 кДа интересны для разработки пробиотиков или микроэлементозных препаратов, нормализующих у животных обмен веществ, рост и развитие, а также устойчивость к заболеваниям [1]. На основе декстрана с ММ 1 кДа производят медицинские препараты, способные пре-

дотвращать случаи тяжелых анафилактических реакций при трансфузии декстрановых кровезаменителей с более высокой ММ [2].

Химическая модификация декстранов позволяет получать сефадексы – молекулярные сита, используемые при разделении смесей высокомолекулярных веществ, определении молекулярной массы глобулярных белков и ферментов, обессоливании и концентрировании биополимеров и др. Размеры пор в сефадексах зависят от ММ используемого декстрана [3].

Декстран является полидисперсным полимером, состоящим из остатков α -D-глюкопиранозы. Макромолекулы декстрана представляют собой разветвленные цепи, линейная часть которых содержит главным образом $\alpha(1\rightarrow6)$ связи и небольшое количество $\alpha(1\rightarrow3)$ связей. В некоторых редко встречающихся декстранах обнаружены чередующиеся $\alpha(1\rightarrow6)$ и $\alpha(1\rightarrow3)$ связи (рис. 1). Разветвления в макромолекуле декстрана образуются с помощью $\alpha(1\rightarrow2)$, $\alpha(1\rightarrow3)$ или $\alpha(1\rightarrow4)$ связей (рис. 1) [4–7]. Боковые ветви молекулы состоят обычно из одного или двух остатков глюкозы, реже встречаются более длинные боковые цепи.

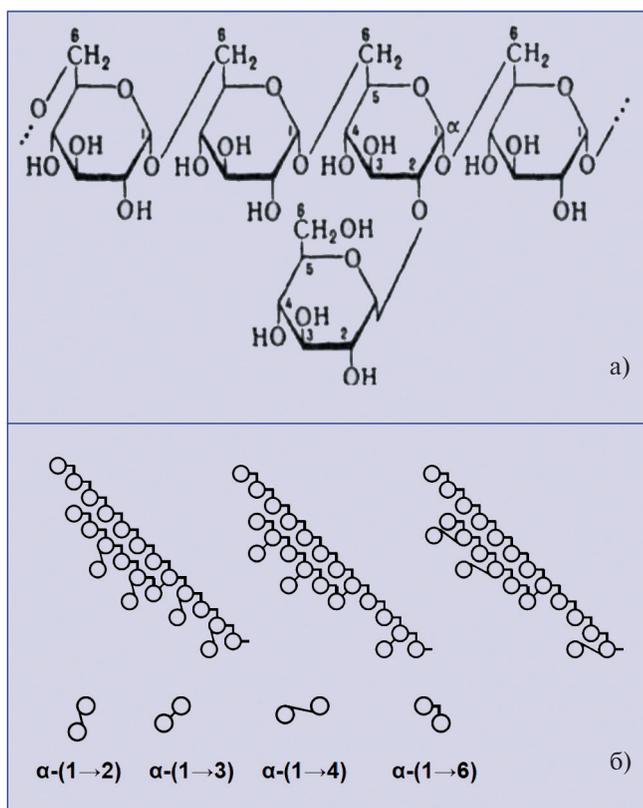


Рис. 1. Фрагмент молекулярной структуры декстранов

Полидисперсный полимер представляет собой набор макромолекул различной длины и разной массы, который описывают молекулярно-массовым распределением (ММР). Значением ММР определяются физико-химические свойства, метаболизм и экскреция декстранов. Поэтому определение ММР является обязательной задачей фармакопейного анализа качества лекарственных субстанций декстранов.

Основными параметрами ММР полимеров являются средняя молекулярная масса (ММ) и индекс полидисперсности. В зависимости от способа усреднения различают средневесовую молекулярную массу (M_w , получают усреднением по массе макромолекул в полимере) и среднечисловую молекулярную массу (M_n , получают усреднением по числу макромолекул в полимере). Величина M_w чувствительна к высокомолекулярным фракциям, а M_n — к низкомолекулярным фракциям полидисперсных полимеров. Поэтому для характеристики средней ММ полимеров часто используют молекулярную массу в максимуме хроматографического пика (M_p), которая для узкодисперсных образцов равна $M_p = (M_w \times M_n)^{0.5}$ [8a]. Отношение M_w/M_n определяет индекс полидисперсности полимера, позволяющий оценить разброс макромолекул по молекулярным массам. Кроме того, с помощью индекса полидисперсности можно определить число единиц ветвления в разветвленной макромолекуле полимера [8].

В настоящее время наиболее надежным методом определения средних ММ и индекса полидисперсности полимеров является метод мультidetекторной

гель-проникающей хроматографии (ГПХ) [9]. ГПХ с детектором по светорассеянию и концентрационным детектором с вискозиметром позволяет определять молекулярные массы независимо от какого-либо вида калибровки колонок. В последнее десятилетие получил развитие новый перспективный метод определения средней ММ полимеров — метод диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР (*Diffusion Ordered Spectroscopy, DOSY*), позволяющий измерить самодиффузию различных молекулярных объектов (молекул, макромолекул, молекулярных комплексов, супрамолекулярных систем) под действием градиента магнитного поля [10]. Метод *DOSY* основан на регистрации потери фазовой когерентности ядерных спинов за счет трансляционных перемещений молекул в таком поле [11, 12]. Диффузную информацию используют для количественной оценки размера макромолекул полимера и, соответственно, его молекулярной массы [4, 13–18]. Преимуществом метода *DOSY* является получение наряду с диффузной также спектральной информации (значения химических сдвигов, мультиплетность сигналов), что позволяет в рамках одного эксперимента решить целый спектр задач фармакопейного анализа качества лекарственных субстанций декстранов.

Метод *DOSY* является косвенным методом определения ММ полимеров. Он предусматривает эмпирическую калибровку корреляционной зависимости коэффициента самодиффузии D (количественной характеристики диффузных процессов) от параметра ММР в ряду объектов, близких по природе к исследуемой системе, и последующую экстраполяцию полученной зависимости в область D изучаемого объекта, чтобы оценить для него искомый параметр. Вид корреляционного уравнения и его значимость будут зависеть от используемого параметра ММР.

При выводе корреляционного уравнения очень важна проблема корректной интерпретации экспериментальных величин *DOSY* эксперимента, поскольку определение значения D полимера как единого целого — нетривиальная задача, даже если все инструментальные источники ошибок учтены, и значения D скорректированы. Основная трудность связана с тем, что не все ядра полимерной макромолекулы характеризуются одним значением D .

Цель работы — сравнить различные способы определения значения D макромолекул декстрана как единого целого и определить функциональные взаимозависимости между D и основными параметрами его ММР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали стандартные образцы декстранов производства компании «Pharmacosmos» (Дания). Параметры ММР представлены в табл. 1. Регистрацию спектров 1H и 1H -*DOSY* проводили на ЯМР спектрометре *Agilent DD2 NMR System 600* с 5-мм инверсным мультidetектор-

Таблица 1

ЗНАЧЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ММР ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ДЕКСТРАНОВ

Образец	M_p , кДа	M_w , кДа	M_n , кДа	Образец	M_p , кДа	M_w , кДа	M_n , кДа
Dextran1	1,08	1,27	1,01	Dextran80	66,70	80,9	55,5
Dextran5	4,44	5,22	3,26	Dextran150	123,60	147,6	100,3
Dextran12	9,89	11,6	8,11	Dextran270	196,30	273,0	164,2
Dextran25	21,40	23,8	18,3	Dextran410	276,50	409,8	236,3
Dextran50	43,50	48,6	35,6	Dextran670	401,30	667,8	332,8

ным датчиком, оснащенным градиентной катушкой, при температуре 300 К. Анализируемые образцы в количестве 5 мг растворяли в 0,5 мл D_2O (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*). Полученные растворы разбавляли D_2O в 10 раз до концентрации 1 мг/мл и переносили в ЯМР-ампулы *Shigemi* со стеклянным плунжером для минимизации эффектов конвекции и неоднородности импульсов градиента магнитного поля. Для измерения коэффициентов самодиффузии использовали последовательность *DBPPSTE (DOSY Bipolar Pulse Pair Stimulated Echo)*. Кривые диффузионного затухания получали при последовательном 15-шаговом линейном увеличении амплитуды импульса градиента магнитного поля в интервале от 1,82 до 53 Гс/см при фиксированных значениях времени диффузии Δ (285 мс), длительности градиентного импульса δ (2,0 мс) и времени релаксации $d1$ (5 с). Математическую обработку результатов осуществляли методом *DISCRETE (Discrete Sum of Exponential Decays)* [19], в рамках которого каждую кривую диффузионного затухания представляли суммой двух экспоненциальных составляющих. Вывод корреляционных уравнений и расчет статистических параметров (коэффициентов детерминации, F -критериев Фишера, t -критериев Стьюдента) проводили с использованием программного обеспечения *MS Excel 2007*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под самодиффузией понимают пространственное перемещение молекул в термодинамически равновесной материальной среде за счет хаотического теплового движения [20]. Самодиффузию характеризуют коэффициентом самодиффузии D , который численно равен среднеквадратичному смещению молекулы за время диффузии t_d . Информацию о величине D молекулярной системы в рамках метода *DOSY* получают из анализа диффузионного затухания – зависимости амплитуды сигнала спинового эха от параметров градиента магнитного поля, которая описывается функцией Стейскала-Таннера [21]:

$$I(\delta, \Delta) = I_0 \exp[-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)],$$

где I и I_0 – амплитуда сигнала спинового эха в присутствии и отсутствии импульса градиента магнитного поля, Δ – время диффузии (мс), δ – длительность градиентного импульса (мс), γ – гиромагнитное отношение для данного ядра ($\text{Гц} \cdot \text{Тл}^{-1}$), g – величина градиента магнитного поля ($\text{Тл} \cdot \text{м}^{-1}$).

Зависимость величины D от размера молекулярных объектов описывает уравнение Стокса-Энштейна [22]:

$$D = k \cdot T / 6\pi\eta R_h$$

где k – постоянная Больцмана ($\text{Дж} \cdot \text{К}^{-1}$), T – абсолютная температура (К), η – вязкость раствора ($\text{Н} \cdot \text{с} \cdot \text{м}^{-2}$), R_h – гидродинамический радиус (м).

Растворы полимеров, как правило, характеризуются несколькими значениями D , даже в случае узкодисперсного ММР, когда образец представляет собой набор близких по длине и массе макромолекул. Одна из причин данного явления – наличие в исследуемой системе ряда состояний, соответствующих минимумам на поверхности потенциальной энергии (например, различных конформаций или ассоциатов с растворителем), и химический обмен между ними (переход спина или группы спинов между несколькими состояниями). В случае медленного химического обмена каждый набор сигналов, соответствующий различным состояниям, будет характеризоваться своим значением D . Другая причина экспериментально наблюдаемого разброса значений D ядер макромолекулы полимера – различная локальная подвижность сегментов полимерной цепи, которая не зависит от молекулярной массы полимера, но является специфической для каждой конкретной системы «полимер – растворитель» и зависит от температуры измерения. В рамках метода ЯМР системы спинов ядер, характеризующихся единственными значениями исследуемого параметра (D , времени релаксации T_1 или T_2 и т.д.) принято выделять в фазы [20]. Определяемые таким образом фазы не имеют ничего общего с термодинамическими фазами состояния вещества. Следовательно, растворы полимеров, которые характеризуются набором значений D , являются полифазными системами. Трансляционную подвижность полифазной полимерной макромолекулы как единого целого часто анализируют с помощью среднего коэффициента самодиффузии (D_s), который определяют по формуле [20, 22]:

$$D_s = \sum p_i D_i,$$

где p_i – относительная доля (населенность) резонирующих ядер в образце, характеризующихся значением D_i .

На практике величины p_i можно определять путем интегрирования пиков на диаграмме распределения D . Например, на рис. 2 представлена диаграмма рас-

предела D образца *Dextran 1*, значение D_s которого ($2,517 \cdot 10^{-10}$ м²/с) получено усреднением четырех величин D_i . В своих предыдущих работах [23–25] мы предложили для характеристики самодиффузии макромолекулы полимера как единого целого использовать величину D в максимальном пике на диаграмме распределения D в образце полимера (D_p). Например, для образца *Dextran 1* $D_p = 2,510 \cdot 10^{-10}$ м²/с (рис. 2). В табл. 2 представлены значения D_s и D_p для декстранов с различной средней ММ, которые получены нами при использовании параметров *DOSY* эксперимента, обеспечивающих высокое разрешение по величине D разветвленных полисахаридов (декстранов и ГЭК) [24, 25]. Как следует из табл. 2, в большинстве случаев $D_s > D_p$.

Мы исследовали степенные зависимости параметров ММР декстранов (M_w , M_n и M_p) от диффузионных характеристик (D_p и D_s), разбив весь массив исследуемых образцов декстранов на обучающую (*Dextran 1*, 5, 12, 25, 50, 150, 270, 670) и контрольную (*Dextran 80*, *Dextran 410*) выборки. Полученные уравнения степенной регрессии представлены в табл. 3, графическое отображение этих зависимостей – на рис. 3 и 4. Как следует из таблицы 3, обе количественные характеристики процессов самодиффузии (D_p и D_s) с высокой точностью коррелируют со всеми параметрами ММР: значения коэффициентов детерминации (R^2), которые являются индикатором степени подгонки модели к исходным данным, во всех случаях близки к 1. Максимальные значения R^2 имеют уравнения I–III. Следовательно, параметры ММР декстранов лучше всего коррелируют с D_p . Следует отметить, что вывод регрессионных уравнений был проведен для ограниченной по

объему совокупности (12 наблюдений), то есть полученные параметры уравнений регрессии и коэффициенты детерминации могут быть искажены действием случайных факторов. Для оценки значимости отдельных коэффициентов регрессии и уравнений регрессии в целом были рассчитаны значения t -критерия Стьюдента (t) для каждого коэффициента и F -критерии Фишера (F) для каждого уравнения (табл. 3). Расчет t и F осуществляли, используя линейные регрессионные уравнения, полученные логарифмическим преобразованием соответствующих степенных зависимостей. Графические изображения линейных зависимостей $\lg MM = a \cdot \lg D + b$ (табл. 3) приведены на рис. 5 и 6. Фактические значения F и t для каждого коэффициента (t_a , t_b) сравнивали с табличными (максимальными значениями критериев под влиянием случайных факторов) при текущих степенях свободы и заданном уровне значимости (0.05). Как следует из данных табл. 3, фактические значения F , t_a , t_b по модулю значительно превосходят табличные значения, что свидетельствует о статистической значимости моделей и надежности полученных уравнений регрессии. Следует отметить, что выбор количественной характеристики процесса самодиффузии макромолекул декстранов как единого целого (D_p или D_s) не оказывает существенного влияния на значения статистических параметров точности и значимости регрессионных моделей зависимости параметров ММР от D .

Полученные уравнения степенной регрессии параметров ММР от D (I–VI, табл. 3) были использованы для расчета значений M_w , M_p , M_n и M_w/M_n образцов декстранов, вошедших в контрольную выборку (табл. 4). Погрешность расчета (δ) оценивали отно-

сительно экспериментальных значений параметров ММР, определенных методом ГПХ с детектором по светорассеянию и концентрационным детектором с вискозиметром. Как следует из данных табл. 4, в целом наблюдается хорошее соответствие между всеми анализируемыми параметрами ММР декстранов, определенными методом ГПХ (см. табл. 1) и рассчитанными с использованием предложенных регрессионных уравнений в рамках метода *DOSY*. Независимо от способа определения значения D декстранов (D_s или D_p), соответствие расчетных параметров ММР экспериментальным значениям увеличивается в ряду $M_w < M_n \approx M_p$. Средняя погрешность в определении M_p декстранов методом *DOSY* лежит в пределах погрешности опре-

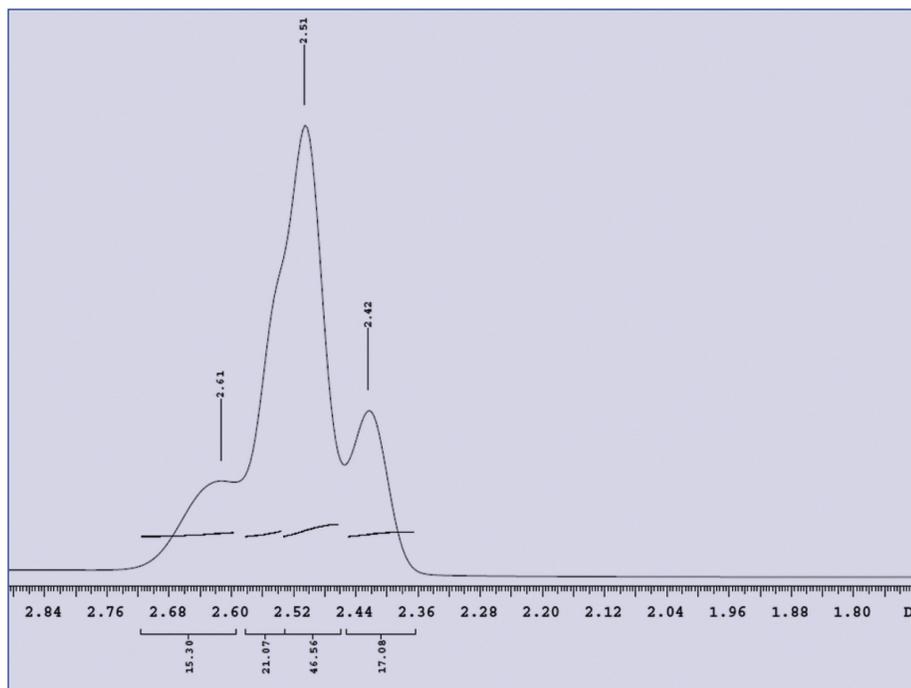


Рис. 2. Диаграмма распределения коэффициентов самодиффузии образца декстрана *Dextran 1*

Таблица 2

ЗНАЧЕНИЯ ДИФФУЗИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ДЕКСТРАНОВ

Образец	$D_p \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$	$D_s \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$	Образец	$D_p \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$	$D_s \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$
Dextran1	2,510	2,517	Dextran80	0,367	0,372
Dextran5	1,379	1,375	Dextran150	0,296	0,337
Dextran12	0,924	0,914	Dextran270	0,223	0,225
Dextran25	0,637	0,628	Dextran410	0,207	0,216
Dextran50	0,466	0,477	Dextran670	0,168	0,186

Таблица 3

РЕГРЕССИОННЫЕ УРАВНЕНИЯ ЗАВИСИМОСТИ ПАРАМЕТРОВ ММР ОТ ДИФФУЗИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ ДЕКСТРАНОВ

№ п/п	Уравнение $MM=a D^b$	Уравнение $\lg(MM)=a \lg(D)+b$	R^2	F	$t(a)$	$t(b)$
I	$M_w = 9,7412 D_p^{-2,26}$	$\lg M_w = -2,2603 \lg D_p - 21,615$	0,997	2183	-46,72	-43,57
II	$M_p = 8,3038 D_p^{-2,164}$	$\lg M_p = -2,1637 \lg D_p - 20,718$	0,999	8608	-92,78	-86,64
III	$M_n = 6,9291 D_p^{-2,151}$	$\lg M_n = -2,151 \lg D_p - 20,669$	0,999	11205	-105,85	-99,20
IV	$M_w = 9,9832 D_s^{-2,34}$	$\lg M_w = -2,3401 \lg D_s - 22,402$	0,993	844	-29,05	-27,16
V	$M_p = 8,4984 D_s^{-2,241}$	$\lg M_p = -2,2407 \lg D_s - 21,478$	0,996	1332	-36,50	-34,17
VI	$M_n = 7,0909 D_s^{-2,227}$	$\lg M_n = -2,2274 \lg D_s - 21,424$	0,996	1356	-36,83	-34,59

$$F_{\text{табл}} = 5,987$$

$$t(a)_{\text{табл}} = t(b)_{\text{табл}} = 2,447$$

Таблица 4

РАСЧЕТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ММР ОБРАЗЦОВ ДЕКСТРАНОВ КОНТРОЛЬНОЙ ВЫБОРКИ

Декстран	D	Расчетные параметры ММР (X_{DOSY})				δ^* , %			
		M_w , кДа	M_p , кДа	M_n , кДа	M_w/M_n	M_w , кДа	M_p , кДа	M_n , кДа	M_w/M_n
Dextran80	D_p	93,86	72,67	59,85	1,57	16,01	8,95	7,84	7,53
	D_s	100,97	76,64	64,13	1,57	24,81	14,90	15,56	7,53
Dextran410	D_p	342,39	250,91	205,13	1,67	16,45	9,26	13,19	3,43
	D_s	360,29	256,75	215,22	1,67	12,08	7,14	8,92	3,43
среднее значение	D_p					16,23	9,11	10,52	5,48
	D_s					18,45	11,02	12,24	5,48

$$*\delta = |(X_{\text{ГПХ}} - X_{\text{DOSY}}) / X_{\text{ГПХ}}| \cdot 100\%$$

деления ММ методом ГПХ (5–10%) [26]. Сравнение средних значений относительных погрешностей позволяет сделать следующий вывод: определение M_n , M_p и M_w на основе данных D_p приводит к лучшим результатам, чем на основе данных D_s . Значения индексов полидисперсности, полученные с использованием обоих диффузионных характеристик, совпадают, и средняя относительная погрешность определения M_w/M_n не превышает 10%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе регрессионного анализа сделан вывод о возможности применения метода *DOSY* для оценки основных параметров ММР (M_w , M_n и M_p , индекса полидисперсности) декстранов. Наиболее точно диффузионные параметры коррелируют с молекулярной массой декстранов в максимуме хроматографического пика (M_p). Таким образом, при определении параметров ММР и индекса полидисперсности декстранов методом *DOSY* можно ограничиться данными D_p .

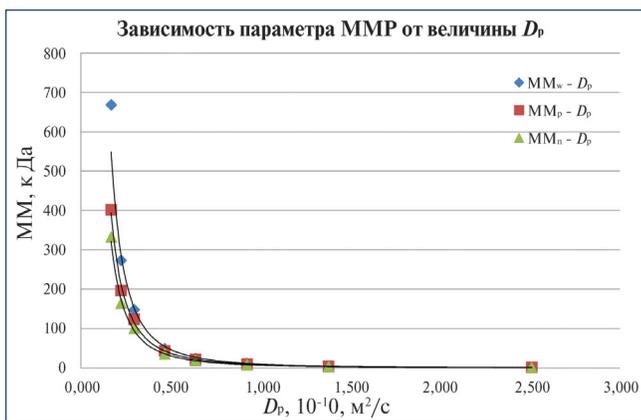


Рис. 3. Графическая зависимость средних молекулярных масс декстранов от D_p

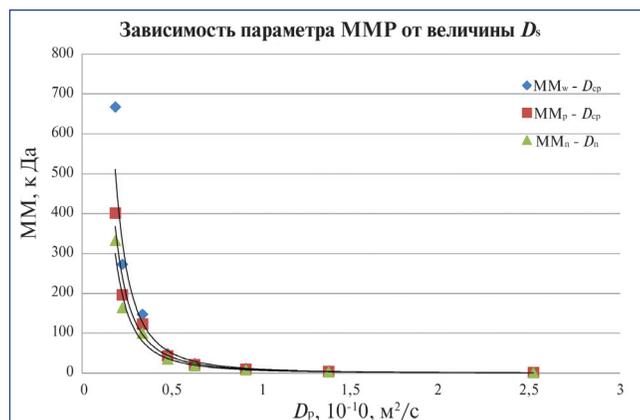


Рис. 4. Графическая зависимость средних молекулярных масс декстранов от D_s

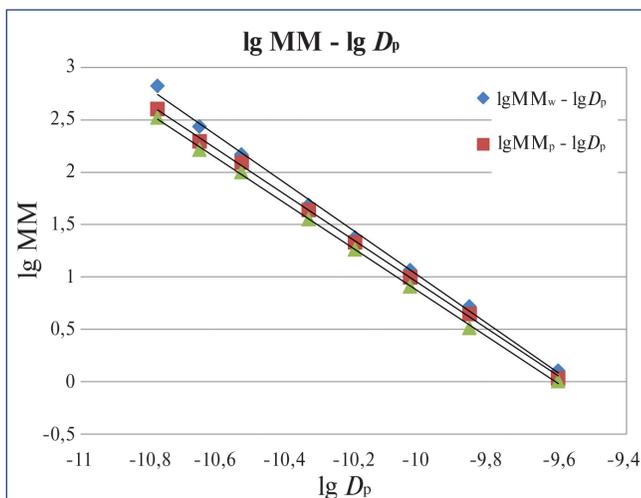


Рис. 5. Линейная зависимость $\lg MM$ от $\lg D_p$ для декстранов ($MM = \kappa \text{ Да}$, $D_p = \text{м}^2/\text{с}$)

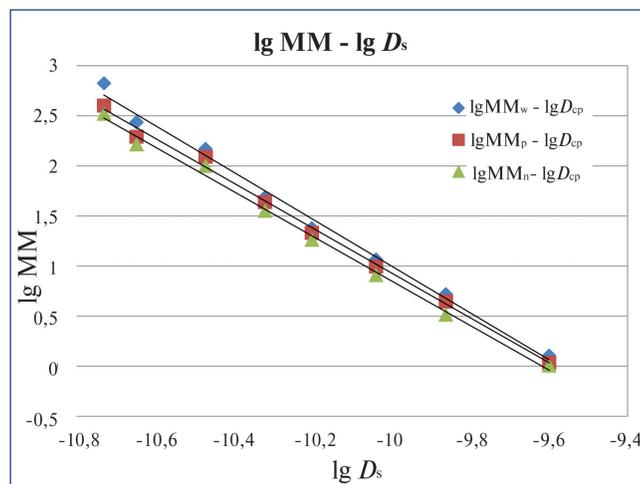


Рис. 6. Линейная зависимость $\lg MM$ от $\lg D_s$ для декстранов ($MM = \kappa \text{ Да}$, $D_s = \text{м}^2/\text{с}$)

ЛИТЕРАТУРА

1. Гоготов ИН. Полисахариды: свойства, получение и практическое использование. В кн.: Тезисы докладов Международной научно-практической конференции «Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экономического пространства стран содружества». Минск–Нароч. 25–28 мая 2005. С. 54–55.
2. Донецкий ИА, Персанова ЛВ, Акимов ДА, Суханов ЮС, Бодина ЗК, Новохатский АС, Хлябич ГН. Способ получения декстрана. Патент Российской Федерации, № 2093577; 2002.
3. Жуков АФ, Колосова ИФ, Кузнецов ВВ. Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа. М.: Химия; 2001.
4. Maina NH. Structure and macromolecular properties of Weissella confusa and Leuconostoc citreum dextrans with a potential application in sourdough. PhD [dissertation]. Helsinki: University of Helsinki; 2012.
5. Кнунянц ИЛ, ред. Химическая энциклопедия. Т. 2. М: Большая российская энциклопедия; 1990.
6. Monsan P, Bozonnet S, Albenne C, Joucla G, Willemot R, Remaund-Simeon M. Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. Int Dairy J 2001; 11: 675–685.
7. Sarwat F, Qader S.A., Aman A., Nuzhat A. N. Production and Characterization of a Unique Dextran from an Indigenous *Leuconostoc mesenteroides* CMG713. Int J Biol Sci 2008; 4(6): 379–386.
8. Нефедов ПП, Лавренко ПН. Транспортные методы в аналитической химии полимеров. Л.: Химия; 1979.
9. Striegel AM. Multiple detection in size-exclusion chromatography of macromolecules. Analytical Chem 2005; 77(5): 104A–113A.
10. Morris KF, Johnson Jr. CS. Resolution of discrete and continuous molecular size distributions by means of diffusion-ordered 2D NMR spectroscopy. J Am Chem Soc 1993; 115(10): 4291–4299.

REFERENCES

1. Gogotov IN. Polysaccharides: properties, production and practical use. In: Abstracts of the International scientific-practical conference «Prospects and problems of biotechnology in the Common Economic Space of the Commonwealth». Minsk–Naroch. 2005, May 25–28. P. 54–55 (in Russian).
2. Donetsk IA, Persanova LV, Akimov DA, Suhanov YuS, Bodina ZK, Novohatsky AS, Hlyabich GN. A method of producing of dextran. Patent of the Russian Federation, № 2093577; 2002 (in Russian).
3. Zhukov AF, Kolosova IF, Kuznetsov VV. Analytical chemistry. Physical and chemical methods of analysis. Moscow: Himiya; 2001 (in Russian).
4. Maina NH. Structure and macromolecular properties of Weissella confusa and Leuconostoc citreum dextrans with a potential application in sourdough. PhD [dissertation]. Helsinki: University of Helsinki; 2012.
5. Knunyants IL, ed. Chemical encyclopedia. V. 2. Moscow: Bolshaya rossiyskaya entsiklopediya; 1990 (in Russian).
6. Monsan P, Bozonnet S, Albenne C, Joucla G, Willemot R, Remaund-Simeon M. Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. Int Dairy J 2001; 11: 675–685.
7. Sarwat F, Qader S.A., Aman A., Nuzhat A. N. Production and Characterization of a Unique Dextran from an Indigenous *Leuconostoc mesenteroides* CMG713. Int J Biol Sci 2008; 4(6): 379–386.
8. Nefedov PP, Lavrenko PN. Transportation methods in analytical chemistry of polymers. Leningrad: Himiya; 1979 (in Russian).
9. Striegel AM. Multiple detection in size-exclusion chromatography of macromolecules. Analytical Chem 2005; 77(5): 104A–113A.
10. Morris KF, Johnson Jr. CS. Resolution of discrete and continuous molecular size distributions by means of diffusion-ordered 2D NMR spectroscopy. J Am Chem Soc 1993; 115(10): 4291–4299.
11. Price WS. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for

11. Price WS. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for studying translational diffusion: Part 1. Basic theory. *Concept Magn Reson* 1997; 9(5): 299–336.
12. Price WS. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for studying translational diffusion: Part 2. Experimental aspects. *Concept Magn Reson* 1998; 10(4): 197–237.
13. Li W, Chung H, Daeffler C, Johnson JA, Grubbs RH. Application of 1H DOSY for Facile Measurement of Polymer Molecular Weights. *Macromolecules* 2012; 45(24): 9595–9603.
14. Mazarin M, Viel S, Allard-Breton B, Thevand A, Charles L. Use of Pulsed Gradient Spin-Echo NMR as a Tool in MALDI Method Development for Polymer Molecular Weight Determination. *Anal Chem* 2006; 78(8): 2758–64.
15. Viel S, Capitani D, Mannina L, Segre A. Diffusion ordered NMR spectroscopy: A versatile tool for the molecular weight determination of uncharged polysaccharides. *Biomacromolecules* 2003; 4(6): 1843–7.
16. Tomati U, Belardinelli M, Galli E, Iori V, Capitani D, Mannina L, Viel S, Segre A. NMR characterization of the polysaccharidic fraction from *Lentinula edodes* grown on olive mill waste waters. *Carbohydr Res* 2004; 339(6): 1129–34.
17. Politi M, Groves P, Chavez MI, Canada FJ, Jimenez-Barbero J. Useful applications of DOSY experiments for the study of mushroom polysaccharides. *Carbohydr Res* 2006; 341(1): 84–9.
18. Suarez ER, Syvitski R, Kralovec JA, Noseda MD, Barrow CJ, Ewart HS, Lumsden MD, Grindley TB. Immunostimulatory Polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomacromolecules* 2006; 7(8): 2368–76.
19. Provencher SW. An eigenfunction expansion method for the analysis of exponential decay curves. *J Chem Phys* 1976; 64(7): 2772–7.
20. Маклаков АИ, Скирда ВД, Фаткуллин НФ. Самодиффузия в растворах и расплавах. Казань: Издательство Казанского университета; 1987.
21. Stejskal JE, Tanner EO. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J Chem Phys* 1965; 42(1): 288–90.
22. Харламов СВ, Латыпов ШК. Современная диффузионно-упорядоченная спектроскопия ЯМР в химии супрамолекулярных систем: возможности и ограничения. *Успехи химии* 2010; 79(8): 699–719.
23. Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Крылов ВИ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Возможности применения метода диффузно-упорядоченной спектроскопии ЯМР для количественной оценки средней молекулярной массы полулланов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2013; 4: 8–11.
24. Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Крылов ВИ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. *Журнал аналитической химии* 2014; 69. В печати.
25. Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Крылов ВИ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. *Журнал аналитической химии* 2014; 69. В печати.
26. Благодатских ИВ. Жидкостная хроматография полимеров. Методическое пособие. М.: Научно-образовательный центр по физике и химии полимеров ИНЭОС РАН; 2010.
- studying translational diffusion: Part 1. Basic theory. *Concept Magn Reson* 1997; 9(5): 299–336.
12. Price WS. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for studying translational diffusion: Part 2. Experimental aspects. *Concept Magn Reson* 1998; 10(4): 197–237.
13. Li W, Chung H, Daeffler C, Johnson JA, Grubbs RH. Application of 1H DOSY for Facile Measurement of Polymer Molecular Weights. *Macromolecules* 2012; 45(24): 9595–9603.
14. Mazarin M, Viel S, Allard-Breton B, Thevand A, Charles L. Use of Pulsed Gradient Spin-Echo NMR as a Tool in MALDI Method Development for Polymer Molecular Weight Determination. *Anal Chem* 2006; 78(8): 2758–64.
15. Viel S, Capitani D, Mannina L, Segre A. Diffusion ordered NMR spectroscopy: A versatile tool for the molecular weight determination of uncharged polysaccharides. *Biomacromolecules* 2003; 4(6): 1843–7.
16. Tomati U, Belardinelli M, Galli E, Iori V, Capitani D, Mannina L, Viel S, Segre A. NMR characterization of the polysaccharidic fraction from *Lentinula edodes* grown on olive mill waste waters. *Carbohydr Res* 2004; 339(6): 1129–34.
17. Politi M, Groves P, Chavez MI, Canada FJ, Jimenez-Barbero J. Useful applications of DOSY experiments for the study of mushroom polysaccharides. *Carbohydr Res* 2006; 341(1): 84–9.
18. Suarez ER, Syvitski R, Kralovec JA, Noseda MD, Barrow CJ, Ewart HS, Lumsden MD, Grindley TB. Immunostimulatory Polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomacromolecules* 2006; 7(8): 2368–76.
19. Provencher SW. An eigenfunction expansion method for the analysis of exponential decay curves. *J Chem Phys* 1976; 64(7): 2772–7.
20. Maklakov AI, Skirda VD, Fatkulnin NF. Self-diffusion in solutions and melts. Kазan: Izdatelstvo Kazanskogo universiteta; 1987 (in Russian).
21. Stejskal JE, Tanner EO. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J Chem Phys* 1965; 42(1): 288–90.
22. Harlamov SV, Latypov SK. Modern diffusion-ordered NMR spectroscopy in chemistry of supramolecular systems: possibilities and limitations. *Uspehi himii* 2010; 79(8): 699–719 (in Russian).
23. Kuzmina NE, Moiseev SV, Krylov VI, Yashkir VA, Merkulov VA. The possibility of using diffusion-ordered NMR spectroscopy for quantitative analysis of pullulan average molecular weight. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* 2013; 4: 8–11 (in Russian).
24. Kuzmina NE, Moiseev SV, Krylov VI, Yashkir VA, Merkulov VA. *Zhurnal analiticheskoy himii* 2014; 69 (in Russian).
25. Kuzmina NE, Moiseev SV, Krylov VI, Yashkir VA, Merkulov VA. *Zhurnal analiticheskoy himii* 2014; 69 (in Russian).
26. Blagodatskih IV, Blagodatskih IB. Liquid chromatography of polymers. Toolkit. Moscow: Nauchno-obrazovatelny tsentr po fizike i himii polimerov INEOS RAN; 2010 (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

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

Моисеев Сергей Владимирович. Эксперт 1-й категории лаборатории наноллекарств, препаратов для клеточной и генотерапии, канд. хим. наук.

Кузьмина Наталья Евгеньевна. Ведущий эксперт лаборатории наноллекарств, препаратов для клеточной и генотерапии, д-р хим. наук.

Крылов Владимир Игоревич. Ведущий инженер лаборатории наноллекарств, препаратов для клеточной и генотерапии.

Яшкир Вадим Анатольевич. Начальник лаборатории наноллекарств, препаратов для клеточной и генотерапии, канд. хим. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Первый заместитель генерального директора, д-р мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Моисеев Сергей Владимирович; MoiseevSV@expmed.ru

Статья поступила 04.04.2014 г.

AUTHORS:

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

Moiseev SV. 1st category expert of Laboratory of nanomedicines, medicines for cell therapy and geneotherapy. Candidate of Chemical Sciences.

Kuzmina NE. Leading expert of Laboratory of nanomedicines, medicines for cell therapy and geneotherapy. Doctor of Chemical Sciences.

Krylov VI. Leading engineer of Laboratory of nanomedicines, medicines for cell therapy and geneotherapy.

Yashkir VA. Head of Laboratory of nanomedicines, medicines for cell therapy and geneotherapy. Candidate of Chemical Sciences.

Merkulov VA. First Deputy Director General. Doctor of Medical Sciences.

Принята к печати 14.05.2014 г.

Влияние температуры хроматографирования на разделение гомологов бензалкония хлорида

А.С. Осипов, Е.Б. Нечаева, Е.Л. Ковалёва, О.А. Победин

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Исследовано влияние температуры хроматографирования на разделение гомологов бензалкония хлорида на колонках с нитрильными и фенильными сорбентами. Увеличение температуры хроматографирования до 45–60°C позволяет сократить время анализа и повысить чувствительность определения гомологов бензалкония хлорида. Повышение температуры анализа не оказывает существенного влияния на разрешение между пиками гомологов бензалкония хлорида. Однако, необходимо отметить, что длительность эксплуатации колонок с нитрильными сорбентами при более высоких температурах (свыше 60°C) требует дополнительного изучения, учитывая возможность гидролиза нитрильных групп при высоких температурах. Так же, как для нитрильных колонок, увеличение температуры улучшает хроматографические параметры разделения для гомологов бензалкония хлорида на фенильных колонках.

Ключевые слова: ВЭЖХ; бензалконий хлорид; температура.

THE IMPACT OF THE TEMPERATURE ON CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF BENZALKONIUM CHLORIDE HOMOLOGS

A.S. Osipov, E.B. Nechaeva, E.L. Kovaleva, O.A. Pobedin

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: The impact of the temperature on chromatographic separation of benzalkonium chloride homologs on nitrile and phenyl sorbent columns was investigated. Increasing the chromatographic temperature up to 45–60°C allows to reduce the analysis time and increase the sensitivity of benzalkonium chloride homologs detection. Increasing the analysis temperature has no significant impact on the resolution between the peaks of benzalkonium chloride homologs. However, it should be noticed that the duration of use for the columns with nitrile sorbents at higher temperatures (above 60°C) require further study, taking into account the possibility of nitrile group hydrolysis at high temperatures. Increasing the temperature of nitrile columns improves the chromatographic separation parameters for benzalkonium chloride homologs on phenyl columns.

Key words: HPLC; benzalkonium chloride; temperature.

Бензалконий хлорид применяется в медицинской практике как антисептическое средство. Применяют бензалконий хлорид главным образом как консервант в глазных каплях, а также в составе комбинированных антисептических средств – пастилок и таблеток для рассасывания при профилактике и лечении бактериальных инфекций полости рта [1]. Бензалконий хлорид представляет собой смесь алкилбензилдиметиламмоний хлоридов, имеющих общую формулу: $C_6H_5CH_2N+(CH_3)_2R/Cl^-$; где R – от $n-C_8H_{17}$ до $n-C_{16}H_{33}$. Количественное содержание антисептика в препаратах определяют как сумму гомологов. По нормам Фармакопеи США гомологи $n-C_{12}H_{25}$ и $n-C_{14}H_{29}$ должны составлять не менее 70% от общего содержания алкилбензилдиметиламмоний хлоридов [2]. Субстанции бензалкония хлорида, применяющиеся при производстве глазных капель, как правило, не менее чем на 85–90% состоят из гомологов $n-C_{12}H_{25}$ и $n-C_{14}H_{29}$. Концентрация антисептика в глазных каплях составляет обычно 0,1 мг/мл. Для количественного определения бензалкония хлорида в препаратах в большинстве случаев применяют методику хроматографирования, приведенную в Европейской и Американской Фармакопеях для определения соотношения гомологов бензалкония хлорида.

Анализ проводят на хроматографических колонках с нитрильными сорбентами в изократическом режиме. Длина хроматографических колонок составляет 250–300 мм. Следует отметить, что температура хроматографирования в этих фармакопейных методиках не приведена. Значительно реже для количественного определения бензалкония хлорида в глазных каплях применяют условия хроматографирования, приведенные в данных фармакопейных статьях для определения посторонних примесей в бензалкония хлориде. Определение проводят на колонках C18 в градиентном режиме. Подвижная фаза содержит ион-парный реагент – натрия гексансульфонат [2–5]. Необходимо отметить, что условия анализа бензалкония хлорида на нитрильных колонках существенно проще.

Цель работы: исследование влияния температуры на разделение гомологов бензалкония хлорида на хроматографических колонках с нитрильными и фенильными сорбентами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на хроматографе «Agilent», серии 1100 (Agilent Technologies, США). В работе использовали колонки: *Hypersil BDS Cyano* 150×3,0 мм, 5 мкм (Thermo Scientific, США), *Zorbax SB-CN* 150×4,6 мм,

5 мкм, *Zorbax Eclipse XDB-CN* 150×4,6 мм, 5 мкм (*Agilent Technologies*, США), *Ace 3 Phenyl* 150×4,6 мм, 3 мкм (*Advanced Chromatography Technologies*, Шотландия), *Zorbax SB-Phenyl* 150×4,6 мм, 3,5 мкм. (*Agilent Technologies*, США). Применяли подвижную фазу: 100 мМ натрия ацетат в воде (рН 5,0) – ацетонитрил в соотношении 50:50 (для нитрильных колонок), либо 40:60 (для фенильных колонок). Детектирование осуществляли при 254 нм. Скорость потока элюента – 0,5 мл/мин или 1,2 мл/мин. Ввод образцов – 10 или 20 мкл в зависимости от диаметра колонок. Анализ бензалкония хлорида проводили при температурах 20, 30, 40, 50 и 60 °С.

В работе использовали стандартный образец бензалкония хлорида (*USP Benzalkonium Chloride RS*) Фармакопеи США с содержанием действующего вещества (суммы гомологов) 10,0%. Навеску стандартного образца разводили водой до концентрации 2 мг/мл, затем до концентрации 0,05 мг/мл подвижными фазами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые параметры хроматографирования бензалкония хлорида на нитрильных колонках приведены в табл. 1. При выполнении анализа на колонке *Hypersil BDS Cyano* повышение температуры хрома-

тографирования от 20 до 60 °С сокращает время анализа в 1,9 раз (рис. 1 и 2). Эффективность колонки увеличивается, соответственно, от 1,14 раз (для гомолога С16) до 1,39 раз (для гомолога С12). Высоты пиков (а, следовательно, и чувствительность определения) возрастают от 1,97 до 2,07 раз. Повышение температуры не оказывает существенного влияния на разрешение между пиками гомологов бензалкония хлорида (табл. 1). Следует отметить, что на колонке с сорбентом *Zorbax SB-CN* наблюдаются большие времена удерживания гомологов бензалкония хлорида по сравнению с другими нитрильными колонками.

Увеличение температуры анализа улучшает хроматографические параметры разделения для всех гомологов бензалкония хлорида. Однако вопрос о длительности эксплуатации колонок с нитрильными сорбентами при более высоких температурах (свыше 60 °С) требует дополнительного изучения, учитывая возможность гидролиза нитрильных групп при высоких температурах.

Необходимо отметить, что хроматографические колонки с нитрильными и фенильными сорбентами обладают определенной схожестью в условиях обращенно-фазовой хроматографии. Это обусловлено возможностью специфической сорбции за счет π-π взаимодействиями между π-связями функциональ-

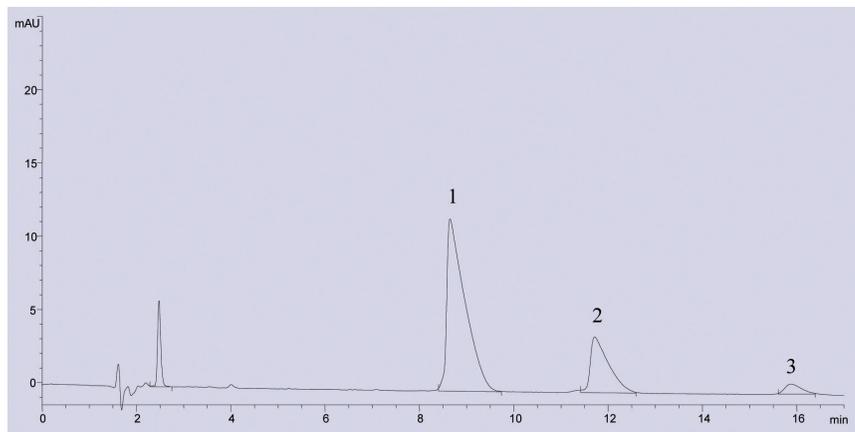


Рис. 1. Хроматограмма стандартного образца бензалкония хлорида
Условия анализа: колонка *Hypersil BDS Cyano* 150×3,0 мм, 5 мкм; подвижная фаза: 100 мМ натрия ацетат в воде (рН 5,0) – ацетонитрил (48:52); скорость потока – 0,5 мл/мин; детектирование при 254 нм. Температура разделения 20 °С.

1 – гомолог $n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$,
2 – гомолог $n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}$,
3 – гомолог $n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}$

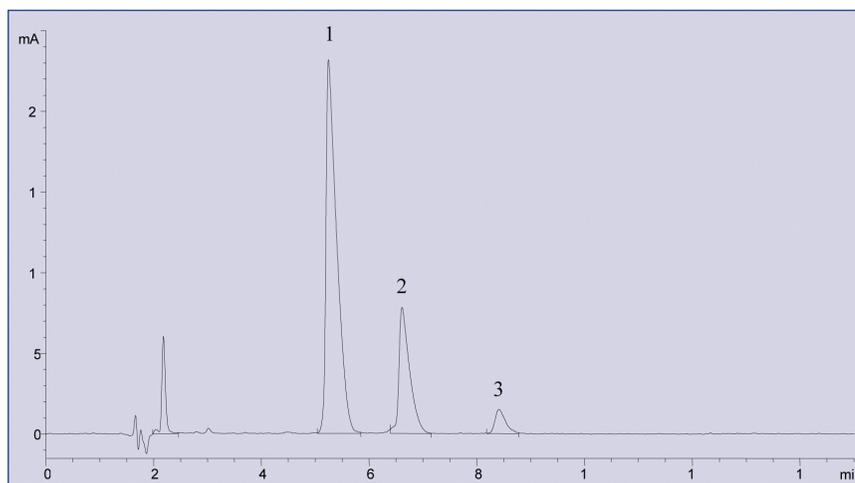


Рис. 2. Хроматограмма стандартного образца бензалкония хлорида
Условия анализа: колонка *Hypersil BDS Cyano* 150×3,0 мм, 5 мкм; подвижная фаза: 100 мМ натрия ацетат в воде (рН 5,0) – ацетонитрил (48:52); скорость потока – 0,5 мл/мин; детектирование при 254 нм. Температура разделения 60 °С.

1 – гомолог $n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$,
2 – гомолог $n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}$,
3 – гомолог $n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}$

ВРЕМЕНА УДЕРЖИВАНИЯ И РАЗРЕШЕНИЕ МЕЖДУ ПИКАМИ ГОМОЛОГОВ БЕНЗАЛКОНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ*

Наименование колонки; температура анализа	Время удерживания, мин			Разрешение между пиками гомологов C12 и C14	Разрешение между пиками гомологов C14 и C16
	гомолога C12	гомолога C14	гомолога C16		
Hypersil BDS Cyano 150×3,0 мм, 5 мкм 20°C	8,65	11,72	15,88	4,43	6,01
Hypersil BDS Cyano 150×3,0 мм, 5 мкм 30°C	7,56	10,04	13,37	4,34	5,87
Hypersil BDS Cyano 150×3,0 мм, 5 мкм 40°C	6,61	8,63	11,32	4,18	5,65
Hypersil BDS Cyano 150×3,0 мм, 5 мкм 50°C	5,82	7,46	9,65	4,09	5,52
Hypersil BDS Cyano 150×3,0 мм, 5 мкм 60°C	5,24	6,62	8,41	3,95	5,29
Zorbax SB-CN 150×4,6 мм, 5 мкм 20°C	19,50	30,18	44,22	3,98	6,44
Zorbax SB-CN 150×4,6 мм, 5 мкм 50°C	11,75	17,69	27,48	4,5	6,34
Zorbax Eclipse XDB-CN 150×4,6 мм, 5 мкм 20°C	9,48	12,90	18,20	3,86	6,36
Zorbax Eclipse XDB-CN 150×4,6 мм, 5 мкм 50°C	6,55	8,61	11,76	3,68	6,10

*средняя величина пяти определений для каждого условия хроматографирования

ВРЕМЕНА УДЕРЖИВАНИЯ И РАЗРЕШЕНИЕ МЕЖДУ ПИКАМИ ГОМОЛОГОВ БЕНЗАЛКОНИЯ ПРИ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИИ НА ФЕНИЛЬНЫХ КОЛОНКАХ*

Наименование колонки; температура анализа	Время удерживания, мин			Разрешение между пиками гомологов C12 и C14	Разрешение между пиками гомологов C14 и C16
	гомолога C12	гомолога C14	гомолога C16		
Zorbax SB-Phenyl 150×4,6 мм, 3,5 мкм 20°C	15,55	25,79	46,09	4,33	9,83
Zorbax SB-Phenyl 150×4,6 мм, 3,5 мкм 50°C	10,38	16,65	29,04	4,58	9,88
Ace 3 Phenyl 150×3,0 мм, 3 мкм 20°C	6,70	9,91	15,76	4,38	10,03
Ace 3 Phenyl 150×3,0 мм, 3 мкм 50°C	5,14	7,29	10,97	6,77	10,46

*средняя величина пяти определений для каждого условия хроматографирования

ных групп сорбентов и системами сопряженных двойных связей или нитрогрупп анализируемых соединений [8–10]. Молекулы гомологов бензалкония хлорида содержат фенильные группировки, это позволяет предположить, что и колонки с фенильными сорбентами также могут быть применены для анализа данного антисептика. В таблице 2 приведены результаты хроматографирования бензалкония хлорида на этих колонках. Так же, как для нитрильных колонок, увеличение температуры улучшает хроматографические параметры разделения для гомологов бензалкония хлорида на фенильных колонках. Аналогично колонке *Zorbax SB-CN*, на колонке *Zorbax SB-Phenyl* наблюдаются большие времена удерживания гомологов бензалкония хлорида, что, вероятно, вызвано

особенностями эндкепирования поверхности этих сорбентов (табл. 1 и 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышение температуры хроматографирования до 45–50 °С позволяет сократить время анализа и повысить чувствительность определения бензалкония хлорида в глазных каплях. Наряду с нитрильными колонками, хроматографические колонки с фенильными сорбентами также могут быть использованы для разделения гомологов бензалкония хлорида. При количественном определении бензалкония хлорида длина хроматографической колонки может быть уменьшена до 150 мм, что дополнительно сокращает время анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский МД. Лекарственные средства. 16-е изд. М.: Новая волна; 2010.
2. The United States Pharmacopoeia 37. National Formulary 32. Monograph: Benzalkonium Chloride.
3. The United States Pharmacopoeia 37. National Formulary 32. Monograph: Benzalkonium Chloride Solution.
4. European Pharmacopoeia. Edition 8.2: Monograph: Benzalkonium Chloride.
5. European Pharmacopoeia. Edition 8.2: Monograph: Benzalkonium Chloride Solution.
6. Ноздрин КВ, Великородный АА, Осипов АС, Родионова ГМ. Оптимизация условий хроматографирования бутилгидроксианола и бутилгидрокситолуола при совместном присутствии. Фармация 2007; 5: 7–10.
7. Нечаева ЕБ, Осипов АС, Демина НБ. Анализ лекарственных препаратов из группы органических нитратов на хроматографических колонках с различными типами сорбентов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2008; 4: 47–50.
8. Осипов АС, Орлов ЕН. Применение нитроалканов для анализа примесей в лекарственных препаратах нитратов изосорбида методом ВЭЖХ. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2010; 11: 28–32.

ОБ АВТОРАХ:

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

Осипов Алексей Сергеевич. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2, канд. биол. наук.

Нечаева Екатерина Борисовна. Заместитель начальника Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.

Ковалёва Елена Леонардовна. Заместитель директора Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р фарм. наук.

Победин Олег Александрович. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2, канд. фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Осипов Алексей Сергеевич; Osipov@expmtd.ru

Статья поступила 07.04.2014 г.

REFERENCES

1. Mashkovsky MD. The medicines. 16th ed. Moscow: Novaya volna; 2010 (in Russian).
2. The United States Pharmacopoeia 37. National Formulary 32. Monograph: Benzalkonium Chloride.
3. The United States Pharmacopoeia 37. National Formulary 32. Monograph: Benzalkonium Chloride Solution.
4. European Pharmacopoeia. Edition 8.2: Monograph: Benzalkonium Chloride.
5. European Pharmacopoeia. Edition 8.2: Monograph: Benzalkonium Chloride Solution.
6. Nozdryn KV, Velikorodny AA, Osipov AS, Rodionova GM. Optimization of chromatographic conditions of butylhydroxyanisole and butylhydroxytoluene in the co-presence. Farmatsiya 2007; 5: 7–10 (in Russian).
7. Nechaeva EB, Osipov AS, Demina NB. Analysis of medicines from the group of organic nitrates on chromatographic columns with different types of sorbent. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy himii 2008; 4: 47–50 (in Russian).
8. Osipov AS, Orlov EN. Application of nitroalkanes for analysis of impurities in pharmaceuticals isosorbide nitrates by HPLC method. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy himii 2010; 11: 28–32 (in Russian).

AUTHORS:

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

Osipov AS. Chief expert of laboratory of chemical and pharmaceutical products № 2. Candidate of Biological Sciences.

Nechaeva EB. Deputy chief of Test center of quality expertise of medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Kovaleva EL. Deputy Director of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Pobedin OA. Leading expert of laboratory of chemical and pharmaceutical products № 2. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Принята к печати 12.05.2014 г.

Анализ критериев оценки качества дозированных аэрозольных ингаляторов

О.А. Победин, Л.А. Трухачева, Е.Б. Нечаева

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: В действующих на территории России основных нормативных документах, касающихся фармацевтической отрасли, представлены весьма скудные сведения по проведению контроля качества дозированных аэрозольных ингаляторов (ДАИ), несмотря на то, что они являются широко известной лекарственной формой. Основные испытания и требования к качеству аэрозольных лекарственных форм, принятые в нашей стране, приведены в Государственной Фармакопее СССР XI в общей статье «Аэрозоли». Однако с момента выпуска данного издания фармакопее существенно изменились и уровень требований к качеству и аналитическое оборудование, позволяющее оценивать те или иные характеристики аэрозолей. Авторами статьи был проведен анализ имеющихся источников и показаны существенные различия в критериях и требованиях к качеству дозированных аэрозольных ингаляторов в этих документах. Проанализированы специфические показатели, используемые для оценки качества ДАИ, критерии, которые приводятся в спецификациях на ингаляционные лекарственные средства, и основные затруднения, которые встречаются при проведении оценки данных показателей. На основании изложенных сведений отмечено, что имеющиеся нормативные документы на ингаляционные лекарственные формы нуждаются в обновлении и доработке. Также, в связи с преобладанием зарубежных ингаляционных препаратов на российском фармацевтическом рынке, важную роль играет гармонизация регламентирующих документов с ведущими зарубежными нормативными документами с целью предъявления единых требований ко всем аэрозольным лекарственным формам.

Ключевые слова: дозированные ингаляционные препараты; аэрозоль; фармакопея.

QUALITY ASSESSMENT CRITERIA FOR INHALATION DOSAGE FORMS

O.A. Pobedin, L.A. Trukhacheva, E.B. Nechayeva

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: Basic current regulations in the Russian Federation covering the sphere of pharmaceutical industry contain relatively poor information on the quality control of metered dose inhalers, despite the fact that the mentioned dosage form is widely known. Basic test procedures and quality requirements for aerosol formulations effective in our country are given in the State Pharmacopoeia of the USSR XI in General Monograph «Aerosols». However, since the mentioned edition of the Pharmacopoeia the level of quality requirements and analytical equipment allowing to evaluate various characteristics of aerosols have changed significantly. The authors analyzed the available sources and showed significant differences in the criteria and requirements for the quality of metered dose inhalers in these documents. The specific indicators of metered dose inhalers quality control assessment as well as the criteria listed in the specifications for inhalation dosage forms were analyzed as well as the main difficulties when evaluating these indicators. On the basis of the information provided it was outlined that the existing regulations related to inhalation dosage forms have to be updated and modified. Furthermore, due to prevalence of foreign inhalers in the Russian pharmaceutical market, the harmonization of normative documents with leading foreign regulations plays an important role for the purpose of setting standard requirements for all aerosol dosage forms.

Key words: inhalation dosage forms; spray; Pharmacopoeia.

Хронические неспецифические заболевания органов дыхания являются одними из наиболее распространенных хронических патологий среди населения всех возрастов. Такими заболеваниями как бронхиальная астма (БА) и хронический обструктивный бронхит (ХОБЛ) страдает около 5% всего населения Земли.

Для лечения БА и ХОБЛ используется широкий спектр лекарственных препаратов представляющих собой различные лекарственные формы. При этом, зачастую, наиболее предпочтительным является использование ингаляционных лекарственных препаратов. В основном это связано с характерным для таких препаратов быстрым наступлением терапевтического эффекта, значительно более низкими дозировками по сравнению с пероральными лекарствен-

ными средствами и, следовательно, с сокращением системных побочных эффектов.

На сегодняшний день наибольшее распространение получили три вида систем доставки ингаляционных препаратов – это дозированные аэрозольные ингаляторы (ДАИ), дозированные порошковые ингаляторы (ДПИ) и небулайзеры. Из них до сих пор наиболее часто назначаемыми остаются дозированные аэрозольные ингаляторы.

В связи со спецификой лекарственной формы, актуальной проблемой на сегодняшний день является вопрос стандартизации и контроля качества ДАИ, в том числе разработка унифицированных подходов к оценке качества данной лекарственной формы, а также гармонизация с основными требованиями зарубежных нормативных документов.

В большинстве случаев под термином ДАИ подразумевают находящийся под давлением суспензионный раствор, в котором тонкоизмельченные частицы действующего вещества (ДВ) или смеси действующих веществ суспендированы в жидком пропелленте (например гидрофторалкане) (рис.1). Для улучшения дисперсности аэрозоля иногда в его состав также добавляют вспомогательные компоненты, такие как сурфактанты.

Кроме того, в некоторых источниках к ДАИ также относят дозированные ингаляторы не находящиеся под давлением, т.е. портативные ингаляторы, содержащие водный раствор, суспензию или эмульсию действующего вещества и предназначенные для выпуска одной дозы препарата за одну активацию дозирующего клапана аэрозоля [1].



Рис. 1. Схема ДАИ. Контейнер с аэрозолем оснащен приспособлением для доставки, — обычно дозирующим клапаном, связанным с мундштуком. Нажатие на активатор баллона высвобождает активное вещество в виде облака аэрозоля, которое затем вдыхается в легкие.

Для дозированных аэрозольных ингаляторов, выпускаемых зарубежными производителями характерны следующие этапы контроля качества данной лекарственной формы:

- испытания отдельных элементов или показателей ДАИ (контейнера, дозирующего и активационного устройств, скорости утечки, средней массы выпущенной дозы, оценка качества действующего и вспомогательных веществ, входящих в состав лекарственного препарата) перед запуском производственного цикла;

- испытания в процессе производства (оценка влияния атмосферных условий, концентрации действующего вещества в суспензии, свойств суспензионного раствора, наполняемости контейнера с препаратом, оценка утечек и безопасности применения данной лекарственной формы, контролирование скорости утечки и функциональности дозирующего клапана);

- рутинные испытания конечного продукта (определение подлинности, количественного содержа-

ния, микробиологические испытания, оценка формы струи распыления, содержания воды, содержания посторонних частиц)

- испытания, проводимые согласно спецификации, приведенной в нормативном документе на ДАИ, который представляется вместе с досье на лекарственное средство при его регистрации. В перечень данных испытаний входят:

- описание;
- количественное определение;
- содержание примесных соединений;
- содержание влаги (если применимо);
- микробиологическая чистота;
- стерильность;
- содержание консервантов (если применимо);
- средняя масса выпускаемой дозы;
- однородность выпускаемой дозы по массе;
- однородность выпускаемой дозы по содержанию (однородность доставляемой дозы);
- анализ аэродинамического распределения частиц (в том числе респирабельной фракции).

Основные испытания и требования к качеству аэрозольных лекарственных форм, принятые в нашей стране приведены в Государственной Фармакопее СССР XI в общей статье «Аэрозоли» [2]. Однако с момента выпуска данного издания фармакопеи существенно изменились уровень требований к качеству и аналитическое оборудование, позволяющее оценивать те или иные характеристики аэрозолей.

Зарубежные нормативные документы, регламентирующие требования к качеству аэрозольных лекарственных форм, представлены в Европейской фармакопее и Британской фармакопее (разделы: 0523 *Pressurised pharmaceutical preparations*, 0671 *Preparations for inhalation*, 0927 *Liquids for cutaneous application*, 1166 *Powders, Topical*, 0676 *Nasal preparations*, 0652 *Ear preparations*), а также Фармакопее США (разделы: <1151> *Pharmaceutical dosage forms — Aerosols*, <601> *Aerosols, Metered-dose inhalers, and dry powder inhalers*) [3–6].

В таблице 1 приведены показатели, использующиеся для оценки качества ДАИ согласно требованиям ГФ XI, Европейской фармакопеи и Фармакопеи США.

Нами было изучено более 40 нормативных документов и фармакопейных статей предприятия на ДАИ зарубежного и отечественного производства, соответственно [9]. Были проанализированы методики и критерии оценки качества ДАИ, а также основные затруднения, которые встречались при проведении соответствующих испытаний.

Несмотря на значительное количество критериев оценки, указанных в таблице 1, в большинстве случаев производители в нормативных документах (досье) на свои препараты ограничивались лишь проведением тестов на показатели, наиболее распространенные и требующие минимального использования специфического оборудования.

**ОСНОВНЫЕ, СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА
ДОЗИРОВАННЫХ АЭРОЗОЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ [7, 8]**

Показатель	Нормативный документ		
	EuPh	USP	ГФ XI
Характеристики аэрозоля:			
Аэродинамическое распределение частиц по размеру	+	+	-
Респирабельная фракция или масса частиц диаметром менее 5 мкм <i>В основном данный показатель нормируется в спецификациях на аэрозольные препараты в виде минимального и максимального значений. Согласно требованиям USP средний размер частиц аэрозоля не должен превышать 5 мкм.</i>	-	+	-
Доза мелкодисперсных частиц	+	+	-
Размер частиц ингаляционных аэрозолей <i>Согласно требованиям определяют размер крупных частиц, агломератов и посторонних механических примесей методом микроскопии</i>	+	+	+
Количество доз в баллоне/Число выпущенных доз на ингалятор	+	+	-
Скорость выпуска дозы, г/сек Тест проводится только для аэрозолей, оборудованных клапаном непрерывного действия	-	+	-
Средняя масса выпускаемой дозы, мг	+	+	+
Содержание действующих веществ в баллоне	+	-	-
Однородность доставляемой дозы	+	+	-
Характеристики устройства дозирования:			
Проверка упаковки на герметичность	+	+	+
Давление	+	+	+
Испытание на утечку	-	+	-
Испытания для пропеллентов:			
Подлинность ²⁾	+	+	-
Содержание посторонних примесей, (метод ГЖХ) ²⁾	+	+	-
Содержание воды ^{1), 2)}	+	+	-
Остаток нелетучих соединений ^{1), 2)}	+	+	-
Галогенсодержащие примеси ^{1), 2)}	+	+	-

¹⁾ В большинстве случаев нормирование этого показателя не закладывается в критерии качества, указанные в спецификации монографии производителя на ингаляционный препарат. Считается, что данный показатель является технологическим и не требует анализа на стадии рутинного контроля.

²⁾ В большинстве случаев нормирование этого показателя не приводится в спецификации монографии производителя на ингаляционные препараты, поскольку показатель не перечислен в основных ведущих фармакопеях в списке оценочных критериев для аэрозолей.

Во всех изученных документах нормировались такие показатели как «Описание», «Подлинность», «Микробиологическая чистота», «Определение количественного содержания» или «Количественное определение», «Упаковка», «Маркировка». Значительно реже встречались такие показатели как «Однородность доставляемой дозы», «Количество доз в баллоне» и «Масса доставляемой дозы», а также показатели, характеризующие аэродинамические свойства ДАИ – «Аэродинамическое распределение частиц по размеру» и «Респирабельная фракция». Кроме того, лишь в 10% изученных документов проводились испытания дозирующего устройства.

В таблице 2 приведены основные показатели, встречающиеся в изученных частных статьях, а также недостатки в соответствующих методиках и определениях.

Как следует из таблицы 2, при проведении анализа по основным показателям таким как «Подлинность», «Количественное определение», «Посторонние примеси» чаще всего затруднения возникали из-за особенностей упаковки ингаляционных препаратов и отсутствия методики или корректных указаний по извлечению содержимого из баллона ДАИ. Если при анализе таблеток или мазей достаточно просто растворить образцы в подходящем

Таблица 2

ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ВВОДИМЫЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ДАИ И АНАЛИЗ НЕТОЧНОСТЕЙ И НЕКОРРЕКТНЫХ УКАЗАНИЙ В МЕТОДИКАХ АНАЛИЗА ПО ДАННЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Показатель	Метод анализа, используемое оборудование	Основные недостатки в методиках, обнаруженные при анализе ДАИ
Внешний вид	Визуальный	<ul style="list-style-type: none"> – В спецификациях предлагалось оценить внешний вид баллона и устройства для распыления аэрозоля, в то время как должен оцениваться внешний вид как самого баллона, так его содержимого. – Отсутствие методики или некорректные указания по извлечению содержимого из баллона ДАИ
Подлинность	Качественные реакции, физико-химические методы анализа (ИК, ВЭЖХ, или СФМ)	<ul style="list-style-type: none"> – Отсутствие методики или некорректные указания по извлечению содержимого из баллона ДАИ
Однородность доставляемой дозы	Специализированное устройство для проведения пробоподготовки (напр. DUSA (Евр.Фарм.), физико-химические методы анализа	<ul style="list-style-type: none"> – Использование нефармакопейного оборудования для проведения пробоотбора (например ватные диски для улавливания доз и делительная воронка для впрыскивания) – Отсутствие валидации на используемые методики – Отсутствие единообразия и обоснованности в подходе к отбору проб (в одних случаях отбирают любые 10 доз из ингалятора, в других используют по 1-ой дозе для каждого из 10 ингаляторов или дозы в начале, в середине и в конце использования ингалятора и т.д.)
Количественное определение	физико-химические методы анализа (ВЭЖХ, или СФМ)	<ul style="list-style-type: none"> – Отсутствие обоснованного подхода к проведению пробоподготовки и извлечению действующих веществ, а также валидации соответствующих методик. – Отсутствие единообразия в подходах к оценке количественного содержания действующих веществ в лекарственной форме. Так в одних случаях в методиках спецификаций по данному показателю нормировалось содержание ДВ в баллоне, в других содержание ДВ в доставляемой дозе, в третьих расчетное содержание действующего вещества в дозе. – Отсутствие методики или некорректные указания по извлечению содержимого из баллона ДАИ
Посторонние примеси ¹⁾	физико-химические методы анализа (ВЭЖХ, или СФМ)	<ul style="list-style-type: none"> – Отсутствие методики или некорректные указания по извлечению содержимого из баллона ДАИ
Респирабельная фракция.	Специализированное фармакопейное оборудование для проведения пробоподготовки импакционным методом (например, каскадный импактор Андерсена, мультистадийный жидкостной импинжер и т.д. (Евр. Фарм.), физико-химические методы анализа (ВЭЖХ, или СФМ)	<ul style="list-style-type: none"> – Существенные отличия в терминологии и определениях, затрудняющие понимание методики и проведение анализа (так, в отдельных документах мундштук ингалятора указывается как насадка на ингалятор, или переходной колпачок, или приспособление для вывода. То же касается и составных частей импактора – индукционный порт может называться горловиной, жерлом, вводным переходником). – Необоснованный выбор импакционного устройства – не учитывается разрешающая способность импактора и валидированная рабочая скорость потока. – Некорректный перевод в методиках анализа препаратов зарубежных производителей
Аэродинамическое распределение частиц по размеру	Специализированное фармакопейное оборудование для проведения пробоподготовки импакционным методом (например, каскадный импактор Андерсена, мультистадийный жидкостной импинжер и т.д. (Евр. Фарм.), физико-химические методы анализа (ВЭЖХ, или СФМ)	<ul style="list-style-type: none"> – Необоснованный выбор импакционного устройства – не учитывается разрешающая способность импактора и валидированная рабочая скорость потока. – Некорректный перевод в методиках анализа препаратов зарубежных производителей

¹⁾ Согласно действующему ОСТ 91500.05.001 [10] – показатель «Посторонние примеси» не является обязательным при оценке качества ингаляционных препаратов. В фармакопеях *USP*, *EP* также требований по обязательному нормированию примесных соединений нет. По всей вероятности это связано с крайне незначительной концентрацией действующих веществ в выпускаемой дозе. Тем не менее, в документации на зарубежные препараты такой показатель и соответствующие методики приводятся.

растворителе, провести дальнейшую пробоподготовку и исследовать пробу с помощью соответствующего метода анализа, то в случае аэрозолей, таких как ДАИ, процесс осложняется необходимостью извлечь содержимое, находящееся под давлением. В связи с этим при проведении данного испытания необходимо приводить подробную методику извлечения препарата из баллона. В 10-ти из 50-ти изученных НД точной методики с указанием необ-

ходимого оборудования не было. Предлагалось просто вскрыть баллоны.

Особое внимание следует обратить на необходимость унифицированного подхода к анализу ДАИ по показателям, специфичным для аэрозольных лекарственных форм. «Аэродинамическое распределение частиц по размеру», «Респирабельная фракция» и «Однородность доставляемой дозы» являются показателями, оценивающими качество всей лекар-

ственной формы в целом, включая распылительное устройство. Считается, что перечисленные показатели опосредованно могут являться характеристикой распределения действующих веществ аэрозоля в бронхо-легочной системе человека [11].

В работах [11, 12] профиль аэродинамического распределения частиц использовали в качестве одного из наиболее показательных оценочных критериев при проведении исследований на фармацевтическую эквивалентность аэрозольных лекарственных форм.

В то же время в связи с отсутствием российских стандартов и требований к анализу ингаляционных форм по аэродинамическим показателям Российские производители зачастую не нормируют их в спецификациях на свои препараты. Зарубежные производители, регистрирующие свои препараты на российском рынке, в основном придерживаются требований USP или EurPh, либо, также пользуясь отсутствием единого подхода к анализу ингаляционных лекарственных форм в российских регламентирующих документах, нормируют критерии оценки по своему усмотрению, при этом, учитывая далеко не все критические показатели.

На основании накопленного опыта работы, с учетом имеющихся данных по анализу ингаляционных лекарственных форм и согласно сведениям нормативных документов и частных статей были предложены наиболее значимые, с нашей точки зрения, показатели качества таких препаратов, которые должны нормироваться в НД на дозированные аэрозольные ингаляторы:

- внешний вид/описание (описание внешнего вида ингалятора и его содержимого). При этом должна быть предусмотрена методика извлечения раствора из баллона ингалятора;
- подлинность;
- содержание воды (если применимо);

- микробиологическая чистота;
- определение количественного содержания действующих веществ в баллоне;
- посторонние примеси;
- количественное содержание действующих веществ в дозе (выпускаемая доза);
- респираторная фракция*;
- однородность выпускаемых доз;
- проверка упаковки на герметичность;
- число доз;

*В том случае, если полученных значений по «Респираторной фракции» недостаточно для полной характеристики аэродинамических свойств ингаляционного препарата, в качестве дополнительных критериев могут вводиться такие показатели, как «Масс-медианный аэродинамический диаметр» (ММАД), «Геометрическое стандартное отклонение» (ГСО) или полный профиль аэродинамического распределения мелкодисперсных частиц терапевтической дозы.

Таким образом, на основании изложенных сведений, следует отметить, что имеющиеся нормативные документы на ДАИ и на ингаляционные формы в целом нуждаются в обновлении и доработке. Также, в связи с преобладанием зарубежных ингаляционных препаратов на российском фармацевтическом рынке, важно, чтобы новые регламентирующие документы были гармонизированы с ведущими зарубежными нормативными документами и предъявляли единые требования ко всем дозированным аэрозольным ингаляторам.

Проведенный анализ основных затруднений, которые встречаются при испытаниях по показателям качества ДАИ, может использоваться при разработке методических руководств и рекомендаций по представлению методик анализа качества данных лекарственных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lynn Van Campen, Geraldine Venthoey. Encyclopedia of pharmaceutical technology. 3rd ed. V. 1. Informa Healthcare USA Inc.
2. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1, 2. М.: Медицина; 1998.
3. United States Federal Drug Administration (FDA). Reviewer guidance for nebulizers, metered dose inhalers, spacers and actuators. Rockville, MD: United States Federal Drug Administration; 1993.
4. The International Pharmacopoeia. 4th edition. 2013. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>.
5. European Pharmacopoeia. 7th edition. Supplement 7.6. Strasbourg: EDQM; 2013.
6. United States Pharmacopoeia. 36th edition. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf/login>.
7. Терешкина ОИ, Павлов ВМ, Рудакова ИП, Самылина ИА, Багирова ВЛ. Разработка проекта общей фармакопейной статьи «Аэрозоли». Фармация 2005; 5: 3–7.
8. Прокопов ИА, Виноградова ИА, Дигтяр АВ. Вопросы стандартизации ингаляционных лекарственных форм. Фармация 2010; 5: 21–25.
9. Электронная база документооборота ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.
10. ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.
11. Trukhacheva LA, Gorpichenko NV, Dementyev SP. Comparative analysis of the in vitro equivalence of the metered aerosol inhalers Seretide and

REFERENCES

1. Lynn Van Campen, Geraldine Venthoey. Encyclopedia of pharmaceutical technology. 3rd ed. V. 1. Informa Healthcare USA Inc.
2. The State Pharmacopoeia of USSR. 11th ed. V. 1, 2. Moscow: Meditsina; 1998 (in Russian).
3. United States Federal Drug Administration (FDA). Reviewer guidance for nebulizers, metered dose inhalers, spacers and actuators. Rockville, MD: United States Federal Drug Administration; 1993.
4. The International Pharmacopoeia. 4th edition. 2013. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>.
5. European Pharmacopoeia. 7th edition. Supplement 7.6. Strasbourg: EDQM; 2013.
6. United States Pharmacopoeia. 36th edition. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf/login>.
7. Tereshkina OI, Pavlov VM, Rudakova IP, Samylyina IA, Bagirova VL. Development of the project general pharmacopoeia article «Aerosols». Farmatsiya 2005; 5: 3–7 (in Russian).
8. Prokopov IA, Vinogradova IA, Digtyar AV. Issues of standardization of inhaled dosage forms. Farmatsiya 2010; 5: 21–25 (in Russian).
9. Electronic document database of Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» (in Russian).
10. State Standard 91500.05.001-00. Quality standards of medicines. Fundamentals (in Russian).
11. Trukhacheva LA, Gorpichenko NV, Dementyev SP. Comparative analysis of the in vitro equivalence of the metered aerosol inhalers Seretide and

- Tevacomb conducted by the new generation impactor Next. *Current Pediatrics* 2012; 11(5): 18.
12. Weda M, Geuns E, Vermeer R, Buiten N. et al. Equivalence testing and equivalence limits of metered dose inhalers and dry powder inhalers measured by in vitro impaction. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000; 49: 295–302.

ОБ АВТОРАХ:

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

Победин Олег Александрович. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2, канд. фарм. наук.

Трухачева Людмила Андреевна. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2, канд. фарм. наук.

Нечаева Екатерина Борисовна. Заместитель начальника Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Трухачева Людмила Андреевна; truhacheva@exrmed.ru

Статья поступила 05.04.2014 г.

- Tevacomb conducted by the new generation impactor Next. *Current Pediatrics* 2012; 11(5): 18.
12. Weda M, Geuns E, Vermeer R, Buiten N. et al. Equivalence testing and equivalence limits of metered dose inhalers and dry powder inhalers measured by in vitro impaction. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000; 49: 295–302.

AUTHORS:

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

Pobedin OA. Leading expert of laboratory of chemical and pharmaceutical products № 2. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Truhacheva LA. Leading expert of laboratory of chemical and pharmaceutical products № 2. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Nechaeva EB. Deputy Head of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Принята к печати 14.05.2014 г.

Конференция международного общества по фармакоэпидемиологии 2014 (Роттердам, Нидерланды)

Развитие современных телекоммуникационных технологий значительно повысило возможности международного сотрудничества в области научных исследований, однако, поиск единомышленников и живое общение с ними остается по-прежнему крайне актуальным. Для этого создаются международные профессиональные организации, одной из которых является Международное общество по фармакоэпидемиологии (МОФ).

МОФ было создано Stanley A. Edlavitch, David E. Lilienfeld, and Hugh A. Tilson в 1989 году во время Пятой международной конференции (the *Fifth International Conference on Pharmacoepidemiology (ICPE)*) в Миннеаполисе как некоммерческая международная профессиональная организация, учрежденная с целью повышения уровня здоровья населения путем создания форума для открытого обмена научной информацией, разработки предложений по изменению нормативно-правовой базы, обучения, а также защиты прав в области фармакоэпидемиологии, включая фармаконадзор, анализ обращения лекарственных средств (ЛС), сравнение эффективности и безопасности фармакотерапии, управление лекарственными рисками.

Штаб-квартира организации располагается в городе Бетесда, штат Мэриленд. На сегодняшний день МОФ объединяет представителей исследовательских организаций, научных институтов, фармацевтической индустрии и регуляторных органов, таких как *U.S. Food and Drug Administration, National Institutes of Health, EMEA, BfArM*, Институт Роберта Коха и др. из более 53 стран мира. Обществом издается официальный журнал «*Pharmacoepidemiology and Drug Safety*», имеющий высокий индекс цитирования в *MEDLINE*.

Два раза в год сотрудниками МОФ проводятся международные конференции. С 6 по 8 апреля 2014 года в городе Роттердам (Нидерланды) проходила международная конференция по фармакоэпидемиологии. В рамках данного мероприятия, посвященного вопросам фармакоэпидемиологии у детей и беременных, были затронуты следующие вопросы:

- оценка влияния применения ЛС с нарушением предписания инструкции (*off-label*) на профиль эффективности и безопасности фармакотерапии у детей;
- медицинские ошибки в педиатрии;
- эффективность и безопасность применения лекарственных препаратов во время беременности и лактации;
- эффективность использования электронной системы выписывания рецептов.

Работа конференции была организована таким образом, что времени для дискуссии было достаточно. Наибольший интерес вызвала тема возможности тератогенного действия противосудорожных средств. Авторы уделили основное внимание возможности назначения ламотриджина и вальпроевой кислоты во время беременности. Были представлены данные мета-анализа об отсутствии негативного влияния ламотриджина на плод (что не является общепризнанным), но был подтвержден риск тератогенного действия вальпроевой кислоты. Возникшая дискуссия касалась трансформации взглядов медицинского сообщества в отношении казавшихся доказанными фактов (например, «фениитоиновый синдром»).

Повышение безопасности систем электронного выписывания рецептов представляется весьма актуальной и интересной для дальнейших исследований темой, так как использование электронных систем позволяет значительно снизить количество медицинских ошибок и повысить эффективность фармакотерапии путем улучшения качества прописи и возможности более точно осуществлять подбор доз, назначаемых пациенту.

В заключении необходимо отметить, что международные совещания, проводимые МОФ, являются важным и уникальным мероприятием, предоставляющим возможность обмена опытом и коммуникаций с ведущими зарубежными коллегами, что, несомненно, оказывает положительное влияние на эффективность и безопасность пациентов.

А.П. Переверзев, Р.Н. Аляутдин

Особенности определения микробиологической чистоты антимикробных лекарственных средств

С.И. Кулешова, Г.Ю. Романюк, С.А. Процак, С.А. Лисунова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Определение антимикробного действия антибиотиков и фторхинолонов в условиях проведения испытания на микробиологическую чистоту в отношении рекомендованных тест-микроорганизмов имеет особенности, обусловленные необходимостью устранить антимикробную активность исследуемого препарата. Приведены результаты экспериментальных исследований по оценке антибактериального действия некоторых антибиотиков и фторхинолонов в отношении ряда бактерий. Устранение антибактериального действия ципрофлоксацина было проведено двумя способами: увеличением разведения и разведением с применением неспецифического инактиватора. С этой целью в испытуемый образец ципрофлоксацина вносили бактерии *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 из расчета около $2 \cdot 10^3$ КОЕ на 1 г препарата. Антимикробное действие ципрофлоксацина возможно устранить при разведении 10^{-3} в смеси буферного раствора и нейтрализующей жидкости 1:1 только в отношении *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, что дает возможность получать достоверные результаты в случае контаминации данным микроорганизмом препаратов ципрофлоксацина. Рассмотрены методические особенности при решении вопроса о выборе способа устранения антимикробного действия в условиях проведения теста «Микробиологическая чистота» антимикробных препаратов в зависимости от спектра их действия и химического строения.

Ключевые слова: микробиологическая чистота; антибиотики; фторхинолоны; антимикробное действие; ципрофлоксацин.

SPECIFICITY OF DETERMINING MICROBIOLOGICAL PURITY OF ANTIMICROBIAL DRUGS

S.I. Kuleshova, G.Yu. Romanyuk, S.A. Protsak, S.A. Lisunova

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: There are certain specificities of determining antimicrobial activity of antibiotics and fluoroquinolones when performing microbiological purity test in regard to the recommended test organisms, due to the need of eliminating antimicrobial activity of a test drug. The present article describes the results of experimental assessment studies related to antibacterial activity of certain antibiotics and fluoroquinolones in regard to certain bacteria. Elimination of ciprofloxacin antibacterial activity was conducted in two ways: dilution increase and dilution with nonspecific inactivator. For this purpose *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 bacteria were added to ciprofloxacin test sample in the amount of approximately $2 \cdot 10^3$ CFU per 1 g of the drug. It is possible to eliminate ciprofloxacin antimicrobial activity by diluting it in a mixture of 10^{-3} buffer solution and neutralizing liquid in the ratio 1:1, only in regard to *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, which makes it possible to obtain reliable results in the case of contamination with the mentioned microorganism of ciprofloxacin preparations. It also describes methodical specificity when solving the issue of choosing a way to eliminate antimicrobial activity in «Microbiological purity» test for antimicrobial agents depending on their spectrum of activity and chemical structure.

Key words: microbiological purity; antibiotics; fluoroquinolones; antimicrobial activity; ciprofloxacin.

Испытание на микробиологическую чистоту обязательно для оценки качества пероральных лекарственных форм, в том числе антимикробных препаратов (антибиотиков и фторхинолонов). Перед проведением анализа рекомендовано [1, 2] определение антимикробного действия лекарственного средства в условиях проведения испытания в отношении тест-микроорганизмов, указанных в общих фармакопейных статьях, на микробиологическую чистоту. Если препарат или субстанция обладают антимикробным действием, его необходимо устранить во избежание ошибок при оценке результатов.

В ГФ XII, часть 1 (ОФС 42-0067-07) и Ph.Eur. 8th Edition (8.0) (2.6.1) приведены рекомендованные способы устранения антимикробного действия лекарственных средств. Это – использование нейтрализующих специфических или неспецифических

(универсальных) агентов, мембранная фильтрация, увеличение разведения за счет большего объема растворителя или питательной среды и, при необходимости, комбинация нескольких перечисленных способов. При этом в ГФ XII указано, что если все вышеперечисленные методы неэффективны в отношении одного из тест-микроорганизмов, которые были использованы при определении антимикробного действия, этот вид испытания не проводят. Такая рекомендация в большей степени относится к определению отдельных видов патогенных микроорганизмов, предусмотренных требованиями по показателю «Микробиологическая чистота». Для количественного определения аэробных бактерий и грибов Европейская фармакопея рекомендует: если подходящий метод или комбинация методов не снимают ингибирующее действие препарата в отношении

определенного тест-микроорганизма, можно предположить, препарат обладает антимикробным действием в отношении данного микроорганизма и вероятность контаминации им незначительна. Однако, возможно, что препарат ингибирует только тест-микроорганизмы, участвующие в испытании при определении антимикробного действия, но при этом не проявляет антимикробного действия в отношении других микроорганизмов, которые не используются как тест-микроорганизмы. В этом случае, тест выполняется при максимальном разведении испытуемого с учетом микробного роста и допустимых критериев.

Антимикробные препараты, к которым относятся антибиотики и фторхинолоны, угнетают рост и размножение патогенных микроорганизмов, проявляют противомикробное действие в незначительных концентрациях до 0,1 мкг/мг и менее. Поэтому инактивация таких лекарственных средств при испытании на микробиологическую чистоту представляется сложной задачей, особенно в случае отсутствия специфического инактиватора. В то-же время, необходимо учитывать, что антимикробные лекарственные средства часто характеризуются избирательным действием в отношении определенных видов микроорганизмов или микробов какой-либо одной группы.

В этой связи была проведена экспериментальная работа с целью:

1) определить антимикробное действие ряда антибиотиков и фторхинолонов в условиях проведения испытания на микробиологическую чистоту, т.е в отношении рекомендованных ГФ XII тест-микроорганизмов, и оценить полученные результаты с учетом спектра биологического действия каждого вещества и его химического строения;

2) рассмотреть возможность устранения антимикробного действия фторхинолонов способом увеличения разведения испытуемого и комбинацией двух методов: разведение с использованием неспецифического инактиватора.

Для испытания были выбраны фторхинолоны (офлоксацин, ципрофлоксацин, ломефлоксацин) и антибиотики, относящиеся к разным группам по химическому строению и по спектру антимикробного действия. Противобактериальные антибиотики узкого спектра действия, активные в отношении грамположительных микроорганизмов – олеандомицин (макролиды), противобактериальные широкого спектра, проявляющие биологическую активность в отношении положительных и ряда грамотрицательных бактерий – амоксициллин, ампициллин+оксациллин (пенициллины), доксициклин (тетрациклины), кларитромицин (макролиды), азитромицин (азалиды) и противогрибковый – нистатин (полиеновый антибиотик). В скобках приведены группы, к которым относятся антибиотики по химическому строению.

При определении антимикробного действия вышеуказанных противомикробных лекарственных средств использовали питательные среды, приготовленные из

сухих сред производства фирмы «Himedia». Для роста бактериальной микрофлоры применяли соево-казеиновую среду, для грибной – среду Сабуро. Подготовку образцов к анализу и тест-микроорганизмов проводили в полном соответствии с ГФ XII, часть 1. Были выбраны следующие тест-микроорганизмы: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231. Определение проводили чашечным агаровым методом. Испытуемые (с антимикробным лекарственным средством) и контрольные (без испытуемого) чашки Петри в 2-х повторностях для каждого из вышеперечисленных микроорганизмов заражали в количестве не более 100 КОЕ. Количество микроорганизмов устанавливали по стандарту мутности, аттестованному МИБП ФГБУ «НЦЭСМП», с последующим прямым посевом в агар. Посевы на соево-казеиновой среде инкубировали при температуре $(32,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ и посевы на среде Сабуро при температуре $(22,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ в течение 5 суток. Результаты интерпретировали по ГФ XII следующим образом: если по сравнению с контролем на средах с препаратом наблюдается уменьшение количества колониеобразующих единиц (КОЕ) более 70% или отсутствие роста тест-микроорганизмов делают заключение о наличии антимикробного действия. Соответственно, если на чашках с испытуемым количество колоний более 70% от числа колоний, выросших на контрольных чашках, предполагаем, что в отношении данного тест-микроорганизма лекарственное средство не обладает антимикробным действием или оно устранено при пробоподготовке. Для бета-лактамовых антибиотиков в качестве специфического инактиватора использовали пенициллиназу производства ООО НПФ «БИОКАР», с активностью 10^6 ЕД. на флакон, количество пенициллиназы для каждого антибиотика подобрано экспериментально. Пенициллиназу вносили в только в соево-казеиновую среду.

Полученные результаты, представленные в таблице 1, закономерны и подтверждают данные литературы (3) по спектру действия каждого антибиотика. Антибиотик олеандомицин активен в отношении грамположительных тест-микроорганизмов и не проявил биологическое действие в отношении грамотрицательных бактерий и грибов. Так, на чашках Петри с олеандомицином количество колоний менее 70% выявили только с бактериальной грамположительной микрофлорой *Bacillus subtilis* (52%) и *Staphylococcus aureus* (КОЕ не обнаружены). Антибиотики широкого спектра действия, такие как азитромицин, кларитромицин, и все использованные в опыте фторхинолоны не проявили активности в отношении грибной микрофлоры и показали антибактериальное действие. Видимых колоний, участвовавших в опыте бактерий, на чашках Петри с фторхинолонами и антибиотиками с широким спектром антибактериальной активности не обнаружено. Антибиотики группы пенициллинов инактивируют

ся пенициллиназой в отношении использованных в анализе тест-штаммов бактерий в разведении 1×10^{-1} , при этом количество пенициллиназы на мл среды может отличаться на порядок, для устранения бактериальной активности амоксициллина было достаточно 100 ЕД/мл питательной среды, для ампициллина в смеси с оксациллином потребовалось 1000 ЕД/мл. Нистатин, угнетающий рост патогенных грибов, проявил антимикробное действие только в отношении *Aspergillus brasiliensis* и *Candida albicans*.

Очевидно, что наибольшую сложность при определении микробиологической чистоты антимикробных препаратов представляют антибиотики широкого спектра действия и фторхинолоны, для которых отсутствуют специфические инактиваторы. Учитывая, что пероральные формы фторхинолонов составили более 30% от общего количества проанализированных препаратов по тесту «Микробиологическая чистота» в лаборатории антибиотиков за последние два года, нами был поставлен модельный опыт с целью выяснить максимальную степень разведения для проведения испытания и возможность применения нейтрализующей жидкости, пропись которой приведена в ГФ XII. Для испытания были выбраны таблетки ципрофлоксацина дозировкой 500 мг и субстанция ципрофлоксацина гидрохлорида. Ципрофлоксацин в таблетках также находится в форме ципрофлоксацина гидрохлорида.

Ципрофлоксацин относится к группе хинолонов II поколения (фторхинолон). Активен в отношении ряда грамположительных аэробных бактерий, большинства штаммов грамотрицательных. Превосходит другие фторхинолоны по активности в отношении *Pseudomonas aeruginosa* [3]. В этой связи для испытания были выбраны два тест-микроорганизма: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Анализ проводили чашечным двухслойным агаровым методом, описанным в ГФ XII, часть 1, стр. 171, на соево-казеиновой среде. Первоначально готовили ципрофлоксацин гидрохлорид в разведении 1×10^{-1} в стерильном фосфатном буферном растворе pH 7,0. Известно, что практически все виды *Pseudomonas* не растут при pH 4,5 и менее [4]. И поскольку ципрофлоксацин находится в форме ципрофлоксацина гидрохлорида (соль сильной кислоты), перед анализом измерили pH приготовленной суспензии. Полученное значение pH 5,6 не будет оказывать влияние на рост *Pseudomonas aeruginosa*, тем не менее, возможность изменения pH в кислую или щелочную сторону при пробоподготовке препаратов к анализу необходимо учитывать, т.к. это может повлиять на определение микробной контаминации.

Для анализа готовили 3 испытуемых образца в разведениях 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} каждый. I образец – ципрофлоксацин, искусственно зараженный вышеуказанными бактериями из расчета около $2 \cdot 10^3$ КОЕ на 1 г препарата, в качестве контрольных рассматривали образец II (ципрофлоксацин, подготовленный аналогично образцу I, но без искусственного зара-

жения) и образец III (суспензия тест-микроорганизма в буферном растворе, в таком же количестве, как и в образце I). Максимальное разведение для всех образцов 1×10^{-4} . При максимальном разведении вероятность наличия КОЕ в 1 мл минимальна, учитывая, что количество внесенных в первое разведение бактерий на 1 мл буферного раствора приблизительно 10^3 . Однако дополнительное разведение 1×10^{-4} предусмотрено для более достоверной оценки результатов, которые будут получены для предыдущего (1×10^{-3}).

Посевная доза тест-микроорганизмов была выбрана исходя из установленных норм на общее содержание аэробных бактерий – не более 10^3 на 1 г препарата для приема внутрь. При этом принимали во внимание коэффициент 2, рекомендованный Европейской фармакопеей при интерпретации результатов испытания на микробиологическую чистоту лекарственных средств. Количество микроорганизмов устанавливали по стандарту мутности, аттестованному органом по сертификации МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

Получены следующие результаты: при искусственном заражении таблеток ципрофлоксацина около 10^3 на 1 г препарата, разведение в пределах норм допустимой микробной контаминации 1×10^{-3} не устраняет бактериальное действие. На всех чашках Петри с образцом I КОЕ *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* не обнаружены, так же как и на чашках, в которые вносился образец II (ципрофлоксацин без бактерий). При испытании таблеток ципрофлоксацина гидрохлорида дозировкой 500 мг и субстанции ципрофлоксацина гидрохлорида получены аналогичные результаты, при этом в максимальном разведении концентрация активного вещества достаточно высокая – около 75 мкг/мл. На чашках с образцом III бактериальный рост обнаружен во всех разведениях, кроме разведения 1×10^{-4} .

Образцы к анализу по устранению антибактериального действия ципрофлоксацина способом разведения с применением неспецифического инактиватора готовили так же, как в предыдущем эксперименте, только в качестве растворителя использовали смесь фосфатного буферного раствора pH 7,0 и нейтрализующей жидкости 1:1. В качестве нейтрализующей жидкости применили *Buffered Sodium-Chloride Solution with Neutralizers* производства DNP-F, BioMerieux. Полученные результаты показали, что нейтрализующая жидкость не влияет на активность ципрофлоксацина в отношении *Bacillus subtilis* независимо от степени разведения препарата, тогда как, антимикробное действие в отношении *Pseudomonas aeruginosa* нейтрализуется при разведении 1×10^{-3} . На чашках Петри обнаружен рост типичных колоний данного микроорганизма.

Таким образом, разведение 1×10^{-3} , которое находится в пределах допустимых норм для пероральных препаратов при испытании на общее число бактерий, не устраняет антибактериальное действие препаратов фторхинолонов. Применение нейтрализующей жидкости в ряде случаев способствует их инактивации,

Таблица 1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В УСЛОВИЯХ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЯ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ ЧИСТОТУ

Препарат, МНН	Разведение	Количество β-лактамазы (пенициллиназы) на 1 мл буферного раствора, ЕД/мл	Питательные среды				
			Соево-казеиновый агар			Среда Сабуро	
			Тест-микроорганизмы				
			<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
Олеандомицин,	1×10 ⁻¹	н/п	52 %	93 %	н/р	90 %	83 %
Амоксициллин	1×10 ⁻¹	100	71 %	77 %	73 %	80 %	83 %
Ампициллин + оксациллин	1×10 ⁻¹	1000	103 %	111 %	98 %	100 %	100 %
Доксициклин	1×10 ⁻¹	н/п	н/р	н/р	н/р	100 %	100 %
Кларитромицин	1×10 ⁻¹	н/п	н/р	н/р	н/р	86 %	92 %
Азитромицин	1×10 ⁻¹	н/п	н/р	н/р	н/р	81 %	96 %
Ломефлоксацин	1×10 ⁻¹	н/п	н/р	н/р	н/р	157 %	103 %
Офлоксацин	1×10 ⁻¹	н/п	н/р	н/р	н/р	92 %	90 %
Ципрофлоксацин	1×10 ⁻¹	н/п	н/р	н/р	н/р	80%	94 %
Нистатин	1×10 ⁻¹	н/п	100 %	96 %	102 %	15 %	н/р

н/п – не применяли, (%) – количество КОЕ на чашках Петри с антибиотиком в % от числа колоний, выросших на контрольных чашках, (н/р) – отсутствие роста тест-микроорганизмов

как показано для ципрофлоксацина в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, однако для каждого препарата необходим экспериментальный подбор количества нейтрализующей жидкости в комбинации с максимально допустимой степенью разведения 10⁻³. Применение нейтрализующей жидкости в сочетании с разведением для антибиотиков широкого спектра антибактериального действия с высокой бактерицидной активностью, для которых в настоящее время отсутствует специфический инактиватор, требует дальнейшего изучения. При этом необходимо отметить, что

многочисленные исследования в лаборатории антибиотиков фторхинолонов и препаратов антибиотиков широкого спектра действия по показателю «Микробиологическая чистота» дают основание предположить, что в условиях проведения данного теста выявить наличие бактериальной микрофлоры в таких препаратах маловероятно. Тем не менее, при проведении теста «Микробиологическая чистота» необходимо учитывать спектр антимикробного действия антибиотиков и их химическое строение для экспериментального подбора способов устранения антимикробного действия.

ЛИТЕРАТУРА

- ОФС 42-0067-07. В кн.: Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. Ч. 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения; 2007.
- European Pharmacopoeia. 8th edition (8.0) (2.6.1). Strasbourg: EDQM; 2013
- Стречунский ЛС, Белоусов ЮБ, Козлов СН ред. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Смоленск: МАКМАХ; 2007.
- Хоулт Дж, ред. Определитель бактерий Берджи. Т. 1. М.: Мир; 1997.

ОБ АВТОРАХ:

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.
Кулешова Светлана Ивановна. Начальник лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук.
Романюк Галина Юрьевна. Эксперт 1-й категории.
Процак Светлана Александровна. Ведущий научный сотрудник.
Лисунова Светлана Анатольевна. Эксперт 1-й категории

REFERENCES

- General pharmacopoeia article 42-0067-07. In: The State Pharmacopoeia of Russian Federation. 12th ed. V. 1. Moscow: Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2007 (in Russian).
- European Pharmacopoeia. 8th edition (8.0) (2.6.1). Strasbourg: EDQM; 2013
- Strachunsky LS, Belousov YuB, Kozlov SN ed. Practical guidance on anti-infective chemotherapy. Smolensk: MAKMAX; 2007 (in Russian).
- Holt J ed. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. V. 1. Moscow: Mir; 1997 (in Russian).

AUTHORS:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.
Kuleshova SYu. Head of Laboratory of antibiotics of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Biological Sciences.
Romanuk GYu. 1st category expert of Laboratory of antibiotics of Test Center of Quality Expertise of Medicines.
Protsak SA. Leading researcher of Laboratory of antibiotics of Test Center of Quality Expertise of Medicines.
Lisunova SA. 1st category expert of Laboratory of antibiotics of Test Center of Quality Expertise of Medicines.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Кулешова Светлана Ивановна; Kuleshova@expmed.ru.

Статья поступила 20.01.2014 г.

Принята к печати 11.03.2014 г.

Электронная система выписывания рецептов и безопасность лекарственной терапии

Р.Н. Аляутдин, Б.К. Романов, А.П. Переверзев, Н.Д. Бунятян

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Использование электронной системы выписывания рецептов (*e-Rx*) позволило радикально уменьшить количество ошибок, возникающих при назначении лекарственной терапии. Это привело к повышению ее безопасности как за счет улучшения качества прописи, так и за счет соотношения предписанной врачом дозы препарата с параметрами, заложенными в электронном руководстве. Наряду с этим, имеющиеся в *e-Rx* опции позволяют уменьшить риск возникновения аллергических реакций на проводимую терапию и возможность нежелательных лекарственных взаимодействий. Использование этой системы снижает затраты пациента на лекарственную терапию. Вместе с тем, интеграция в эту систему для врача общей практики является серьезной статьей расходов, что, безусловно, ограничивает ее распространение.

Ключевые слова: электронная система выписывания рецептов; безопасность лекарственной терапии; взаимодействие лекарственных веществ.

ELECTRONIC PRESCRIBING SYSTEM AND THE SAFETY OF DRUG THERAPY

R.N. Alyautdin, B.K. Romanov, A.P. Pereverzev, N.D. Bunyatyan

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: Electronic prescribing system (*e-Rx*) allows to drastically reduce the number of prescription errors. This leads to a safer drug therapy. At the same time, the options of *e-Rx* can reduce the risk of drug allergic reactions and the possibility of adverse drug interactions. *e-Rx* reduces the costs of the drug therapy for the patients. However, the integration to this system for a general practitioner is a major object of expenditure, which certainly limits its promotion.

Key words: electronic prescribing system; safety of drug therapy; drug interaction.

Медицинские ошибки являются фактором, значительно снижающим качество медицинской помощи [1]. В США ежегодная смертность от медицинских ошибок и нозокомиальных инфекций составляет 200 000 человек¹ [2]. Анализ показывает, что ошибки, связанные с назначением и введением лекарственных препаратов являются самыми распространенными в этом ряду. Просчеты могут возникать на любом этапе лекарственной терапии, включая выписывание, отпуск и контроль за приемом лекарственных препаратов. Наиболее типичны эти ошибки для системы амбулаторной медицинской помощи [3, 4]. Институт медицины (США) полагает, что 1,5 миллиона ошибок при лекарственной терапии относятся к предотвратимым. Ежегодно 7000 человек погибают из-за неразборчиво написанных рецептов [4]. Создание и использование электронной системы выписывания рецептов было обусловлено в первую очередь необходимостью улучшения качества медицинской помощи за счет устранения этих проблем.

Электронное выписывание рецептов определяется как *on-line* метод создания и подписи рецептов с использованием ИТ-технологий. Эта система является последней технологической разработкой, широко внедренной и активно распространяющейся в системе распределения лекарственных препаратов. Так, в 2010 году в США фармацевтам было отправле-

но 320 миллионов электронных рецептов, в то время как годом ранее таких рецептов было «выписано» 191 миллион, то есть рост числа рецептов за год составил 72%. Важным стимулятором внедрения этой системы в США является позиция *Medicare*, системы медицинского страхования лиц старше 65 лет, инвалидов и больных с терминальной стадией почечной недостаточности. Medicare с 2008 года стимулирует врачей, участвующих в системе электронного выписывания рецептов и, напротив, лишает бонусов врачей, использующих традиционное «ручное» выписывание [5, 6].

Электронная система выписывания рецептов (*e-RX*) является, по сути, прямой коммуникацией через компьютерные сети медицинского работника, выписывающего рецепт, и фармацевта, непосредственно отпускающего препарат. Электронные рецепты (*e-рецепты*), как правило, создаются в рамках специализированных компьютерных сетей. Эта система изначально создавалась для облегчения работы врача, дабы полностью разгрузить его от «бумажной» работы в процессе выписывания рецепта. Кроме того, ликвидация бумажных рецептов должна была способствовать экономии времени как врача, так фармацевта, а также избеганию ошибок, связанных с неправильным прочтением и пониманием содержания рецепта фармацевтом (врачебный почерк трудночитаем во всем мире). Позже

¹ Ссылка на статические данные США обусловлена наличием и доступностью приводимых показателей.

оказалось, что электронная система выписывания рецептов повышает эффективность работы фармацевта еще и в связи с уменьшением числа телефонных разговоров фармацевта с врачом, а также уменьшает количество требований переписать рецепт [7].

Учитывая вышеизложенное, можно сформулировать следующие основные цели при переходе на электронные системы выписывания рецептов:

- уменьшить количество врачебных ошибок;
- повысить безопасность пациента;
- улучшить доступ к медицинской информации;
- облегчить создание отчетов и обобщение информации;
- оптимизировать временные и стоимостные параметры.

Насколько достижима реализация этих постулатов при использовании *e-Rx*? В исследовании *R. Kaushal* и соавт. (2009) была проведена сравнительная оценка качества выписывания рецептов врачами, использующих традиционный «ручной» метод выписывания рецептов и применяющих электронную систему, которая представляет собой коммерчески доступную в Интернете программу выписывания рецептов. В программе наряду с паспортными и антропометрическими данными было предусмотрено заполнение таких параметров, как аллергические реакции на лекарственные средства, беременность и грудное кормление. Было предусмотрено программное блокирование ошибок, вызванных лекарственным взаимодействием, дублированием лекарственной терапии, неправильной частотой приема препарата, неправильной дозировкой. В исследовании были включены две группы врачей, проживающих в одном регионе, не различающихся по возрасту, полу и условиям работы. Анализ выписанных рецептов проводился слепым методом врачами, медицинскими сестрами и фармацевтами. Количество ошибок при выписывании рецептов до начала эксперимента в обеих группах было одинаково высоким. Так, в группе адаптированных к электронной системе (но на тот момент не использовавших ее) количество рецептов, содержащих по крайней мере одну ошибку, составило 35%, а общее число рецептов с ошибками составило 42,5%. В группе не адаптированных к электронной системе врачей одна ошибка была отмечена в 29,8% рецептов, а всего с ошибками были выписаны 37,3% рецептов. После использования электронной системы в течение года количество ошибок в рецептах уменьшилось с 42,5% до 6,6%. Как показал анализ ошибок, проведенный до начала исследования, 87% всех ошибок связано с неразборчивой прописью или подписью рецепта. Все ошибки этого типа, естественно, были устранены при электронной прописи рецептов. В выписывании традиционным способом среди выписанных с ошибками рецептов в 67% случаев были отмечены нарушения правил выписывания рецептов. После введения электронной системы ошибок стало меньше, однако были случаи, когда врачи не указывали дозу и частоту приема препарата. Ошибки, связанные с неправильным указа-

нием дозы, частоты и длительности приема снизились соответственно с 2,7; 2,9 и 9,7% до 0,4; 0,8 и 0,7% во всем массиве выписанных рецептов [3].

Мета-анализ подтвердил снижение числа ошибок при выписывании рецептов. Так, *Ammenwerth* и соавт. (2008) обобщили результаты 27 аналитических исследований, посвященных эффективности системы электронной прописи рецептов. В отношении риска врачебных ошибок, обусловленных ошибками по сути (т.е. выбор лекарственного средства, дозировка, частота приема), в 23 исследованиях было показано его снижение с 87% до 1%. Вместе с тем, в одном исследовании риск врачебной ошибки возрос. Однако это исследование по дизайну отличалось от остальных, что затрудняло его реальную интерпретацию [8]. В 9-ти исследованиях оценивалось влияние введения *e-Rx* на потенциальные нежелательные реакции. В 6-ти исследованиях было показано, что риск их возникновения снижался с 65% до 2%. Анализ риска возникновения нежелательных реакций подтвердил общую тенденцию повышения безопасности лекарственной терапии с 70 до 16%, хотя в одном исследовании достоверной разницы получено не было [9].

Таким образом, электронная система выписывания рецептов позволяет объективно значительно снизить количество ошибок при выписывании рецептов. Вместе с тем, сама *e-Rx* система породила новые возможности для ошибок. Распространенной ошибкой стало внесение значения веса тела в графу «рост» и наоборот. Описан подобный случай при назначении панитумумаба пациенту с раком прямой кишки. Стандартная доза препарата составляла 6 мг/кг, однако врач в рамках нового протокола клинических испытаний планировал назначить по 9 мг/кг 3 раза с интервалом в одну неделю. При этом он ошибочно ввел рост пациента в сантиметрах в графу «вес в килограммах». В результате пациент получил 650 мг панитумумаба дополнительно. Ко второму введению ошибка была исправлена, но после третьего введения этот пациент умер, что естественно предполагает передозировку препарата как причину смерти [10]. К встречающимся при *e-Rx* просчетам относят нарушение порядка цифр (например, рост 107 см вместо 170 см) или ошибочное использование фунтов и футов вместо метрической системы мер. Однако, в отличие от ручной прописи, эти ошибки можно предусмотреть и попытаться предотвратить программно. К таким мерам относят заложенное в программу предупреждение врача при введении необычно высоких или низких значений веса и роста, индикация роста и веса в двух системах измерений, автоматическое вычисление индекса массы тела (ИМТ) на основе введенных данных и звуковое информирование при превышении ИМТ значения 50.

При использовании *e*-выписывания препаратов повышение безопасности лекарственной терапии достигается не только за счет оптимизации оформления рецептурных бланков. Система электронного заполнения рецепта предусматривает введение параметров, спо-

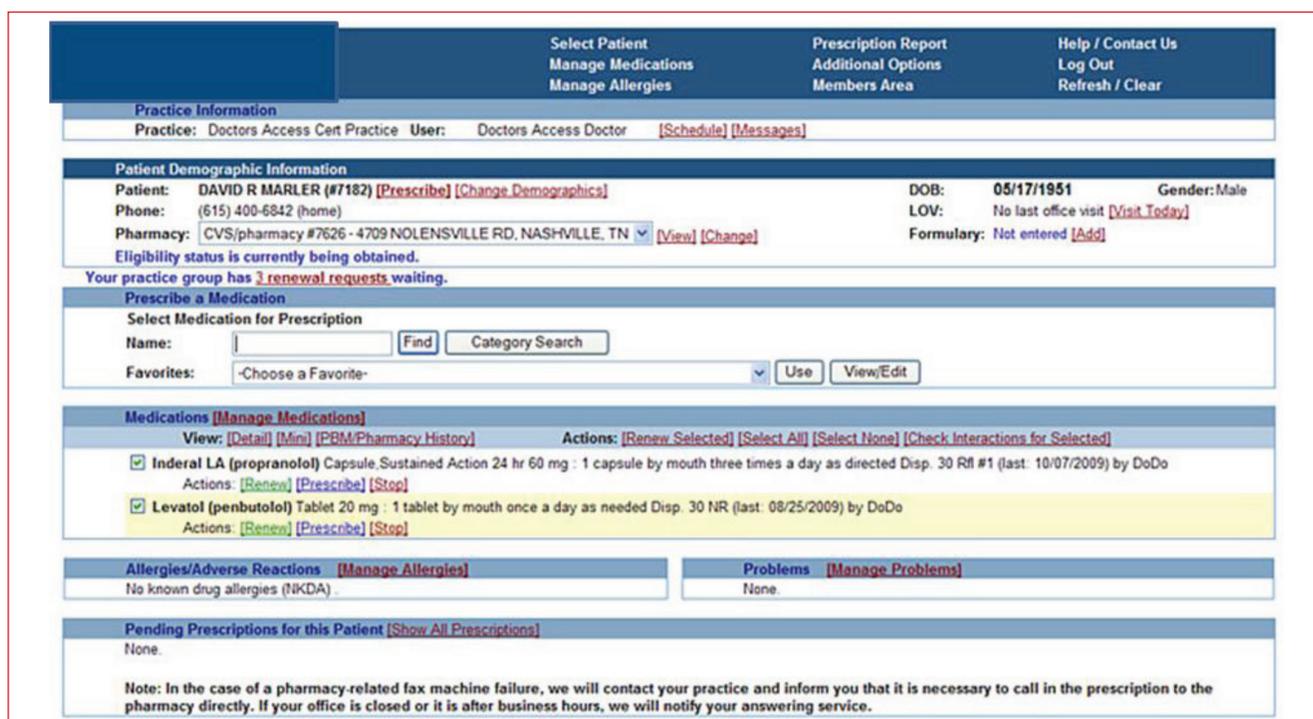


Рис. 1. Скриншот одной из e-Rx программ

способных оказать влияние на результаты лекарственного лечения. К ним относятся возраст пациента, упоминавшиеся вес и рост, вещества, вызывающие аллергию (не только лекарственные), доза, количество приемов препарата. За счет сетевой связи с базами данных обеспечивается контроль возможной передозировки лекарств. Предлагаемый системой выбор оригинальных и воспроизведенных (генериков) лекарственных средств и позволяет учитывать мнение пациента в отношении стоимости лекарственного препарата. Отдельно представлена обязательная для заполнения область, отражающая принимаемые пациентом на данный момент лекарственные препараты, этот параметр анализируется на предмет лекарственных взаимодействий (рис. 1).

Не вызывает сомнений польза и эффективность e-выписывания для пациентов. Вместе с тем, неоднозначна оценка временной эффективности e-Rx для участников этой системы, в частности, затрат врачей и фармацевтов при использовании e-Rx. Так, для врача продолжительность выписывания рецепта увеличивается на 20 с, что в сумме дает увеличение временных затрат на 6 мин в день [11]. Для фармацевтов эта система дает экономию времени как на стадии обработки рецепта, так и при составлении отчетности, а также при взаимодействии с провайдером. Кроме того, экономия времени фармацевта может возникнуть за счет использования системы доставки лекарств [6, 7]. Кстати, при этом у пациента отпадает необходимость идти в аптеку (таблица 1).

Таблица 1

СОПОСТАВЛЕНИЕ ОШИБОК И ПРОБЛЕМ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПРИ ВЫПИСЫВАНИИ РЕЦЕПТОВ ТРАДИЦИОННЫМ СПОСОБОМ И ПРИ E-ВЫПИСЫВАНИИ

Проблемы, типичные при традиционном выписывании рецептов	Преимущества e-Rx	Возможные проблемы e-Rx
Неполное владение информацией (отсутствие данных об аллергии, других лекарственных препаратах)	Полная информированность о болезни на момент выписывания рецепта	Ошибки введения имени пациента, ID
Ошибки заполнения рецептурного бланка	e-Rx формирует рецепт самостоятельно	Нет возможности модернизации
Ошибки в дозировке	e-Rx контролирует дозировку	Плохой дизайн меню некоторых программ затрудняет контроль
Редкий диагноз или диагноз, предполагающий применение препарата off-label	Система может рекомендовать препараты	
Фармацевт не может прочитать рецепт или разобрать дозировку	Рецепт в электронной форме	Фармацевт не так тщательно проверяет рецепт
Пациент должен идти в аптеку за лекарством	Возможна доставка лекарственных препаратов	Контроль прописи рецепта не такой тщательный как в аптеке

Препятствием для внедрения системы *e*-выписывания лекарственных препаратов является стоимость ее внедрения в случае, если врач должен оплачивать это сам. В 2007 году стоимость обучения работы с системой, покупка и установка оборудования обходились врачу общей практики в \$42 000, а ежегодное обслуживание в \$14 000 [12]. Для некоторых категорий врачей эта сумма может увеличиваться.

Таким образом, электронные системы выписывания рецептов несомненно позволяют увеличить безопасность пациентов, повысить эффективность амбулаторной помощи и способны обеспечить эко-

номию затрат для больниц и пациентов. Однако анализ ошибок при использовании этой системы дает основания предположить, что система безопасности *e-Rx* при выписывании лекарственных препаратов имеет потенциал для дальнейшей оптимизации. Этот очевидный факт является стимулом для проведения научных исследований в области *e*-выписывания лекарств.

Побуждающим фактором для написания этой статьи явилась дискуссия на ежегодной конференции Международной ассоциации фармакоэпидемиологии, проходившей в 2014 году в Роттердаме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ammenwerth E, Schnell-Inderst P, Machan C, Siebert U. The Effect of Electronic Prescribing on Medication Errors and Adverse Drug Events: A Systematic Review. *J Am Med Inf Ass* 2008; 15: 585–600.
2. Hearst Corporation. Hearst National Investigation Finds Americans Are Continuing to Die in Staggering Numbers from Preventable Medical Injuries. 2009. Available from: <http://www.hearst.com/press-room/pr-20090809b.php>.
3. Kaushal R, Kern L, Barrón Y, Quaresimo J, Abramson EL. Electronic Prescribing Improves Medication Safety in Community-based Office Practices. *J Gen Internal Med* 2010; 25: 530–36.
4. Abramson EL, Malhotra S, Fischer K, Edwards A, Pfoh E, Osorio S et al. Transitioning between Electronic Health Records: Effects on Ambulatory Prescribing Safety. *J Gen Internal Med* 2011; 26: 868–74.
5. Porterfield A, Engelbert K, Coustasse A. Electronic prescribing: improving the efficiency and accuracy of prescribing in the ambulatory care setting. *Perspectives in Health Information Management*, Spring 2014.
6. Grossman JM, Cross A, Boukus ER, Cohen GR. Transmitting and Processing Electronic Prescriptions: Experiences of Physician Practices and Pharmacies. *JAMIA* 2011; 19: 353–59.
7. Lapane KL, Rosen RK, Dubé C. Perceptions of E-prescribing Efficiencies and Inefficiencies in Ambulatory Care. *Int J Med Inf* 2011; 80: 39–46.
8. Spencer DC, Leininger A, Daniels R, Granko RP, Coeytaux RR. Effect of a computerized prescriber-order-entry system on reported medication errors. *Am J Health Syst Pharm* 2005; 62(4): 416–9.
9. Koppel R, Metlay J, Cohen A. Role of computerized physician order entry systems in facilitating medication errors. *JAMA* 2005; 293(10): 1197–2003.
10. Grissinger M. Electronic Prescribing Vulnerabilities: Height and Weight Mix-Up Leads to Dosing Error. *P&T* 2014; 39: 151.
11. Devine EB, Hollingworth W, Hansen RN, Lawless M, Wilson-Norton JL, Martin DP. Electronic Prescribing at the Point of Care: A Time-Motion Study in the Primary Care Setting. *Health Services Research* 2010; 45: 152–71.
12. Health Resources and Services Administration (HRSA). How Much Does an E-prescribing System Cost? 2013. Available from: <http://www.hrsa.gov/healthit/toolbox/HealthITAdoptiontoolbox/ElectronicPrescribing/costofepres>.

ОБ АВТОРАХ:

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

Аляутдин Ренад Николаевич. Заместитель директора Центра экспертизы безопасности лекарственных средств, д-р мед. наук.

Романов Борис Константинович. Директор Центра экспертизы безопасности лекарственных средств, д-р мед. наук.

Переверзев Антон Павлович. Начальник научно-методического отдела, канд. мед. наук.

Бунятян Наталья Дмитриевна. Заместитель генерального директора по научной работе, д-р фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Аляутдин Ренад Николаевич; Alyautdin@expmed.ru

Статья поступила 29.05.2014 г.

REFERENCES

1. Ammenwerth E, Schnell-Inderst P, Machan C, Siebert U. The Effect of Electronic Prescribing on Medication Errors and Adverse Drug Events: A Systematic Review. *J Am Med Inf Ass* 2008; 15: 585–600.
2. Hearst Corporation. Hearst National Investigation Finds Americans Are Continuing to Die in Staggering Numbers from Preventable Medical Injuries. 2009. Available from: <http://www.hearst.com/press-room/pr-20090809b.php>.
3. Kaushal R, Kern L, Barrón Y, Quaresimo J, Abramson EL. Electronic Prescribing Improves Medication Safety in Community-based Office Practices. *J Gen Internal Med* 2010; 25: 530–36.
4. Abramson EL, Malhotra S, Fischer K, Edwards A, Pfoh E, Osorio S et al. Transitioning between Electronic Health Records: Effects on Ambulatory Prescribing Safety. *J Gen Internal Med* 2011; 26: 868–74.
5. Porterfield A, Engelbert K, Coustasse A. Electronic prescribing: improving the efficiency and accuracy of prescribing in the ambulatory care setting. *Perspectives in Health Information Management*, Spring 2014.
6. Grossman JM, Cross A, Boukus ER, Cohen GR. Transmitting and Processing Electronic Prescriptions: Experiences of Physician Practices and Pharmacies. *JAMIA* 2011; 19: 353–59.
7. Lapane KL, Rosen RK, Dubé C. Perceptions of E-prescribing Efficiencies and Inefficiencies in Ambulatory Care. *Int J Med Inf* 2011; 80: 39–46.
8. Spencer DC, Leininger A, Daniels R, Granko RP, Coeytaux RR. Effect of a computerized prescriber-order-entry system on reported medication errors. *Am J Health Syst Pharm* 2005; 62(4): 416–9.
9. Koppel R, Metlay J, Cohen A. Role of computerized physician order entry systems in facilitating medication errors. *JAMA* 2005; 293(10): 1197–2003.
10. Grissinger M. Electronic Prescribing Vulnerabilities: Height and Weight Mix-Up Leads to Dosing Error. *P&T* 2014; 39: 151.
11. Devine EB, Hollingworth W, Hansen RN, Lawless M, Wilson-Norton JL, Martin DP. Electronic Prescribing at the Point of Care: A Time-Motion Study in the Primary Care Setting. *Health Services Research* 2010; 45: 152–71.
12. Health Resources and Services Administration (HRSA). How Much Does an E-prescribing System Cost? 2013. Available from: <http://www.hrsa.gov/healthit/toolbox/HealthITAdoptiontoolbox/ElectronicPrescribing/costofepres>.

AUTHORS:

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

Alyautdin RN. Deputy director of Center of Expertise of Drug Safety. Doctor of Medical Sciences.

Romanov BK. Director of Center of Expertise of Drug Safety. Doctor of Medical Sciences.

Pererezev AP. Head of the Scientific and Methodological Department. Candidate of Medical Sciences.

Bunyatyán ND. Deputy Director General for the scientific work. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Принята к печати 02.06.2014 г.

Оценка гепатопротекторов на основе силимарина при проведении фармакотерапии неалкогольной жировой болезни печени с позиций доказательной медицины

М.В. Журавлева¹, С.Ю. Сереброва¹, Т.Р. Каменева²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

²Городская больница № 3, 124489, г. Зеленоград

Резюме: Методология доказательной медицины позволяет ранжировать лекарственные препараты из группы гепатопротекторов в соответствии с их основными фармакодинамическими эффектами, соотношением эффективности и безопасности. В статье представлен системный анализ гепатопротектора растительного происхождения силимарина при лечении неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Неалкогольная болезнь печени, ассоциированная с увеличенным риском возникновения ССЗ, является не только маркером ССЗ, но и может быть вовлечена в его патогенез. Важное значение имеет оценка возможностей гепатопротекции, в том числе с применением лекарственных препаратов на основе растительного гепатопротектора силимарина. Полученные результаты могут применяться при проведении экспертизы новых лекарственных препаратов из группы гепатопротекторов, а также при экспертизе материалов клинических исследований с применением гепатопротекторов при лечении НАЖБП.

Ключевые слова: доказательная медицина; неалкогольная жировая болезнь печени; метаболический синдром; гепатопротекторы; силимарин; экспертиза лекарственных средств.

THE EVALUATION OF HEPATOPROTECTOR SILYMARIN IN PHARMACOTHERAPY OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE FROM THE EVIDENCE-BASED MEDICINE PERSPECTIVE

M.V. Zhuravleva, S.Yu. Serebrova, T.R. Kameneva

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Резюме: Evidence-based medicine methodology allows us to range hepatoprotectors in accordance with their basic pharmacodynamic effects and with efficacy/safety ratio. The article presents a systematic analysis of herbal hepatoprotector silymarin in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Non-alcoholic liver disease, associated with an increased risk of cardiovascular diseases (CVD), is not only a marker of CVD, but also may be involved in its pathogenesis. It is important to evaluate hepatoprotective capability, including the administration of a herbal based hepatoprotector silymarin. The obtained results can be used in expert evaluation of new hepatoprotectors as well as in expert evaluation of the materials of clinical trials in which hepatoprotectors were used for NAFLD therapy.

Ключевые слова: evidence-based medicine; non-alcoholic fatty liver disease; metabolic syndrome; hepatoprotectors; silymarin; drug expert evaluation.

Рациональная фармакотерапия хронических диффузных заболеваний печени остается одной из ведущих и сложных в практике гастроэнтерологов и терапевтов. В мире отмечается повсеместный рост вирусных, токсических, лекарственных, алкогольных, аутоиммунных поражений печени [1, 2].

Современное понятие НАЖБП охватывает спектр поражений печени, включающий в себя три ее основные формы: жировой гепатоз (ЖГ), неалкогольный (метаболический) стеатогепатит (НАСГ) и цирроз (как исход прогрессирующего НАСГ). Редко исходом НАСГ может являться гепатоцеллюлярная карцинома [2, 3].

Неалкогольная болезнь печени, ассоциированная с увеличенным риском возникновения ССЗ, является не только маркером ССЗ, но и может быть вовлечена в его патогенез. В связи с тем, что смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) занимает 1-е место в мире, НАЖБП приобретает еще большее значение, т.к. проведенные исследования дают убе-

дительные доказательства повышенного риска у таких пациентов [3].

Согласно современным представлениям выделяют первичную и вторичную НАЖБП. Первичная НАЖБП наиболее часто развивается при наличии сахарного диабета 2-го типа, ожирения и гиперлипидемии, может являться проявлением метаболического синдрома [5].

Наиболее часто НАЖБП ассоциируется с нарушениями липидного и углеводного обменов. Пациенты с метаболическим синдромом имеют максимальный риск развития ЖД печени. Существенную роль в повышении восприимчивости к НАЖБП, вероятно, играют генетические факторы, о чем свидетельствуют семейные случаи, межэтнические вариации. Вторичный стеатоз печени, НАСГ [14], НАЖБП могут развиваться в результате приема некоторых лекарственных препаратов (глюкокортикоиды, синтетические эстрогены, противоопухолевые, антибактериальные,

нестероидные противовоспалительные препараты и др.), при воздействии гепатоксических веществ (фосфор, яды грибов, органические растворители) [1], развитии синдрома мальабсорбции вследствие хирургического вмешательства, при хронических заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся синдромом мальабсорбции (хронический панкреатит, неспецифический язвенный колит); при длительном (более 2 недель) парентеральном питании; быстром снижении массы тела; абеталипопротеинемии, липодистрофии конечностей, болезни Вебера–Крисчена, болезни Вильсона–Коновалова [4, 5].

Патогенез НАЖБП представляет собой сложный многофакторный процесс. В основе патогенеза НАСГ лежит периферическая инсулинорезистентность [4, 6]. Точный механизм нарушения данного пути обмена веществ до конца не ясен. Решающим, по-видимому, становится выделение жировой тканью, особенно жировой тканью брыжейки, ФНО- α , а также лептина и ряда других белковых медиаторов. Периферическая инсулинорезистентность ведет к гиперинсулинизму, что обуславливает блокирование митохондриального β -окисления. Также при НАЖБП снижается уровень гормона жировой ткани адипонектина, в связи с чем, нарушаются внутриклеточные сигналы, такие как активация МАР-киназы и пероксисомального пролиферативного ядерного рецептора, что усиливает накопление липидов в печени [6].

Так же, как и при алкогольном поражении печени, происходит выделение цитокинов звездчатыми клетками Купфера. Цитокины, в первую очередь ФНО- α , вносят вклад, с одной стороны, в патогенез гепатита, с другой стороны, в развитие периферической инсулинорезистентности [6, 7].

Для НАЖБП не характерна яркая симптоматика. Клиническая картина при жировой дистрофии печени и НАСГ практически не различима. При непосредственном исследовании у 75% больных определяется увеличение печени, обычно без пальпаторной болезненности. При НАСГ активность сывороточных трансаминаз стабильно повышена, но составляет не более 4 норм. Современные визуализирующие методики, включающие УЗИ, КТ и МРТ, дают возможность выявить стеатоз, но не позволяют надежно диагностировать НАСГ или фиброз. Большинство исследователей отмечают, что для установления диагноза в типичных случаях проведения биопсии не требуется [1].

Медикаментозная терапия НАЖБП должна быть направлена на повышение чувствительности тканей к инсулину, уменьшение степени окислительного стресса и повреждения печени. Применяются следующие лекарственные средства: метформин, тиазолидиндионы, статины, фибраты, пентоксифиллин, эссенциальные фосфолипиды (ЭФЛ), УДХК, витамин E, адеметионин, силимарин, бетаин, N-ацетилцистеин, глицирризиновая кислота, препараты альфа-липовой кислоты, пре и пробиотики.

Обоснованием для назначения того или иного препарата (либо комбинации) является его способность воздействовать на один или несколько патогенетических механизмов НАЖБП [6,7].

Традиционно для этой цели используются препараты, относящиеся к группе гепатопротекторов. [1, 6]. Учитывая отсутствие прямого воздействия на этиологию заболевания, принципиальным направлением действия препаратов гепатопротекторной группы является влияние на патогенетические механизмы. Эти механизмы сложны и разнообразны и во многом зависят от этиологии заболевания (вирусная, аутоиммунная, токсическая и т.д.). Единой классификации препаратов группы гепатопротекторов не существует [1, 7].

Гепатопротекторы принято подразделять по происхождению на несколько групп: фосфолипидные и липосомальные препараты; производные деокси-холевой кислоты; синтетические препараты; растительные полифенолы, а также комбинированные лекарственные средства [1, 8].

Наиболее часто среди гепатопротекторов растительного происхождения применяется силимарин. Силимарин – это комплексный препарат, который содержит смесь биофлавоноидов семян пятнистой расторопши (*Silybum marianum*), известной также как чертополох молочный, марьин татарник, колючник, татарник серебристый [24]. Основным фармакологически активным веществом считается силибинин (60%), также в состав входят: изосилибинин (5%), силикристин (20%), силидианин (15%), по молекулярной структуре близкие к стероидам, изосиликристин и таксифолин [1, 6].

Силимарин обладает антифибротическим, выраженным антиоксидантным, гепатопротективным, и антитоксическим свойствами. Механизм его действия до конца не ясен, считается, что он связан с подавлением перекисного окисления липидов, вследствие чего предотвращается повреждение клеточных мембран. В гепатоцитах препарат стимулирует полимеразу A ядра, что способствует увеличению синтеза белков на рибосомах, а также повышению образования фосфолипидов. Кроме того, силимарин препятствует проникновению в клетку некоторых гепатотоксических веществ, в частности ядов бледной поганки: фаллоидина и аманитина, т.е. является специфическим антидотом [7, 8].

Отмечено действие силимарина на липидный обмен и первые эксперименты на животных продемонстрировали снижение синтеза холестерина в печени под действием силибинина [9, 10]. Кроме того, силибинин способен нейтрализовать два эффекта этанола у крыс: ингибирование синтеза фосфолипидов и снижение включения глицерина в липиды изолированных гепатоцитов [3, 7, 9].

На модели экспериментального неалкогольного стеатогепатита было показано, что силибинин проявляет антиоксидантное, гипоинсулинемическое и

гепатопротективное действие при индуцированным стеатогепатитом поражении печени. Отмечено снижение уровня инсулина плазмы и фактора некроза опухоли (*TNF-α*) [9, 10].

Индикатором значимости силимарина и его компонентов для медицины является экспоненциальное увеличение количества научных публикаций — более 800 за период с 2002 по 2007 г. [11, 12].

Всего в базе публикаций *PubMed (PubMed.gov)* имеет место 2114 публикаций (на апрель 2014 года включительно), в которых упоминается *Silymarin*. Из них 12 публикаций посвящено исследованиям по применению силимарина при хронических диффузных заболеваниях печени (ХДЗП), без циррозов: из них 3 мета-анализа и 8 рандомизированных клинических исследований. В 5-ти клинических исследованиях, общей численностью 447 пациентов, отмечен положительный эффект применения силимарина при ХДЗП, причем в 3-х исследованиях (202 пациента) эффективность подтверждена данными гистологических исследований. В мета-аналитических исследованиях, описывающих применение силимарина более чем у 1000 пациентов, отмечается, что смертность, ассоциированная с ХДЗП, уменьшается, если используется силимарин. При оценке безопасности указывается, что силимарин не увеличивает риск развития неблагоприятных реакций. В обзоре авторов из Израиля [12, 13] указывается, что силимарин является одним из часто используемых препаратов при заболеваниях печени в восточно-средиземноморском регионе [12].

Рациональность назначения силимарина у больных неалкогольным стеатогепатозом и НАЖБП так-

же продолжает оставаться актуальным вопросом, поэтому изучение влияния силимарина на показатели углеводного и жирового обмена приобретает особое значение, как в терапии НАЖБП, так и в отношении позитивного влияния этого препарата на течение сахарного диабета, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца (таблица 1).

В данном обзоре использован метод ретроспективного анализа, систематического обзора литературы и синтеза первичных данных в целях получения суммарных объективных показателей по эффективности и безопасности применения препаратов силимарина у пациентов НАЖБП [1, 12]. Число пациентов, получавших лечение изучаемым препаратом, является дискретной случайной величиной. Частота (или статистическая вероятность) данного события при небольшом количестве пациентов в одном исследовании носит в значительной мере случайный характер и может заметно изменяться от одного исследования к другому. Однако, при увеличении числа участников частота такого события всё более теряет свой случайный характер, приближаясь с незначительными колебаниями к некоторой средней постоянной величине [14].

В данном анализе были оценены результаты 10 исследований применения препарата силибинина при НАЖБП с суммарным количеством пациентов, принимавших препараты силибинина, 408 человек.

С целью уменьшения возможной систематической ошибки, для анализа были отобраны только те исследования, которые содержали данные с оценкой эффективности препаратов силимарина. Первона-

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ СИЛИМАРИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО И ЖИРОВОГО ОБМЕНОВ, КОНЦЕНТРАЦИЮ ИНСУЛИНА, АЛТ, АСТ [8]

Исследование	Патология	Инсулин	Глюкоза	Тошачковая глюкоза	АЛТ	АСТ	Гликозилированный гемоглобин	Холестерол	ЛПВП	ЛПНП	Триглицериды
ПКИ Velussi M. и др. 1997 (140)	Алк. Цирроз и СД II	+	+	+			+				
РПКИ Huseini H.F. et al. 2006 (149)	СД II			+	+	+	+	+	+	+	+
РПКИ группы Loguercio C. с соавт., 2006, 2007, 2012 (141–143)	НАСГ, HCV	+			+	+					
РПКИ Hashemi S. и др. 2009 (45)	НАСГ			-	+	+		-	-	-	-
РПКИ Hajagha-mohammaddi A.A., 2009, 2012 (144, 145)	НАСГ	+		+	+	+		+			+
РПКИ Lirussi F.C. соавт., 2002 (150)	СД II, хр. гепатиты		+		-	-		-	-		+
РПКИ Hussain S.A. 2007 (151)	СД II, терапия глибенкламидом		+	+			+				

Примечание: «+» — положительное воздействие, «-» — отрицательное воздействие [24].

Таблица 2

АНАЛИЗ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИЛИМАРИНА ПРИ НАЖБП НА ОСНОВАНИИ РЕТРОСПЕКТИВНОГО ОБЗОРА КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первый автор/Год публикации/ссылка	Выборка исследования	N (сylimарин)	Доза и длительность приёма	Результаты
1. Federico A., A new silybin vitamin E-phospholipid complex improves insulin resistance and liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease: preliminary observations // Gut. – 2006. – Vol. 55, N 6. – P. 901–902.	85 пациентов: 59 НАЖБП (группа А) and 26 ХВГС в комбинации с НАЖБП, (группа В).	53 (39 НАЖБП и 14 НCV+ НАЖБП)	4 дозы в день комплекса силибинин-витамин Е-фосфолипиды (сilibинин 94мг, фосфатидилхолин 194 мг, витамин Е 90 мг); 12 месяцев.	Индекс массы тела (ИМТ) увеличился примерно у 70% пациентов. Ультразвуковые признаки стеатоза ранжировались от 0 до 3,90 (p<0.01). Отмечено снижение уровня трансаминаз в группе А. Отмечено снижение уровня гиперинсулинемии в обеих группах, а также уменьшение всех показателей фиброза печени, хотя стойкий эффект получен только для пациентов группы В. Была выявлена корреляция между улучшением основных показателей: фиброза, ИМТ, ультразвуковых признаков стеатоза, ГГТ, инсулинемией, уровнями металлопротеиназы 2 (ММР-2); трансформирующего фактором роста (TGF-β) (p<0.01). Группа А АЛТс 79 до 59 p<0.01. ГГТп 75 до 60 p<0.01 Инсулинемия (μU/ml) от 41,5 до 30,6 p<0.05 НОМА от 12.3 до 6.4 p<0.01 Группа В АЛТ с 69 до 62 p<0.01. ГГТ с 118 до 83 p<0.01. Инсулинемия (μU/ml) от 36 до 28 p<0.05. индекс инсулинорезистентности(НОМА) от 8,4 до 6.2 p<0.01
2. Loguercio C., Federico The effect of a silybin-vitamin e-phospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study // Dig. Dis. Sci. – 2007. – Vol. 52, N 9. – P. 2387–2395.	85 пациентов: 59 НАЖБП (группа А) and 26 ХВГС в комбинации с НАЖБП, (группа В).	53 (39 НАЖБП и 14 НCV+ НАЖБП)	4 дозы в день комплекса силибинин-витамин Е-фосфолипиды (сilibинин 94 мг, фосфатидилхолин 194 мг, витамин Е 90 мг); 6 месяцев.	Группа А показала значительное снижение выраженности стеатоза при УЗИ. Уровень печеночных трансаминаз и гиперинсулинемии имел тенденцию к нормализации у всех пациентов получавших сylimарин. Была выявлена корреляция между показателями фиброза, ИМТ, инсулинемией, фактором некроза опухоли альфа, ГГТ, показателями стеатоза.
3. Hajaghamohammadi AA, Efficacy of Silymarin in Decreasing Transaminase Activities in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Controlled Clinical Trial. Hepat. Mon. 2008;8(3):191–195.	50 пациентов (32 мужчины и 18 женщин)	25 пациентов	По одной таблетке (140 мг сylimарина) в день в течении 8 недель	Значимое снижение уровня АЛТ и АСТ с 103.1 до 41.4 и с 53.7 до 29.1 Ед/литр соответственно в группе лечения (p<0,001), при этом в группе плацебо такого эффекта не наблюдалось.
4. Hashemi S.J., A placebocontrolled trial of silymarin in patients with nonalcoholic fatty liver disease // Hepat. Mon. – 2009. – Vol. 9, N 4. – P. 265–270.	100 неалкогольный стеатогепатит	50 пациентов, 28 мужчин и 22 женщины	сylimарин в дозе 280 мг на протяжении 24 недель	Положительное влияние на АЛТ (нормализация в 52% случаев против 18% в группе плацебо, 113.03 и 73.14 Ед/литр до и после лечения соответственно, (P=0.001)). АсАТ оказался маркером, еще более чувствительным к терапии: статистически значимое снижение концентрации этого фермента до нормального уровня (АсАТ< 40) отмечено у 62% больных (против 20% в группе плацебо, p<0,0001). Снижение уровня АсАТ составило 71.42и 49.66 Ед/литр до и после лечения соответственно. Каких-либо значимых побочных эффектов отмечено не было.
5. Hajaghamohammadi AA. Effects of metformin, pioglitazone, and silymarin treatment on non-alcoholic Fatty liver disease: a randomized controlled pilot study. Hepat. Mon. 2012 Aug;12(8):e6099.	66 пациентов с НАЖБП, 24 женщины, 42 мужчины	22 пациента	Сylimарин по 140 мг/день, 2 месяца	2-х месячная терапия сylimарином повлияла на активность трансаминаз, и уменьшила уровень тощаковой глюкозы и инсулина в сыворотке, холестерина и триглицеридов, что приводило к уменьшению показателя инсулинорезистентности (индекс НОМА-IR). В этом исследовании сylimарин превосходил эффективность пиоглитазона и метформина по влиянию на показатели трансаминаз и уступал им во влиянии на показатели жирового и углеводного обмена. Уровень сахара в крови натощак (FBS) ммоль/л с 95.95 до 93.95. Триглицерид (TG) мг/дл с 254.18 до 239. CHOL ^a , мг/дл с 191.68 до 181.32 Уровень инсулина, ммоль/л с 14.20 до 13.50 индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) с 2.9±0.93 до 2.7±0.85. АСТ, Ед/литр с 56 до 37.77 ААЛТ, Ед/литр с 78.73 до 53.05
6. Буторова Л.И., Возможности использования Сylimарина при неалкогольной жировой болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 03, 2010, стр.86-91	70 больных (37 мужчин, 33 женщины) в возрасте от 23 до 65 лет с НАЖБП.	35 пациентов	Сylimарин по 140 мг 3 раза в день, в течение 2 месяцев	У 92% пациентов I группы отмечалось субъективное улучшение самочувствия. Выявлено достоверное снижение активности сывороточных трансаминаз: в подгруппе IA у 100% больных и в подгруппе IB у 80% больных, зафиксирована нормализация активности трансаминаз, у 20% больных – снижение трансаминаз с 3 до 1,5 нормы, у всех пациентов выявлена нормализация ГГТП. Динамики ЩФ, билирубина – не выявлено. У 4 пациентов с СД уменьшилась потребность в приеме сахароснижающих препаратов. Дополнительное применение Сylimарина в отличие от контрольной группы привело к достоверному снижению уровня общего холестерина и триглицеридов. У 4 (40%) пациентов с ЖД печени и у 5 (20%)

				виде уменьшения размеров печени. По данным УЗ-холестеографии (после пробного завтрака), сократительная функция желчного пузыря нормализовалась у 5 (11%) пациентов при его исходной гипотонии.
7. Loguercio C, Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. <i>FreeRadic. Biol.Med.</i> 2012 May 1;52(9):1658–65.	179 пациентов с НАЖБП; из которых 36 HCV-позитивны. 41 пациент выбыл, проанализированы по протоколу 138 пациентов.	69 пациентов	Силимарин 2 раза в день, 12 месяцев.	Значительное улучшение самочувствия больных, снижение концентрации инсулина в крови, НОМА и гистологических показателей. Отмечено некоторое улучшение индекса массы тела (15% против 2,1%). У HCV-позитивных пациентов в группе терапии комплексом силимарин-токоферол-ЭФЛ отмечали улучшение показателей фиброгенеза.
8. Бабаян М.Л., Хавкин А.И. Гепатопротекторная терапия при заболеваниях печени у детей, <i>Лечащий врач</i> , 01/13	9 детей (6 мальчиков и 3 девочки) в возрасте от 11 до 15 лет	9 пациентов	Силимарин в возрастной дозировке от 5 до 10 мг/кг/сут (1–3 капсулы в сут, 1 капсула 140 мг), 1,5 месяца.	При обследовании пациентов через 1,5 месяца масса тела несколько снизилась у 4 детей (57%) с ожирением. При этом средний ИМТ в данной группе детей составил $9,6 \pm 1,0$ перцентилей. При исследовании биохимических показателей выявлялось достоверное снижение активности сывороточных трансаминаз (АЛТ — $51,1 \pm 18,2$ Ед/л, АСТ — $43,5 \pm 6,6$ Ед/л). У 56% детей уровень АЛТ нормализовался, у 22% — снизился. Уровень АСТ нормализовался у 33% и 22% — снизился. Уровень ГГТП после лечения нормализовался у всех детей. ЩФ снизилась до нормы у 2 детей, билирубин — у 1-го ребенка. У остальных детей ЩФ и билирубин существенно не менялись. У 1-го ребенка с гиперлипидемией, после лечения нормализовался уровень холестерина, у 2-го — уровень триглицеридов. На фоне лечения Силимарином по УЗИ- положительная динамика в виде уменьшения размеров печени у 3 детей из 5 (60%), а у 5 детей из 9 (56%) — выявлялось улучшение ее эхогенности.
9. Tarang Taghvaei, . Efficacy of Silymarin on Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. <i>J Mazandaran Univ Med Sci</i> 2013, 23(98): 164–171	41 пациентов с НАЖБП	20 пациентов	Силимарин 140 мг 2 раза в день, 6 месяцев.	Значительное улучшение ультразвуковой картины стеатоза ($P=0.03$). Значительное снижение уровня печеночных трансаминаз (АЛТ $P=0.002$ и АСТ $P=0.01$).
10. Fulvio Sacciaruoli, Silymarin in non alcoholic fatty liver disease. <i>World J Hepatol.</i> Mar 27, 2013; 5(3): 109–113	72 пациента (40 мужчины и 32 женщины)	72 пациента	Силимарин в составе комплексного препарата витамина Е, витамин В12, глутатион (3,5 г) 2 раза в день, 3 месяца.	ИМТ значительно отличался до и после лечения у всех пациентов. Уровень глюкозы натощак снизился с $105 \pm 0,7$ мг/мл до $101 \pm 0,5$ мг/мл после курса диеты и лечения силимарином. Индекс инсулинрезистентности (НОМА-IR) изменился от $6,42 \pm 0,4$ до $5,27 \pm 1,2$, разница была незначительной. Отмечено снижение уровня общего холестерина от $205,7 \pm 9,3$ мг/дл до $200,6 \pm 8,1$ мг/дл после лечения. Уровни липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) имели тенденцию к снижению ($157,4 \pm 4,3$ и $43,6 \pm 2,1$ мг/мл до лечения и $136 \pm 1,8$ и $45,8 \pm 1,1$ мг/мл, соответственно). Уровень триглицеридов имел недостоверное снижение от $178,4 \pm 4,1$ до $155,7 \pm 3,4$ мг/мл. Тогда как, индекс атерогенности показал статистически значимые отличия ($P<0,001$) со снижением показателей от $0,71 \pm 0,07$ в начале лечения до $0,40 \pm 0,05$ после . Уровень сывороточного АЛТ статистически значимо снизился ($P<0,01$) с $109,48 \pm 4,4$ до $75,12 \pm 3,3$ Ед/л. АСТ также значительно ($P<0,05$) уменьшился от $72,39 \pm 8,4$ Ед/л до $48,65 \pm 3,2$ Ед/л). Уровень ГГТснизился от $45,51 \pm 1,2$ до $29,33 \pm 1,1$, разница достоверна ($P<0,001$). Уровень фактора некроза опухоли (TNF- α) также статистически значимо изменился ($P<0,001$). Гепаторенальный индекс снизился от $2,5 \pm 0,3$ до $1,8 \pm 0,6$. Снижение было признано значительным ($P<0,05$)

чально вся информация тщательно просматривалась. Полученные в результате систематизации данные были сведены в единую таблицу, содержащую библиографические сведения, тип выборки и число пациентов, используемые дозировки, длительность приёма препарата и описание эффективности и нежелательных явлений [4, 9].

Только исследования, в которых содержались точные количественные данные, были сохранены для дальнейшего анализа (таблица 2).

В итоге получилась выборка из 10 открытых проспективных опубликованных исследований [1, 5, 15].

При анализе представленных данных 10 открытых проспективных исследований применения силимарина у пациентов с НАЖБП в возрасте от 11 до 65 лет в дозе от 140 до 420 мг в день, курсами от 1,5 до 12 месяцев, выявлена достоверная положительная динамика клинических проявлений и лабораторных

показателей основного патологического процесса. Нежелательные явления (НЯ), как правило, носили временный характер, отмечена диарея, извращение вкуса, зуд, серьезных НЯ отмечено не было [14].

Таким образом, по результатам проведенного аналитического обзора с применением метода доказательной медицины, силимарин является достоверно эффективным и безопасным лекарственным средством у пациентов с НАЖБП.

ОБСУЖДЕНИЕ

Актуальная проблема использования лекарственных средств, обладающих гепатопротекторной активностью, у пациентов с заболеваниями печени требует осторожного и тщательно взвешенного подхода. Это связано и с увеличением количества больных, страдающих заболеваниями гепатобилиарной системы различной этиологии, и с требованиями, предъ-

являемыми современной концепцией доказательной медицины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рекомендации по назначению растительных средств (силимирина) больным неалкогольным стеатогепатозом уже имеются в ряде руководств 2010 г. по диагностике и лечению этой нозологии. В том числе, в руководстве Китайской ассоциации по изучению болезней печени [15], в рекомендациях по лечению НАЖБ для семейных врачей Канады и т.д. Анализ проведенных клинических исследований убедительно показал эффективность и безопасность приме-

нения силибинина у пациентов НАЖБП, что позволит проводить рациональную фармакотерапию этой сложной междисциплинарной проблемы.

Полученные результаты могут применяться при проведении экспертизы лекарственных средств с заявленной гепатопротекторной активностью, ранжировать препараты из группы гепатопротекторов с применением изученных критериев эффективности – безопасности, а также могут использоваться при проведении экспертизы материалов клинических исследований для оценки достоверности полученных результатов с позиций методологии доказательной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буторова ЛИ, Цибизова ТА, Калинин АВ. Возможности использования Легалона при неалкогольной жировой болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2010; 3: 86–91.
2. Юдашева ТВ, Демичева ОЮ. Метаболический синдром – основы патогенетической терапии. Лечащий врач 2003; 10: 11–17.
3. Nahum Méndez-Sánchez, Marco Arrese, Daniel Zamora-Valdés, Misael Uribe. Current Concepts in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Liver Int. 2007; 27(4): 423–433.
4. Драпкина ОМ, Гацולהва ДС, Ивашкин ВТ. Неалкогольная жировая болезнь печени как компонент метаболического синдрома. Российские медицинские вести 2010; 2: 72–78.
5. Бабаян МЛ, Хавкин АИ. Гепатопротекторная терапия при заболеваниях печени у детей. Лечащий врач 2013; 1: 80–84.
6. Минушкин ОН, Масловский ЛВ. Лечение жировой болезни печени различной этиологии: современные рекомендации. Available from: <http://www.gepatit.ru/biblioteka>.
7. Кучерявый ЮА, Морозов СВ. Гепатопротекторы: рациональные аспекты применения. М.: Форте Принт; 2012.
8. Матвеев АВ. Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени. Симферополь: ВД «АРИАЛ»; 2013.
9. Буторова ЛИ. Жирная печень: кто виноват и что делать? М.; 2012.
10. Nassuato G, Iemmolo RM et al. Effect of silibinin on biliary lipid composition. Experimental and clinical study. J Hepatol. 1991; 12: 290–295.
11. Gazák R, Walterová D, Kren V. Silybin and Silymarin – new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem. 2007; 14(3): 315–338.
12. Юрьев КЛ. Силимарин: эффекты и механизмы действия, клиническая эффективность и безопасность. Часть III. Новые эффекты и области применения. Текущие клинические испытания. Украинский медицинский журнал 2011; 2(82): 3–4.
13. Loguercio C. Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. Free Radic Biol Med 2012; 52(9): 1658–65.
14. Hajiaghahmohammadi AA. Effects of metformin, pioglitazone and silymarin treatment on non-alcoholic Fatty liver disease: a randomized controlled pilot study. Hepat Mon. 2012; 12(8): e6099.
15. A Fan JG, Jia JD, Li YM et al. Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: update 2010. J Dig Dis. 2011; 12(1): 38–44.

ОБ АВТОРАХ:

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

Журавлева Марина Владимировна. Заместитель директора Центра клинической фармакологии, д-р мед. наук.

Сереброва Светлана Юрьевна. Начальник отдела профилактики и фармакоэкономики нежелательных лекарственных реакций, д-р мед. наук.

Горбольница № 3, Российская Федерация, 124489, Зеленоград, Каштановая аллея, 2, стр.

Каменева Татьяна Рудольфовна. Врач – клинический фармаколог, канд. мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Журавлева Марина Владимировна; mvzhuravleva@mail.ru

Статья поступила 29.05.2014 г.

REFERENCES

1. Butorova LI, Tsibizova TA, Kalinin AV. The possibilities of using legalon for nonalcoholic fatty liver disease. Eksperimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya 2010; 3: 86–91 (in Russian).
2. Yudasheva TV, Demicheva OYu. Metabolic syndrome – the basis of pathogenetic therapy. Lechaschiy vrach 2003; 10: 11–17 (in Russian).
3. Nahum Méndez-Sánchez, Marco Arrese, Daniel Zamora-Valdés, Misael Uribe. Current Concepts in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Liver Int. 2007; 27(4): 423–433.
4. Drapkina OM, Gatsolaeva DS, Ivashkin VT. Nonalcoholic fatty liver disease as a component of the metabolic syndrome. Rossiyskie meditsinskie vesti 2010; 2: 72–78 (in Russian).
5. Babayan ML, Havkin AI. Hepatoprotective therapy for liver diseases in children. Lechaschiy vrach 2013; 1: 80–84 (in Russian).
6. Minushkin ON, Maslovskiy LV. Treatment of fatty liver disease of various etiologies: current recommendations. Available from: <http://www.gepatit.ru/biblioteka> (in Russian).
7. Kucheryavy YuA, Morozov SV. Hepatoprotectors: rational aspects of using. Moscow: Forte Print; 2012 (in Russian).
8. Matveev AV. Hepatoprotectors. Analysis of international research on drug groups of drugs for the liver. Simferopol: VD «ARIAL»; 2013 (in Russian).
9. Butorova LI. Буторова ЛИ. Fatty liver: who is blame and what should we do? Moscow; 2012 (in Russian).
10. Nassuato G, Iemmolo RM et al. Effect of silibinin on biliary lipid composition. Experimental and clinical study. J Hepatol. 1991; 12: 290–295.
11. Gazák R, Walterová D, Kren V. Silybin and Silymarin – new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem. 2007; 14(3): 315–338.
12. Yuriev KL. Silymarin: Effects and mechanisms of action, clinical effectiveness and safety. Part III. New effects and applications. Current clinical trials. Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal 2011; 2(82): 3–4 (in Russian).
13. Loguercio C. Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. Free Radic Biol Med 2012; 52(9): 1658–65.
14. Hajiaghahmohammadi AA. Effects of metformin, pioglitazone and silymarin treatment on non-alcoholic Fatty liver disease: a randomized controlled pilot study. Hepat Mon. 2012; 12(8): e6099.
15. A Fan JG, Jia JD, Li YM et al. Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: update 2010. J Dig Dis. 2011; 12(1): 38–44.

AUTHORS:

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

Zhuravleva MV. Deputy director of Clinical Pharmacology Center. Doctor of Medical Sciences.

Serebrova SYu. Head of Division of prophylaxis and pharmacoconomics of adverse drug reactions. Doctor of Medical Sciences.

City Hospital № 3, 2/1 Kashtanovaya Alley, Zelenograd, 124489, Russian Federation.

Kameneva TR. Physician-clinical pharmacologist. Candidate of Medical Sciences.

Принята к печати 02.06.2014 г.

Современные подходы в лечении ВИЧ-инфицированных больных

Н.Н. Еременко, А.И. Губенко, А.И. Зебрев, И.В. Лысикова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: За более чем 25-летнюю историю развития антиретровирусной терапии акцент в целях лечения ВИЧ-инфицированных пациентов сместился. Ранее основным приоритетом в лечении ВИЧ-инфекции было достижение эффективности, в том числе в ущерб безопасности и удобству режима терапии. В настоящее время основные требования к антиретровирусным препаратам это: приемлемая стоимость, хорошая переносимость и удобство приема, хорошая долгосрочная переносимость и высокий барьер к резистентности. В статье представлены современные препараты для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции, приведен перечень препаратов для лечения данной патологии, зарегистрированных на сегодняшний день в России, согласно официальному portalу Государственного реестра лекарственных средств. В 2013 г. было опубликовано Руководство по использованию антиретровирусных препаратов для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции ВОЗ, пересмотр 2013 года. Ключевые изменения, содержащиеся в новом руководстве, касаются раннего начала антиретровирусной терапии для всех групп населения; немедленного начала терапии у детей в возрасте до 5 лет и у беременных и кормящих женщин; введено понятие единого предпочтительного режима для начала лечения у лиц, впервые получающих антиретровирусную терапию; использован параметр вирусной нагрузки в качестве предпочтительного подхода для оценки эффективности антиретровирусной терапии; для всех ВИЧ-инфицированных в серодискордантных парах, имеющих сексуальные отношения, антиретровирусная терапия начинается вне зависимости от иммунного статуса и вирусной нагрузки. В России в 2013 году были опубликованы «Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых», в которых обновлена информация по диагностике и лечению ВИЧ-инфицированных пациентов согласно научно обоснованной информации об опыте клинического применения антиретровирусных препаратов и обновленных рекомендаций ВОЗ.

Ключевые слова: ВИЧ; антиретровирусная терапия (АРВТ); высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ); вирусная нагрузка.

MODERN APPROACHES TO THE TREATMENT OF HIV-POSITIVE PATIENTS

N.N. Eremenko, A.I. Gubenko, A.I. Zebrev, I.V. Lysikova

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: For more than 25-year of antiretroviral therapy the focus of treating HIV-infected patients has changed. Previously, the main priority in the treatment of HIV infection was to achieve efficacy, even at the expense of the security and treatment regimen convenience. At the moment, there are certain basic requirements to antiretroviral preparations: reasonable cost, good tolerance and treatment regimen convenience, good long-term tolerance and resistance barrier. The present article describes contemporary drugs for the treatment and prevention of HIV infection and provides a list of drugs for the treatment of the mentioned disease, authorized in the Russian Federation, according to the official portal of the State Register of Medicines. In 2013 a Guideline on the administration of antiretroviral drugs for the treatment and prevention of HIV, WHO revision 2013 was published. Key changes reflected in the new Guideline deal with early initiation of antiretroviral therapy for all population groups; immediate initiation of therapy in children aged under 5 and pregnant and lactating women; a new term - single preferred regimen for the initiation of treatment in individuals receiving antiretroviral therapy – was introduced for the first time; the parameter of viral load was used as a preferred approach for evaluating the efficacy of antiretroviral therapy; for all HIV-infected serodiscordant couples having sexual relationships the antiretroviral therapy is being initiated regardless their immune status and viral load. In Russia in 2013 it was published the «National clinical guidelines for diagnosis and treatment of HIV infection in adults», which contains the updated information on the diagnosis and treatment of HIV-infected patients according to the evidence-based information about the clinical experience of using antiretroviral drugs and updated WHO recommendations.

Key words: HIV; antiretroviral therapy (ART); highly active antiretroviral therapy (HAART); the viral load.

ВИЧ-инфекция – инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека (*human immunodeficiency virus infection – HIV-infection*). ВИЧ-инфекция – медленно прогрессирующее антропонозное заболевание с контактным путем передачи, характеризующееся специфическим поражением иммунной системы с развитием синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). Клинические проявления СПИДа, приво-

дящие к гибели инфицированного человека – оппортунистические (вторичные) инфекции, злокачественные новообразования и аутоиммунные процессы [11].

Своевременное применение препаратов, подавляющих размножение ВИЧ, в схемах высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) в сочетании с профилактикой и лечением вторичных заболеваний позволяет восстановить иммунную систему, пред-

упредить развитие оппортунистических заболеваний (или привести к их исчезновению, если они уже появились), сохранить трудоспособность и улучшить качество жизни людей, зараженных ВИЧ [1].

Первой научной публикацией по ВИЧ считается сообщение о случаях пневмоцистной пневмонии и саркомы Капоши в еженедельном отчете о заболеваемости и смертности Центров по контролю и профилактике заболеваемости США, вышедшем 5 июня 1981 года [2].

Два года спустя в двух лабораториях, во Франции и в США, открыли вирус иммунодефицита человека. Через четверть века, в 2008 году, французы Люк Монтань и Франсуаза Барре-Синусии за свое открытие удостоились Нобелевской премии по физиологии и медицине [2].

В 1986 году прошло первое клиническое испытание препарата азидотимидина (*azidothymidine, AZT*), в настоящее время известного как зидовудин. Это вещество подавляло процесс обратной транскрипции вирусной РНК и стало первым препаратом, успешно применяющимся в терапии ВИЧ. Однако вскоре выяснилось, что прием исключительно *AZT* достаточно быстро приводит к лекарственной устойчивости. В настоящее время зидовудин применяется как один из компонентов ВААРТ [2].

В 1991 году *FDA* одобрила к применению второй антиретровирусный препарат – диданозин [3]. В середине года третий антиретровирусный препарат залцитабин был одобрен *FDA* для применения у пациентов с непереносимостью зидовудина [3].

В 1992 году *FDA* одобрила применение зальцитабина в комбинации с зидовудином для взрослых пациентов с ВИЧ-инфекцией в далеко зашедшей стадии, у которых сохранялись признаки прогрессирующего разрушения иммунной системы. Это было первым успешным опытом использования комбинированной терапии ВИЧ-инфекции/СПИДа [3].

В 1993 году впервые были зарегистрированы больные СПИДом с вирусом, устойчивым к зидовудину, несмотря на то, что они никогда не принимали данный препарат. Специалисты предположили, что некоторые пациенты, возможно, получили вирус от больных, получавших лечение зидовудином и ставших источником передачи резистентного, устойчивого к лечению вируса [3].

Препарат ламивудин был одобрен *FDA* в США и Федеральным агентством здравоохранения Канады в качестве альтернативы у больных СПИДом, не ответивших на лечение другими препаратами или не подходящих для клинических исследований [3].

В 1994 году *FDA* был одобрен к применению препарат ставудин [3].

В 1995 году был одобрен второй класс препаратов – ингибиторы протеазы (ИП), и *FDA* был одобрен ламивудин в комбинации с зидовудином [3].

В 1996 году на очередной международной конференции по ВИЧ и СПИДу был представлен доклад о

результатах терапии тремя разнонаправленными антиретровирусными препаратами, что позволило добиться длительного и уверенного снижения вирусной нагрузки до неопределяемого уровня. Так появилась высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ), которая используется в настоящее время для лечения ВИЧ-инфицированных больных.

ВААРТ представляет комбинацию трех и более антиретровирусных препаратов с различными механизмами действия (точками приложения). Этот термин относится к любой схеме антиретровирусной терапии (АРВТ), которая способна подавить репликацию ВИЧ до неопределяемых в полимеразной цепной реакции уровней и поддерживать такое состояние в течение многих месяцев и лет у значительного числа больных. Достаточно быстро выяснилось, что ВААРТ подавляет вирус, но не может полностью вывести его из организма, а отмена препаратов снова приводит к увеличению вирусной нагрузки. Поэтому препараты ВААРТ назначаются пожизненно.

За более чем 25-летнюю историю развития антиретровирусной терапии акцент в целях лечения сместился. Ранее основным приоритетом в лечении ВИЧ-инфекции было достижение эффективности, в том числе в ущерб безопасности и удобству режима терапии [2].

С 1987 года к 2013 году постепенно расширялись требования к антиретровирусным препаратам, добавлялись: приемлемая стоимость, далее – хорошая переносимость и удобство приема, далее – хорошая долгосрочная переносимость, удобство приема и высокий барьер к резистентности [4].

По данным многочисленных клинических исследований большое количество различных режимов антиретровирусной терапии проявляют сопоставимо высокую эффективность – от 70% и выше [2].

Во всех случаях терапия должна быть комбинированной и соответствовать разработанному строгим схемам, что позволяет предотвратить развитие резистентности [4].

Одной из наиболее существенных проблем в комбинированной терапии является приверженность пациентов лечению, то есть насколько правильно пациент следует рекомендациям врача по применению схем лечения. В настоящее время схем АРВТ довольно много, так как используется более 20 препаратов 5 классов. Большинство комбинаций лекарственных препаратов для лечения ВИЧ-инфекции близки по эффективности. Однако чем меньше таблеток получает пациент, чем меньше кратность приема препаратов и зависимость от приема пищи или жидкости, чем лучше пациент выполнит назначенную врачом схему лечения, тем лучше будет эффект. Пропуск приема дозы препаратов может обусловить развитие устойчивости вируса к лекарственным препаратам. В этом случае терапия будет неэффективной, и врач будет вынужден заменить один или даже все антиретровирусные препараты, составляющие данную схему [5, 6].

По словам руководителя Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом В.В. Покровского, современный уровень антиретровирусной терапии достаточно высокий, арсенал лекарственных препаратов всё время увеличивается [2].

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Зарегистрированные в Российской Федерации препараты для лечения ВИЧ инфекции представлены в таблицах 1–5 (только действующие регистрационные удостоверения по данным на февраль 2014

года), применяемые для профилактики – далее в тексте. Информация получена из базы данных «Реестр зарегистрированных лекарственных средств» (БД «РЗЛС»), которая ведется в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России и содержит информацию о регистрации лекарственных средств за все годы существования системы электронного учета процесса регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения в России, и с официального портала Государственного реестра лекарственных средств [7].

Таблица 1

ПРЕПАРАТЫ – НУКЛЕОЗИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ

МНН	Оригинальный препарат	Воспроизведенные препараты	
		Отечественные*	Зарубежные*
абакавир	Зиаген таблетки, покрытые оболочкой 300 мг раствор для приема внутрь 20 мг/мл	Абакавир-АБС Олитид	нет
диданозин	Видекс капсулы кишечнорастворимые 125 мг, 250 мг, 400 мг порошок для приготовления раствора для приема внутри для детей 2 г	нет	Диданозин
зидовудин	Ретровир капсулы 100 мг раствор для инфузий 10 мг/мл раствор для приема внутрь 50 мг/5 мл	Тимазид (Азидотимидин), Зидо-Эйч, Азидотимидин (Тимазид) в капсулах 0,1 г, Тимазид, Зидовудин-Ферейн, Зидовудин, Азидотимидин, Зидовирин, Азимитем	Виро-Зет, Зидовудин
ламивудин	Эпивир таблетки, покрытые пленочной оболочкой 150 мг, 300 мг раствор для приема внутрь 10 мг/мл	Зеффикс Ламивудин-ЗТС	Виролам Гептавир-150 Ламивудин
ставудин	Зерит капсулы 30 мг, 40 мг порошок для приготовления раствора для приема внутри 1 мг/мл	Веро-Ставудин Ставудин	Актастав Стаг Вудистав
тенофовир	Виреад таблетки, покрытые пленочной оболочкой 300 мг	нет	Тенофовир
фосфазид	Никавир Таблетки 200 мг	нет	нет

Примечания: * – здесь и далее в таблицах указаны торговые наименования препаратов

Таблица 2

КОМБИНИРОВАННЫЕ ПРЕПАРАТЫ – НУКЛЕОЗИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ

МНН	Оригинальный препарат	Воспроизведенные препараты	
		Отечественные	Зарубежные
зидовудин+ламивудин	Комбивир таблетки, покрытые оболочкой 300 мг+150 мг	нет	Вирокомб
абакавир+ зидовудин+ ламивудин	Тризивир таблетки, покрытые оболочкой 300 мг+150 мг+300 мг	нет	нет
абакавир+ламивудин	Кивекса таблетки, покрытые пленочной оболочкой 600 мг+300 мг	нет	нет
зидовудин+ламивудин+ невирапин	Зидолам-Н таблетки, покрытые пленочной оболочкой 300 мг+150 мг+200 мг	нет	нет

Таблица 3

ПРЕПАРАТЫ – НЕНУКЛЕОЗИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ

МНН	Оригинальный препарат	Воспроизведенные препараты	
		Отечественные	Зарубежные
невирапин	Вирумун таблетки 200 мг суспензия для приема внутрь 50 мг	нет	Невирапин
этравирин	Интеленс таблетки 100 мг	нет	нет
эфавиренз	Стокрин таблетки, покрытые пленочной оболочкой 200 мг и 600 мг	нет	нет

Таблица 4

ПРЕПАРАТЫ – ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕАЗЫ

МНН	Оригинальный препарат	Воспроизведенные препараты	
		Отечественные	Зарубежные
саквинавир	Инвираса таблетки, покрытые оболочкой 500 мг	нет	нет
ритонавир	Норвир капсулы мягкие 100 мг таблетки, покрытые пленочной оболочкой 100 мг	Ринвир Ритонавир	Ритонавир-100
индинавир	Криксиван капсулы 200, 400 мг	нет	нет
нелфинавир	Вирасепт порошок для приема внутрь 50 мг/г таблетки, покрытые оболочкой 250 мг	Лирасепт	нет
атазанавир	Реатаз капсулы 150, 200, 300 мг		
фосампренавир	Телзир таблетки, покрытые оболочкой 700 мг суспензия для приема внутрь 50 мг/мл	нет	нет
типранавир	Аптивус капсулы 250 мг	нет	нет
дарунавир	Презиста таблетки, покрытые пленочной оболочкой 75, 150, 400, 600 мг	нет	нет

Таблица 5

ПРЕПАРАТЫ – ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕАЗЫ, КОМБИНИРОВАННЫЕ ПРЕПАРАТЫ; ИНГИБИТОРЫ ИНТЕГРАЗЫ; ИНГИБИТОРЫ СЛИЯНИЯ; ИНГИБИТОРЫ РЕЦЕПТОРОВ

МНН	Оригинальный препарат
Ингибиторы протеазы, Комбинированные препараты – лопинавир+ритонавир	Калетра раствор для приема внутрь 80 мг+20 мг/мл таблетки, покрытые пленочной оболочкой 200 мг+50 мг и 100 мг+ 25мг
Ингибиторы интегразы – ралтегравир	Исентресс таблетки, покрытые пленочной оболочкой 400 мг
Ингибиторы слияния – энфувиртид	Фузеон лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения 90 мг/мл
Ингибиторы рецепторов – маравирок	Целзентри таблетки, покрытые пленочной оболочкой 150 мг, 300 мг

**ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ
ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**

Постконтактная профилактика заражения ВИЧ.
После эпидемически значимого контакта с больным ВИЧ-инфекцией с целью предотвращения заражения

рекомендуется проведение постконтактной химио-профилактики антиретровирусными препаратами [1].

Предпочтительная схема постконтактной профилактики: зидовудин+ламивудин (табл. 1,2)+препарат из группы ингибиторов протеазы ВИЧ (лопинавир/ри-

тонавир) (табл.5). Препараты назначаются в стандартной дозировке, курс химиопрофилактики 1 мес [1].

Указание на использование для постконтактной профилактики заражения ВИЧ имеется в инструкции на препарат, носящий МНН фосфазид (табл.1).

Профилактика передачи ВИЧ от матери к плоду.

Указание на использование для профилактики передачи ВИЧ от матери к плоду имеется в инструкции на препараты с МНН – зидовудин и невирапин.

В июле 2013 г. на 7-ой Конференции по патогенезу, лечению и профилактике *International AIDS Society (IAS)* в Куала-Лумпуре, Малайзия широкой общественности было представлено Руководство по использованию антиретровирусных препаратов для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции ВОЗ, пересмотр 2013 года [8–10]. Предыдущий пересмотр этого ключевого руководства был в 2010 году.

Ключевые изменения, содержащиеся в новом руководстве [8]:

- раннее начало антиретровирусной терапии для всех групп населения – начало лечения при достижении уровня *CD4*-лимфоцитов 500 и менее клеток/мкл;
- немедленное начало терапии у детей в возрасте до 5 лет, для детей старше 5 лет предложено применять тот же принцип, что и у взрослых – иммунный статус (ИС) ≤ 500 *CD4*-клеток/мкл;
- немедленное начало терапии у беременных и кормящих женщин с возможностью отмены терапии после окончания периода риска вертикальной передачи ВИЧ-инфекции, и продолжение терапии у женщин, соответствующих общим критериям начала терапии;
- вводится понятие единого предпочтительного режима для начала лечения у лиц, впервые получающих антиретровирусную терапию. Режим первой линии включает комбинацию тенофовира, эфавиренза и третьего препаратом на выбор является эмтрицитабин или ламивудин (*TDF/XTC/EFV*);
- использование параметра вирусной нагрузки (ВН) в качестве предпочтительного подхода для оценки эффективности антиретровирусной терапии;
- начало антиретровирусной терапии вне зависимости от ИС и ВН для всех ВИЧ-инфицированных в серодискордантных парах, имеющих сексуальные отношения.

Всемирная организация здравоохранения рекомендует использовать комбинированные препараты с фиксированными дозами «все в одном один раз в день» [8].

Основываясь на исследованиях последних лет, эксперты ВОЗ предлагают использовать режимы на базе эфавиренза у беременных женщин, указывая, что таковая терапия не несет возникновения дополнительных рисков для плода [8].

На сегодняшний день эфавиренз имеет в большинстве стран официальное ограничение применения у женщин в первом триместре беременности и до того, пока не будут внесены соответствующие изменения. В Российской Федерации нет формаль-

ных препятствий к назначению эфавиренза в первый триместр, хотя текущая редакция инструкции по медицинскому применению эфавиренза (препарат Стокрин) содержит следующую информацию: «Если женщина принимает эфавиренз во время первого триместра беременности или беременность наступает во время применения эфавиренза, она должна быть предупреждена о потенциальной вреде для плода».

Общие принципы включают рекомендации внедрения территориальных принципов консультирования с акцентом на группы повышенного риска: мужчины, практикующие секс с мужчинами, потребители инъекционных наркотиков, мигранты, секс-работники. В качестве одного из направлений минимизации издержек ВОЗ рекомендует развивать равное консультирование, использовать новые технологии, например, СМС-уведомления для повышения уровня приверженности к терапии [8].

По прогнозам ВОЗ, введение новых критериев начала терапии увеличит число лиц, нуждающихся в начале лечения, в мире на 26 миллионов человек в 2013 году, что примерно на 50% больше, чем число людей, для которых была необходима терапия при старых критериях начала. Сегодня ВОЗ оценивает экономический эффект предупреждения каждого нового случая ВИЧ-инфекции в 6000 долларов США. Эксперты Всемирной организации здравоохранения заявляют, что широкое глобальное введение принципов, отраженных в обновленном Руководстве, должно спасти дополнительно 3 миллиона жизней и предотвратить 3,5 млн случаев инфицирования в последующие 12 лет, при том, что для претворения в жизнь положений нового Руководства потребуется лишь 10% увеличение общих расходов на борьбу с ВИЧ-инфекцией и СПИД [8–10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обновленные рекомендации ВОЗ основаны на фактических данных, свидетельствующих о том, что более раннее начало лечения ВИЧ-инфекции безопасными, доступными по стоимости и простыми для использования лекарственными средствами может способствовать как поддержанию здоровья пациентов, так и уменьшению количества вирусов в крови, что снижает риск передачи инфекции другим людям. Если страны смогут учесть эти изменения в своей национальной политике в отношении лечения и профилактики ВИЧ-инфекции и подкрепить их необходимыми ресурсами, они получат значительные преимущества с точки зрения общественного здравоохранения и здоровья отдельных людей [9]. В Российской Федерации в 2013 году были опубликованы «Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых», в которых обновлена информация по диагностике и лечению ВИЧ-инфицированных пациентов согласно научно обоснованной информации об опыте клинического применения антиретровирусных препаратов и обновленных рекомендаций ВОЗ [11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Покровский ВВ, ред. ВИЧ-инфекция и СПИД: клинические рекомендации. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
2. Report of the NIH Panel To Define Principles of Therapy of HIV Infection. *Ann Intern Med* 1998; 128: 1057–78.
3. По материалам книги «Лечение ВИЧ-инфекции». Available from: AIDS.ru.
4. Розенберг ВЯ. Высокоактивная антиретровирусная терапия (БААРТ). Available from: http://www.spidcentr38.com/userfiles/file/konf_26_04_13/%D0%A0%D0%BE%D0%B7%D0%B5%D0%BD%D0%B1%D0%B5%D1%80%D0%B3%20%20%D0%92%D0%90%D0%90%D0%A0%D0%A2.pdf.
5. Покровский ВВ, Юрин ОГ, Суворова ЗК, Буравцова ЕВ, Деулина МО. Методические указания по организации лечебно-диагностической помощи и диспансерного наблюдения за больными ВИЧ-инфекцией и СПИДом. Приложение 1 к приказу Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Российской Федерации № 170 от 16.08.1994 года.
6. Paterson DL, Swindells S, Mohr J et al. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Annals of Internal Medicine* 2000; 133(1): 21–30.
7. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/>.
8. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85321/1/9789241505727_eng.pdf.
9. Available from: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/new_hiv_recommendations_20130630/en/index.html.
10. Available from: <http://blog.ias2013.org/post/New-WHO-Guidelines-.aspx>.
11. Мазус АИ, Каминский ГД, Зиминова ВН и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции взрослых. М.; 2013. Available from: http://www.spid.ru/pub/entity/Spid_Hashed_ByCategories_Article/82506/pdf/1.pdf

ОБ АВТОРАХ:

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

Еременко Наталья Николаевна. Ведущий эксперт Управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств. Канд. мед. наук.

Губенко Анна Игоревна. Главный эксперт Управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.

Зебрев Александр Иванович. Начальник Управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств. Канд. мед. наук.

Лысикова Ирина Викторовна. Заместитель начальника Управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Губенко Анна Игоревна; Gubenko@expmed.ru.

Статья поступила 27.02.2014 г.

REFERENCES

1. Pokrovsky VV, ed. HIV infection and AIDS: clinical recommendations. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian).
2. Report of the NIH Panel To Define Principles of Therapy of HIV Infection. *Ann Intern Med* 1998; 128: 1057–78.
3. Based on the book «Treatment of HIV Infection». Available from: AIDS.ru (in Russian).
4. Rosenberg VYa. Highly active antiretroviral therapy (HAART) (in Russian). Available from: http://www.spidcentr38.com/userfiles/file/konf_26_04_13/%D0%A0%D0%BE%D0%B7%D0%B5%D0%BD%D0%B1%D0%B5%D1%80%D0%B3%20%20%D0%92%D0%90%D0%90%D0%A0%D0%A2.pdf.
5. Pokrovsky VV, Yurin OG, Suvorova ZK, Buravtsova EV, Deulina MO. Methodological guidelines for the organization of medical diagnostic care and clinical supervision for HIV infection and AIDS. Appendix 1 to the order of the Ministry of Health and Medical Industry of the Russian Federation № 170, 16.08.1994 (in Russian).
6. Paterson DL, Swindells S, Mohr J et al. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Annals of Internal Medicine* 2000; 133(1): 21–30.
7. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/>.
8. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85321/1/9789241505727_eng.pdf.
9. Available from: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/new_hiv_recommendations_20130630/en/index.html.
10. Available from: <http://blog.ias2013.org/post/New-WHO-Guidelines-.aspx>.
11. Mazus AI, Kaminsky GD, Zimina VN et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of HIV infection of adult patients. Moscow; 2013. Available from: http://www.spid.ru/pub/entity/Spid_Hashed_ByCategories_Article/82506/pdf/1.pdf (in Russian).

AUTHORS:

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

Eremenko NN. Leading expert of expertise office of medicines № 1 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Candidate of Medical Sciences.

Gubenko AI. Chief expert of expertise office of medicines № 1 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products.

Zebrev AI. Head of expertise office of medicines № 1 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Candidate of Medical Sciences.

Lysikova IV. Deputy chief of expertise office of medicines № 1 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products.

Принята к печати 18.03.2014 г.

Значение патентно-информационных исследований в планировании и оценке результатов научной деятельности государственного учреждения

А.А. Елапов, Н.В. Коробов, А.Н. Миронов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Работа научного учреждения в рамках существующей нормативно-правовой базы оценивается по ряду формализованных показателей, в том числе по публикационной активности сотрудников и количеству объектов интеллектуальной собственности. Патентно-информационный поиск является важным инструментом, используемым для создания и оценки материалов, влияющих на результативность деятельности научной организации. Результаты патентно-информационного поиска востребованы при подготовке рукописей статей, монографий, тезисов докладов, описаний заявок на объекты интеллектуальной собственности – изобретений, полезных моделей. Игнорирование возможностей патентно-информационного поиска приводит к затрудненной регистрации объектов интеллектуальной собственности или полной невозможности их регистрации. Проведение поиска может способствовать выявлению объектов интеллектуальной собственности, созданных сотрудниками учреждения при выполнении своих трудовых обязанностей, но зарегистрированных на частное лицо или группу лиц, что дает основание предположить наличие возможного конфликта интересов.

Ключевые слова: результаты научной деятельности; интеллектуальная собственность; патентно-информационный поиск; базы данных.

THE IMPORTANCE OF PATENT INFORMATION RESEARCH IN ASSESSING THE RESULTS OF A STATE INSTITUTION SCIENTIFIC ACTIVITY

A.A. Elapov, N.V. Korobov, A.N. Mironov

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: The activities of a scientific institution within the existing legal framework is evaluated according to the number of formal parameters, including the publication activities of employees and the number of objects of intellectual property. Patent and information search is an important tool to develop and evaluate materials affecting the efficiency of the activities of a scientific organization. The results of patent and information search are in demand when preparing manuscripts, monographs, abstracts, descriptions of applications for intellectual property - inventions, utility models. Ignoring the opportunities of patent and information search leads to additional difficulties when registering intellectual property objects or makes the registration impossible. Performing the search can help to identify the objects of intellectual property developed by the employees of the institution when carrying out their employment duties, but registered for an individual or a group of individuals, which allows to presume a possible conflict of interests.

Key words: the results of scientific activities; intellectual property; patent and information search; databases.

В настоящее время деятельность научного учреждения в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 8 апреля 2009 г. № 312 оценивается по ряду формализованных показателей [1]. После вступления этого постановления в силу в Минобрнауки России была разработана типовая методика оценки результативности научных организаций в виде соответствующих методических рекомендаций, введенных в действие приказом Минобрнауки России от 14 октября 2009 г. № 406 [2]. Правоприменительная практика положений этих нормативно-правовых документов обобщена в ряде публикаций [3, 4, 5]. При разработке Приказа Минздравсоцразвития России от 26 августа 2010 г. N 738н [6] учитывались вышеуказанные Постановления Правительства и Приказ Минобрнауки России. Согласно Приказу, при оценке научной работы учреждения наибольшее значение имеют несколько основных показателей, а именно научный потенциал, публикационная активность и наличие объектов интеллектуальной собственности.

Целью работы являлось показать значение и особенности патентно-информационных исследований для повышения качества научной работы в научном государственном учреждении системы здравоохранения с учетом опыта ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (далее – Учреждение).

ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНКИ НАУЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА И ЭФФЕКТИВНОСТИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ УЧРЕЖДЕНИЯ

Общая характеристика научного потенциала учреждения складывается из следующих показателей [6]:

- удельный вес внутренних затрат на исследования и разработки в общем объеме выполненных научной организацией работ, услуг (%);
- внутренние затраты на исследования и разработки, отнесенные к численности исследователей (тыс. рублей/чел.);
- число защищенных за период оценки работниками научной организации докторских и кандидат-

ских диссертаций, отнесенное к численности исследователей;

– перечень государственных и международных премий, призов, наград, почетных званий, полученных научной организацией или отдельными ее работниками за период оценки.

Публикационная активность включает:

– число публикаций работников научной организации в Российском индексе научного цитирования (далее – РИНЦ), отнесенное к численности исследователей (за каждый год из последних пяти лет, начиная с года, предшествующего текущему);

– цитируемость работников научной организации в РИНЦ (общее число ссылок на публикации работников научной организации в РИНЦ (за каждый год из последних пяти лет, начиная с года, предшествующего текущему, отнесенное к численности исследователей научной организации в году, предшествующем текущему).

– число публикаций работников научной организации в Web of Science, отнесенное к численности исследователей (число публикаций за последние пять лет – сумма, начиная с года, предшествующего текущему).

– численность исследователей в году, предшествующем текущему.

– цитируемость работников научной организации в Web of Science (общее число ссылок на публикации работников научной организации в Web of Science (сумма за последние пять лет, начиная с года, предшествующего текущему, отнесенное к численности исследователей научной организации в году, предшествующем текущему).

– импакт-фактор публикаций работников научной организации в Web of Science (число публикаций работника научной организации в журнале, зарегистрированном в Web of Science (за каждый год из последних пяти лет, начиная с года, предшествующего текущему), умножается на импакт-фактор данного журнала в соответствующем году; сумма полученных значений (по годам, работникам и журналам) делится на общее (за последние пять лет) число публикаций работников научной организации в Web of Science);

– число опубликованных докладов, тезисов докладов, представленных работниками научной организации на крупных конференциях, симпозиумах и чтениях (более 150 участников), а также конференциях, организованных в соответствии с планами федеральных органов исполнительной власти, государственных академий наук или на средства российских и международных фондов (включая РФФИ и РГНФ), отнесенное к численности исследователей;

– число монографий и глав в монографиях, учебников и глав в учебниках, отнесенное к численности исследователей.

Для характеристики публикационной активности учреждения также учитываются количество опубликованных работ в рейтинговых журналах (рейтинговым

считается журнал, имеющий индекс цитируемости в РИНЦ не ниже 0,3. Например, журнал «БИОпрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение» имеет индекс цитируемости за пятилетний период 0,354) и суммарный индекс Хирша всех сотрудников учреждения, имеющих печатные работы, за определенный период. Все эти показатели можно найти и проверить в разделе «авторский указатель» научной электронной библиотеки (<http://elibrary.ru/authors.asp>).

К показателям «*объекты интеллектуальной собственности*» относят:

– число охраняемых объектов интеллектуальной собственности, принадлежащих научной организации, отнесенное к численности исследователей;

– число отечественных и зарубежных патентов (свидетельств) на объекты интеллектуальной собственности, полученных научной организацией и ее работниками за период оценивания, отнесенное к численности исследователей.

Для оценки показателя «*объекты интеллектуальной собственности*» следует учитывать количество выявленных и поданных на регистрацию в ФГБУ «Федеральный институт промышленной собственности» (ФГБУ ФИПС) объектов интеллектуальной собственности, созданных в рамках деятельности научной организации. При этом заявка на регистрацию объекта интеллектуальной собственности может содержать несколько объектов, связанных единым изобретательским замыслом (характерно для изобретений и полезных моделей).

В рамках деятельности Учреждения могут быть созданы следующие объекты интеллектуальной собственности:

а) изобретения и полезные модели:

▪ способы лечения;

▪ фармацевтические комбинации;

▪ способы определения компонентов лекарственных средств;

▪ способы контроля качества лекарственных средств;

▪ стандартные образцы;

▪ средства идентификации для лекарственных средств;

б) объекты авторского права:

▪ программы для ЭВМ;

▪ базы данных.

Количество отечественных и зарубежных патентов (свидетельств) на объекты интеллектуальной собственности. Патент – это документ, удостоверяющий авторство и исключительное право на объект интеллектуальной собственности. Патент может быть получен как на имя учреждения, так и на имя автора-изобретателя, если возможность регистрации объекта интеллектуальной собственности была передана автору. Патент (свидетельство о регистрации) выдается после завершения всех этапов экспертизы объектов интеллектуальной собственности (количество этапов экспертизы и объем критериев оценки

объекта интеллектуальной собственности зависит от вида интеллектуальной собственности).

Патентные документы подразделяются на следующие типы: патент на изобретение (срок действия 20 лет), патент на полезную модель (срок действия 10 лет), патент на промышленный образец (срок действия 15 лет). Для патентов на изобретения в области фармации предусмотрена возможность продления, не более пяти лет, необходимых для регистрации лекарственного препарата. На объекты авторского права выдаются авторские свидетельства, срок действия которых составляет весь срок жизни автора плюс 70 лет после его смерти (для группы авторов – до смерти последнего из живых авторов и плюс 70 лет после его смерти).

Патент (авторское свидетельство) является публикацией, входящей в список ВАК, что необходимо знать соискателю ученой степени кандидата и доктора наук.

ПАТЕНТНО-ИНФОРМАЦИОННЫЙ ПОИСК КАК НЕОБХОДИМЫЙ ИНСТРУМЕНТ ПРИ СОЗДАНИИ ОБЪЕКТОВ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

Для выявления созданных сотрудниками учреждения в процессе исполнения своих трудовых обязанностей служебных объектов интеллектуальной собственности (статья 1370 части IV ГК РФ) наибольшее значение отводится патентно-информационному поиску. Объекты интеллектуальной собственности могут быть выявлены в предлагаемых для открытой печати рукописях, в отчетах о выполненной научно-исследовательской работе, а также при анализе аннотаций к диссертационным работам аспирантов и соискателей ученых степеней. Научная новизна исследований подтверждается отсутствием опубликованных патентных документов как в России, так и за ее пределами. Наличие патентных документов устанавливается путем проведения патентно-информационного поиска как в электронных базах данных, так и в ручном режиме по фондам Всероссийской патентно-технической библиотеки на бумажном носителе (с 2012 года публикация патентных документов крупными патентными ведомствами прекращена, документы публикуются только в электронном виде). Патентно-информационный поиск как вид исследований целесообразно проводить при утверждении темы научной работы.

Объекты интеллектуальной собственности могут быть предложены и сформулированы в материалах, представленных авторами для регистрации в ФГБУ ФИПС.

Авторам научных публикаций следует иметь в виду, что досрочная публикация рукописи, содержащей новые сведения, которые потенциально могут стать объектом интеллектуальной собственности, вызывает существенные затруднения при последующей за публикацией регистрации в ФГБУ ФИПС. В соот-

ветствии с действующим законодательством (часть 4 ГК РФ) в случае, если коллектив авторов в опубликованной рукописи и в регистрируемом объекте интеллектуальной собственности совпадает, авторы имеют льготу 6 месяцев для подачи заявки в ФГБУ ФИПС. В случае, если коллективы авторов в статье и в заявке отличаются, указанная льгота не действует и опубликованная рукопись будет противопоставлена экспертизой как порочащая новизну созданного объекта интеллектуальной собственности. Из этого следует, что авторам публикаций необходимо предусматривать потенциальную возможность подачи заявки на изобретение или полезную модель. Такое положение подтверждает целесообразность предварительной проверки рукописи на наличие возможных объектов интеллектуальной собственности.

Состав авторского коллектива объекта интеллектуальной собственности должен быть тщательно продуман. Патент на изобретение или полезную модель может быть в течение срока его действия признан недействительным полностью или частично в случае выдачи патента с указанием в нем в качестве автора или патентообладателя лица, не являющегося таковым в соответствии с подпунктом 4 пункта 1 статьи 1398 части 4 ГК РФ. Автором изобретения признается гражданин, творческим трудом которого созданы соответствующие изобретение или полезная модель.

Поиск на этапе выявления объекта интеллектуальной собственности позволяет оценить объем опубликованных патентных и непатентных источников информации на момент проведения поиска, охарактеризовать совокупность признаков выявленного объекта интеллектуальной собственности, оказывающих существенное влияние на результат внедрения предполагаемого объекта интеллектуальной собственности.

Для квалифицированного специалиста проведение поиска состоит из следующих этапов:

- определение объекта поиска;
- определение области поиска (перечень баз данных, ретроспектива по времени публикации документов, возможная классификация объекта поиска в соответствии с последней действующей редакцией Международной Патентной Классификацией);
- формирование максимально возможного списка ключевых слов для объекта поиска на русском и английском языках;
- проведение поиска в выбранных базах данных;
- выборка наиболее подходящих документов;
- оформление результатов поиска.

К доступным базам данных можно отнести базу данных ФГБУ ФИПС (реферативная, полнотекстовый поиск является платной услугой), базу данных Евразийского патентного ведомства (ЕАПО, *EAPPO*) (бесплатный поиск возможен только по рефератам патентных документов). Отдельным инструментом для поиска на русском языке, в случае, если известен номер патентного документа, являются открытые реестры патентных документов РФ (доступны на сайте

ФГБУ ФИПС). Полные тексты патентных документов на русском языке также доступны бесплатно через интерфейс базы данных Всемирной организации интеллектуальной собственности (ВОИС, *WIPO*).

В базе данных ВОИС представлено более 22 миллионов патентных документов на многих языках мира. Поиск в этой базе данных возможен как на одном языке (русский, английский, немецкий и т.д.), так и одновременно на нескольких языках (используются внутренние механизмы поисковой системы). Особенностью этой базы данных является сложный язык формирования поискового выражения. Общая рекомендация, которую озвучивают специалисты ВОИС – комбинировать несколько простых поисковых выражений для формирования конечного списка выбранных патентных документов. Возможно использование и других общедоступных баз данных, например, массива патентных документов Европейского Патентного ведомства [7].

Наиболее удобной для проведения поиска непатентных документов (статьи, монографии, руководства) является общедоступная интегральная поисковая система «Академия Google». Язык поискового выражения (русский, английский или иной иностранный язык) определяет объем выдачи найденных документов.

Комбинируя результаты поиска, полученные в базах данных ФГБУ ФИПС, ВОИС и «Академия Google» можно получить подборку материалов, полноценно охватывающую предмет поиска, то есть научные публикации и патенты, соответствующие предмету поиска.

В Учреждении патентно-информационный поиск применяется для следующих целей.

1. Оценка представленных в отчетах о НИР данных на наличие патентоспособного технического решения, то есть проверка новизны исследования. В случае, если объект интеллектуальной собственности, описанный в отчете о НИР уже представлен прямо или косвенно в патентных документах, принадлежащих Учреждению или третьим лицам, о новизне темы НИР говорить затруднительно.

2. Оценка наличия объектов интеллектуальной собственности в рукописях статей, тезисов докладов или монографий. Патентно-информационный поиск в данном случае позволяет определить уровень техники и актуальность представленной публикации. Проверка рукописей статей для публикации во внешних

для Учреждения научных изданиях на наличие охраноспособных объектов интеллектуальной собственности является обязательной.

3. Оказание научно-методической помощи сотрудникам Учреждения для выявления охраноспособного технического решения и подготовки первичных материалов описания.

4. Оценка соответствия условиям патентоспособности созданного технического решения до начала процедуры его регистрации.

5. Выявление объектов интеллектуальной собственности, созданных сотрудниками Учреждения при выполнении своих трудовых обязанностей, но зарегистрированных на частное лицо или группу лиц, т.е. по сути присвоенных этими сотрудниками.

Для полноценного достижения указанных целей патентно-информационный поиск в Учреждении проводится специалистами с соответствующими профессиональными навыками. Подготовка заявок на изобретение осуществляется с учетом возможных типовых ошибок, допускаемых заявителями при патентовании данных объектов интеллектуальной собственности [8]. Таким образом, объекты интеллектуальной собственности, защищенные патентами, являются важным критерием результативности работы государственных научных учреждений. Патентная защита позволяет не только коммерческое использование созданных в рамках НИР технических решений, но также предупреждает возможные патентные санкции третьих лиц по перспективным направлениям НИР [9]. Коммерческое использование продукта интеллектуальной деятельности включает как выпуск продукции, так и реализацию лицензий на выпуск третьим лицам.

Проведение патентно-информационного поиска квалифицированным специалистом позволяет своевременно выявить предполагаемые объекты интеллектуальной собственности, провести их оценку на соответствие условиям патентоспособности и подготовить материалы заявки на объект интеллектуальной собственности для направления на регистрацию в ФГБУ ФИПС. Игнорирование возможностей патентно-информационного поиска приводит к затягиванию процедуры регистрации объектов интеллектуальной собственности или полной невозможности их регистрации, что отрицательно сказывается на показателях результативности научной работы государственной научной организации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Постановление правительства РФ от 8 апреля 2009 г. № 312 «Об оценке результативности деятельности научных организаций, выполняющих научно-исследовательские, опытно-конструкторские и технологические работы гражданского назначения». Собрание законодательства Российской Федерации 2009; 15: ст. 1841.
2. Приказ Минобрнауки России от 14 октября 2009 г. № 406 «Об утверждении типового положения о комиссии по оценке результативности деятельности научных организаций, выполняющих научно-исследовательские, опытно-конструкторские и технологические работы гражданского назначения, и типовой методики

REFERENCES

1. Resolution of Government of the Russian Federation of April 8, 2009 № 312 «On the evaluation of the impact of scientific organizations, performing research, development and technological works of civil purpose». Collection of Laws of the Russian Federation 2009; 15: article 1841 (in Russian).
2. Order of Ministry of Education and Science of Russia of October 14, 2009 № 406 «On approval of the model provision on comission of the performance evaluation of scientific organizations, performing research, development and technological works of civil purpose and typical performance measurement of scientific organizations performing research, development and technological works of civil purpose» (registered with the Ministry of

- оценки результативности деятельности научных организаций, выполняющих научно-исследовательские, опытно-конструкторские и технологические работы гражданского назначения» (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации 28 января 2010 г. № 16115).
- Гусев АБ. Методические подходы к оценке деятельности центров коллективного пользования научным оборудованием. Наука. Инновации. Образование 2010; 9: 1–15.
 - Князев СА. Оценка инновационного потенциала предприятия. Вестник Волгоградского государственного университета 2010; 1(16): 27–32.
 - Супотницкий МВ. Введение в правовую охрану изобретений. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2012; 3: 44–7.
 - Приказ Минздравсоцразвития РФ от 26 августа 2010 г. № 738н «О методике оценки результативности деятельности научных организаций, подведомственных Минздравсоцразвития России, выполняющих научно-исследовательские, опытно-конструкторские и технологические работы гражданского назначения» (зарегистрировано в Минюсте РФ 29 сентября 2010 г. № 18580).
 - Дудко ТА. Применение патентного поиска для повышения эффективности научных исследовательских работ. Интеллект. Инновации. Инвестиции 2012; спец. выпуск 1: 107–10.
 - Супотницкий МВ. Типичные ошибки в формуле и писании изобретения на иммунобиологический препарат. Биопрепараты 2010; 4: 40–4.
 - Майкова СЭ, Головухин ИА. Коммерциализация результатов научно-исследовательской деятельности как основной фактор инновационного развития национального исследовательского университета. Известия ВУЗов. Поволжский регион. Общественные науки 2012; 4(24): 110–8.

ОБ АВТОРАХ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.
 Елапов Александр Александрович. Заместитель начальника отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности.
 Коробов Николай Васильевич. Начальник отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности, канд. мед. наук.
 Миронов Александр Николаевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Елапов Александр Александрович; Elapov@expmed.ru

Статья поступила 23.04.2014 г.

- Justice of the Russian Federation 28 January 2010. № 16115) (in Russian).
- Gusev AB. Methodological approaches to the evaluation of the centers of collective use of scientific equipment. Nauka. Innovatsii. Obrazovanie 2010; 9: 1–15 (in Russian).
- Knyazev SA. Estimation of innovative potential of the enterprise. Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta 2010; 1(16): 27–32 (in Russian).
- Supotnitskiy MV. Introduction to legal protection of inventions. Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya 2012; 3: 44–7 (in Russian).
- Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of August 26, 2010 № 738n «On the procedure of performance assessment of scientific organizations under the Ministry of Health and Social Development of Russia, performing research, development and technological works of civil purpose» (registered in Ministry of Justice of the Russian Federation 29 September 2010. № 18580) (in Russian).
- Dudko TA. Application of patent search to improve the efficiency of scientific research. Intellekt. Innovatsii. Investitsii 2012; special issue 1:107–10 (in Russian).
- Supotnitskiy MV. Typical errors in formula and description of an invention for immunobiological medicine. Biopreparaty 2010; 4: 40–4 (in Russian).
- Maykova SE, Golovushkin IA. Commercialization of research activities as the main factor of innovative development of a national research university. Izvestiya VUZov. Povolzhsky region. Obschestvennye nauki 2012; 4(24): 110–8 (in Russian).

AUTHORS:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.
 Elapov AA. Deputy Head of Department of publishing activity and intellectual property protection.
 Korobov NV. Head of Department of publishing activity and intellectual property protection. Candidate of Medical Sciences.
 Mironov AN. Director General. Doctor of Medical Sciences.

Принята к печати 20.05.2014 г.

ПОДПИСНАЯ КАМПАНИЯ НА ВТОРОЕ ПОЛУГОДИЕ 2014 ГОДА



Оформить подписку на журнал
**«ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА
 ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ
 МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»**

можно в любом почтовом отделении России.
 Индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать»
 «Газеты. Журналы»
 на второе полугодие 2014 года – **25122**

Стоимость подписки на второе полугодие 2014 года

- два номера журнала – **400 руб.**
- один номер журнала – **200 руб.**

Ответственность за нарушения в сфере обращения лекарственных средств

Н.Д. Бунятян, Н.В. Коробов, А.Н. Яворский С.А. Калиничев, В.А. Меркулов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: С увеличением объема мирового фармацевтического рынка увеличиваются как количество нарушений в сфере обращения лекарственных средств, так и суммы штрафов за эти нарушения. Приведены данные исследования, проведенного американской некоммерческой организацией по защите прав потребителей Public Citizen, о типах нарушений и объемах штрафов, наложенных прокурорами США на фармацевтических производителей за ненадлежащий маркетинг лекарственных средств и завышение цен на лекарства по программам страхования за последние 20 лет. С развитием фармацевтического рынка России следует ожидать развития аналогичных процессов в российской сфере обращения лекарственных средств, что требует совершенствования нормативно-правовой базы в этой области.

Ключевые слова: мировой фармацевтический рынок; правила маркетинга; штрафы за нарушения правил.

RESPONSIBILITY FOR VIOLATIONS IN THE FIELD OF DRUG CIRCULATION

N.D. Bunyatyan, N.V. Korobov, A.N. Yavorsky, S.A. Kalinichev, V.A. Merkulov
Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: The increasing size of the global pharmaceutical market leads to more violations in the field of drug circulation as well as to increasing penalties for the violations. The article presents the results of the study conducted by an American non-profit organization Consumer Protection Public Citizen about the types of violations and the amount of penalties imposed by the U.S. Attorney on pharmaceutical manufacturers for improper drug marketing and drug overpricing according to insurance programs over the past 20 years. With the growth of pharmaceutical market in Russia we should expect the development of similar processes in the Russian drug circulation sphere, which requires the improvement of the regulatory framework in this area.

Key words: global pharmaceutical market; marketing rules; penalties for violations.

Мировой фармацевтический рынок, несмотря на общий экономический спад в последние годы, остается перспективным и быстрорастущим сектором мировой экономики. По данным международной аналитической компании «IMS Health Consulting», в 2013 году объем мирового фармацевтического рынка достиг 971 млрд долларов США. По прогнозам, ежегодный прирост сохранится на уровне 3–4%, а к 2017 году – достигнет уровня более 1,2 трлн долларов.

Развитие мирового фармацевтического рынка характеризуется рядом параллельно идущих процессов, одним из которых является обострение отношений между производителями фармацевтической продукции и регуляторными органами, включая судебные инстанции, на почве соблюдения правил в сфере продвижения лекарственных препаратов. Наглядным примером является увеличение объемов штрафов, налагаемых правительственными органами на производителей за продвижение лекарственных средств по неутвержденным показаниям, что свидетельствует о выходе проблемы на новый уровень в связи с огромными финансовыми потоками в этой «серой зоне» сферы обращения лекарственных средств и заставляет регуляторные органы принимать соответствующие меры, направленные на предупреждение нарушений и даже преступных действий со стороны компаний-производителей [1]. Хотя самым «дорогостоящим»

нарушением является ненадлежащий маркетинг лекарственных средств, в частности, их продвижение для применения при не одобренных FDA показателях, когда существуют и другие причины конфликта между производителями и регуляторными органами.

Так, по данным исследования, проведенного американской некоммерческой организацией по защите прав потребителей *Public Citizen*, за последние 20 лет федеральные прокуроры США и прокуроры штатов оштрафовали фармкомпании более чем на 30 млрд долл. США за ненадлежащий маркетинг лекарственных средств и завышение цен на лекарства по программам *Medicare* и *Medicaid* [3].

Целью настоящей работы является попытка рассмотреть причины нарушений и соответствующих наказаний в сфере продвижения лекарственных препаратов на примере фармацевтического рынка США и обозначить аналогичные процессы на рынке России.

В декабре 2010 года американской некоммерческой организацией по защите прав потребителей *Public Citizen* был опубликован Доклад, в котором впервые показаны все основные финансовые отчеты и судебные решения, касающиеся производителей фармацевтической продукции, а также федерального правительства и правительств штатов с 1991 года [2]. Оказалось, что три четверти решений и сопутствующих финансовых санкций произошло всего за пяти-

летний период до 2010 года. На момент публикации Доклада для урегулирования обвинений в многочисленных нарушениях, в том числе незаконном распространении на рынке не по надлежащим показаниям и преднамеренном завышении цен за счет налогоплательщиков, в рамках программ в области здравоохранения *Medicare* и *Medicaid* производителями фармацевтической продукции было выплачено почти 20 миллиардов долларов.

Результаты следующего аналогичного исследования *Public Citizen* опубликованы в 2012 году. Эти результаты вместе с предыдущими данными были обобщены в многостраничном отчете, опубликованном в сентябре 2012 года [3]. В исследование были включены все решения федерального правительства США и властей штатов, касающиеся наказаний за нарушения в сфере обращения лекарственных средств стоимостью один миллион долларов и более.

По приведенным в отчете данным, в общей сложности между федеральным правительством и правительствами штатов с одной стороны и производителями фармацевтической продукции, с другой, за период с 2 ноября 2010 года и 18 июля 2012 года было принято 74 дополнительных решения по урегулированию на общую сумму 10,2 млрд долл., причем только за первую половину 2012 года был уже достигнут рекорд по финансовым возмещениям и на федеральном уровне (\$ 5,0 млрд), и на уровне штатов (\$ 1,6 млрд). В общей сложности с 1991 по середину

2012 года было принято 239 решений на общую сумму 30,2 млрд долларов.

По подсчетам аналитиков *Public Citizen*, с 2009 года сумма штрафов, наложенных прокурорами штатов, составила 3,7 млрд долл. США. Это примерно в 6 раз больше, чем за все предыдущие 18 лет. С начала января по середину июля 2012 г. фармацевтические компании заплатили 6,6 млрд долл. США в виде штрафов против 2,5 млрд долл. в 2011 г.

С 2009 года федеральное правительство заключило почти столько же соглашений по урегулированию претензий и приняло больше финансовых санкций, чем это было за предыдущие 18 лет вместе взятых.

Как и в предыдущем исследовании, наиболее распространенным нарушением явилось мошенническое завышение цен на лекарственные средства в отношении государственных программ *Medicaid*, тогда как незаконное продвижение препаратов было связано с самыми крупными штрафами.

Проведенный авторами Доклада анализ позволил классифицировать типы нарушений, которые совершают фармацевтические компании при продвижении своей продукции (таблица 1) и соотнести эти показатели с числом нарушений и суммами штрафов (рис. 1).

Для предотвращения будущего противоправного поведения производителей фармацевтической продукции необходимо совершенствование законодательной базы и более надежное правоприменение как на федеральном уровне, так и на уровне штатов.

Таблица 1

ТИПЫ НАРУШЕНИЙ, СОВЕРШАЕМЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ КОМПАНИЯМИ [3]

Тип нарушения	Описание
Завышение цен на лекарственные препараты в рамках государственных программ в области здравоохранения	Взвинчивание средних оптовых цен на препараты, непредоставление наименьшей рыночной цены в рамках государственных программ в области здравоохранения или непредоставление требуемых скидок в рамках любых государственных программ в области здравоохранения
Незаконное продвижение лекарственных препаратов	Продвижение лекарственных препаратов не по надлежащим показаниям или других вводящих в заблуждение маркетинговых практик (например, преуменьшение рисков для здоровья, связанных с препаратом)
Монопольная деятельность (нарушение антимонопольного законодательства)	Незаконные попытки удержать монопольные права ценообразования на лекарственные препараты, или сговор с другими компаниями, предпринятый с целью увеличить долю отдельного продукта на рынке
Незаконные вознаграждения	Взятки (т.е. денежные выплаты) поставщикам, лечебно-профилактическим учреждениям и др., с целью повлиять на практику назначения препаратов в пользу данной компании
Соккрытие источников финансирования исследований	Соккрытие результатов спонсируемых компаниями исследований от федеральных и местных властей или от общественности, или фальсификация данных, предоставляемых федеральному правительству
Ненадлежащая производственная деятельность	Реализация лекарственных препаратов, которая не соответствует стандартам или техническим требованиям FDA (например, загрязненные или фальсифицированные препараты, или препараты, которые не соответствуют техническим требованиям по объему или дозировке)
Нарушения, связанные с загрязнением окружающей среды	Нарушение Закона о чистом воздухе или Закона о чистой воде, или несоответствие федеральным стандартам допустимого загрязнения
Финансовые нарушения	Фальсификация бухгалтерского учета с целью ухода от налогов или незаконные операции с использованием инсайдерской (служебной) информации
Незаконное распространение препарата	Распространение не одобренного официально фармацевтического препарата

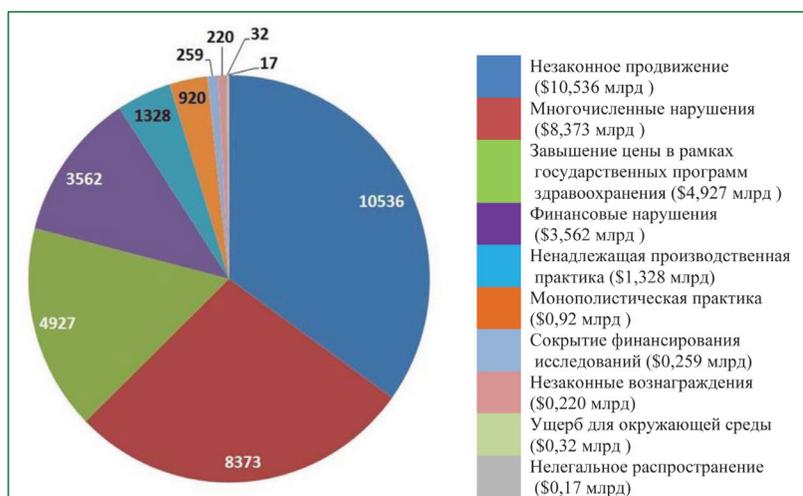


Рис. 1. Штрафы за нарушения производителями лекарственных средств с 1991 года по август 2012 года. На круговой диаграмме цифрами указан объем штрафов в млн долларов США, справа в скобках — то же в млрд долларов США [источник: 3]

В Российской Федерации в настоящее время отсутствуют опубликованные систематизированные исследования по проблеме ответственности и наказаний за нарушения в сфере обращения лекарственных средств. Тем не менее, по отдельным сведениям, создается впечатление, что описанные процессы в фармацевтической индустрии США в определенной мере характерны и для нашей страны. В то же время, следует отметить гораздо меньшую частоту случаев расследований и значительно более скромный финансовый компонент оценки тяжести нарушений. Можно привести ряд примеров, появившихся в средствах массовой информации в последние годы.

За ненадлежащую рекламу в печатных средствах массовой информации лекарственного препарата «Назаваль Плюс» Московским УФАС России компании «Фармаваль» назначен штраф в 100 тыс. руб. Рекламное сообщение, содержащее утверждение о том, что лекарство полностью безопасно, гарантией чего является его естественное происхождение, противоречит п. 8 ч. 1 ст. 24 Федерального закона «О рекламе» [4].

В соответствии с ч. 7 ст. 24 Федерального закона «О рекламе» реклама лекарственных средств, меди-

цинских услуг, в том числе методов лечения, медицинской техники должна сопровождаться предупреждением о наличии противопоказаний к их применению и использованию, а также о необходимости ознакомления с инструкцией по применению ЛС или получения консультации специалистов. В рекламе в «Народной газете» о медицинских препаратах, реализуемых ОАО «УльяновскФармация» с 06.02.2012 по 30.04.2012 по сниженным ценам, такой информации не было. Ульяновское Управление Федеральной антимонопольной службы России назначило штрафы: рекламодателю ОАО «УльяновскФармация» — 100 тыс. рублей, рекламораспространителю ОГБУ «МедиаЦентр» — 110 тыс. рублей. [«Фармацевтический вестник», 31.10.2012].

Новосибирское УФАС России в 2011 году привлекло ОАО «Фармация» к административной ответственности и наложило административный штраф в размере 2,195 миллиона рублей за нарушение порядка ценообразования препаратов из списка ЖВНЛП. Однако обвиняемая компания обратилась в суд с заявлением о признании незаконным принятого Новосибирским УФАС России решения о привлечении к административной ответственности. В результате юридических процедур Президиумом Высшего Арбитражного Суда Российской Федерации в декабре 2011 года было принято решение передать дело на новое рассмотрение [http://www.artdelex.ru/press/articles/755/].

Отсутствие в настоящее время в Российской Федерации сопоставимых с описанными в публикации *Public Citizen* громких административных и уголовных дел, связанных с ответственностью за незаконное продвижение лекарств на фармацевтическом рынке, не снижает актуальность данной проблемы. В целях предупреждения негативных последствий возможных нарушений для общества, пациентов и производителей лекарственных средств представляется целесообразным усиление правовой базы в сфере обращения лекарств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бунятян НД, Коробов НВ, Утешев ДБ, Яворский АН. Некоторые аспекты назначения и продвижения лекарственных препаратов «вне инструкции». Медицинские технологии. Оценка и выбор 2010; 2: 49–53.
2. Public Citizen's Health Research Group. Rapidly Increasing Criminal and Civil Monetary Penalties Against the Pharmaceutical Industry: 1991 to 2010. December 16, 2010 [cited 2012 July 3]. Available from: www.citizen.org/hrg1924.
3. Sammy Almshat, Sidney Wolfe. Pharmaceutical Industry Criminal and Civil Penalties: An Update [cited 2012 September 27]. Available from: www.citizen.org/hrg2073.
4. О рекламе. Федеральный закон от 13.03.2006 № 38-ФЗ. Собрание законодательства 2006; 12: ст. 1232.

REFERENCES

1. Bunyatyan ND, Korobov NV, Uteshev DB, Yavorsky AN. Some aspects of the assignment and promotion of «off label» drugs. Meditsinskie tehnologii. Otsenka i vybor 2010; 2: 49–53 (in Russian).
2. Public Citizen's Health Research Group. Rapidly Increasing Criminal and Civil Monetary Penalties Against the Pharmaceutical Industry: 1991 to 2010. December 16, 2010 [cited 2012 July 3]. Available from: www.citizen.org/hrg1924.
3. Sammy Almshat, Sidney Wolfe. Pharmaceutical Industry Criminal and Civil Penalties: An Update [cited 2012 September 27]. Available from: www.citizen.org/hrg2073.
4. On advertisement. Federal Law of 13.03.2006 № 38-FZ. Laws comp. 2006; 12: art. 1232 (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

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

Буянтян Наталья Дмитриевна. Заместитель генерального директора по научной работе, д-р фарм. наук.

Коробов Николай Васильевич. Начальник отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности, канд. мед. наук.

Яворский Александр Николаевич. Ученый секретарь, д-р мед. наук.

Калиничев Сергей Анатольевич. Старший научный сотрудник отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности, канд. фарм. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Первый заместитель генерального директора, д-р мед. наук.

AUTHORS:

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

Bunyatyay ND. Deputy Director General for the scientific work. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Korobov NV. Head of Department of publishing activity and intellectual property protection. Candidate of Medical Sciences.

Yavorsky AN. Scientific Secretary. Doctor of Medical Sciences.

Kalinichev SA. Senior researcher of Department of publishing activity and intellectual property protection. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Merkulov VA. First Deputy Director General. Doctor of Medical Sciences.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Коробов Николай Васильевич; Korobov@expmed.ru

Статья поступила 12.05.2014 г.

Принята к печати 29.06.2014 г.

Визит сотрудников ФГБУ «НЦЭСМП» в лабораторию EDQM по контролю за обращением лекарственных средств, Страсбург, Франция

В апреле 2014 года по приглашению директора EDQM госпожи Dr. Susanne KEITEL сотрудники ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России посетили лабораторию EDQM по контролю за обращением лекарственных средств (далее – Лаборатория). Целью визита было изучение опыта работы Лаборатории в области аттестации стандартных образцов лекарственных средств (ОСО), системы менеджмента качества, а также обсуждение возможности научного сотрудничества.

Участники делегации ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: Елена Владимировна Гладкая – начальник управления обеспечения качества, Щербакова Татьяна Федоровна – начальник отдела аудита системы менеджмента качества, Кулешова Светлана Ивановна – начальник лаборатории антибиотиков, Ваганова Ольга Александровна – начальник лаборатории биопрепаратов, Косарева Татьяна Вячеславовна – заместитель начальника отдела международного сотрудничества.

Лабораторию представляли: г-н Андреа Лоди – начальник лаборатории Head of Laboratory, г-н Стефан Алмелинг – заместитель начальника лаборатории, г-жа Сильви Джораюриа – научный сотрудник подразделения по биопрепаратам, г-н Пьер Лево – руководитель по качеству, безопасности и охраны окружающей среды, д-р Винсент Эглофф – начальник отдела стандартных образцов.

Программа визита была достаточно обширна и охватывала все аспекты аттестации стандартных образцов: общие понятия, химические стандартные образцы: создание и использование, стандартные образцы биологических и биотехнологических продуктов, стандартные образцы для микробиологии. При этом необходимо отметить, что все

аспекты были рассмотрены только в отношении стандартных образцов, выпускаемых под патронажем Европейской фармакопеи. Был обсужден ряд вопросов, а именно – подход к оценке погрешностей при количественном определении, критические параметры при изучении стабильности стандартных образцов, каким образом проводится выбор субстанции для аттестации стандартных образцов, методы контроля (ВЭЖХ, ЯМР), процедура аттестации и порядок утверждения стандартных образцов.

Большой интерес вызвал доклад г-на Пьера Лево о практике СМК в Лаборатории, порядке работы, периодичности пересмотра и путях оптимизации системы с целью повышения качества работы Лаборатории.

Сотрудники ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России ознакомились с помещениями и оборудованием Лаборатории, предназначенными как для химических исследований, так и микробиологических, были заданы вопросы по организации работы в лаборатории, порядке проведения испытаний. Помещения Лаборатории полностью соответствуют правилам GLP, просторны, оснащены современным оборудованием, необходимым для аналитической работы в соответствии со стандартами Европейской фармакопеи.

В ходе визита обсуждалась возможность научного сотрудничества в области аттестации стандартных образцов.

Визит проходил в атмосфере доброжелательности и взаимопонимания, его результаты окажут положительное влияние на повышение качества работы сотрудников ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в настоящее время и в перспективе при работе со стандартными образцами.

С.И. Кулешова

Стандартизация действующих веществ валерианы лекарственной в растительном сырье и таблетках экстракта валерианы

Н.П. Антонова, Е.П. Шефер, С.С. Прохвятилова, Н.Е. Семенова, У.С. Легонькова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: Приведены результаты лабораторных исследований оценки действующих веществ валерианы лекарственной разными методами: дистилляции (по содержанию эфирного масла), спектрофотометрии (по содержанию сложных эфиров карбоновых кислот в пересчете на этиловый эфир кислоты валереновой) и ВЭЖХ (по сумме сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту). В качестве объектов исследования выбраны следующие лекарственные растительные препараты: «Валерианы корневища с корнями», фильтр-пакеты и «Валерианы экстракт таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг». В большинстве отечественных нормативных документов на препараты валерианы не регламентируется содержание эфирного масла. Однако, данный показатель характеризует доброкачественность сырья и нормируется в ведущих зарубежных фармакопеях на аналогичные препараты. В связи с этим считаем целесообразным дополнить проект ФС «Валерианы корневища с корнями» ГФ XII оценкой содержания эфирных масел. Экспериментально показано, что спектрофотометрическая методика является неспецифичной и неселективной, так как на спектре поглощения испытуемого раствора отсутствует четко выраженный максимум поглощения продуктов гидроксамовой пробы. При лабораторной экспертизе образцов препарата «Валерианы экстракт таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» было выявлено влияние компонентов оболочки таблетки на величину оптической плотности, что ведет к завышению результата количественного определения. Метод ВЭЖХ является наиболее предпочтительным для оценки действующих веществ в препаратах валерианы, так как позволяет проводить количественное определение после их хроматографического разделения и идентификации.

Ключевые слова: Валерианы корневища с корнями; ВЭЖХ; спектрофотометрический метод; эфирное масло; валереновая кислота.

STANDARDIZATION OF VALERIANA OFFICINALIS ACTIVE INGREDIENT IN HERBAL RAW MATERIAL AND IN VALERIAN TABLETS

N.P. Antonova, E.P. Shefer, S.S. Prokhvatilova, N.E. Semenova, U.S. Legonkova
Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: The article provides the results of laboratory assessment of Valeriana officinalis active ingredients by various methods such as distillation (assay of essential oil), spectrophotometry (assay carboxylic acids esters equivalent to ethyl ether of valerenic acid) and HPLC (the sum of sesquiterpenic acids equivalent to valerenic acid). The following research objects have been chosen «Valerian rhizome with roots», filter bags and «Valerian film coated tablets, 20 mg». Most domestic normative documents do not specify the content of essential oil in valeriana preparations. However, the mentioned criteria determines the quality of herbal raw material and is included in the monographs of the leading foreign Pharmacopoeias for the relevant preparations. In this regard, it is reasonable to add the assay of essential oil to the draft monograph of the State Pharmacopoeia XII «Valerian rhizome with roots». The experiments showed that spectrophotometric test is not specific and not selective because of the lack of hydroxamic probe absorption maximum. The laboratory assessment of «Valerian film coated tablets, 20 mg» revealed the influence of drug coat ingredients on optical density value which leads to overestimation of the assay results. HPLC method is preferable for the assay of active ingredients in valerian preparations as far as it allows to perform the assay after chromatographic separation and identification.

Key words: Valerian rhizome with roots; HPLC; spectrophotometry; essential oil; valerenic acid.

Препараты валерианы находят широкое применение в качестве мягкого седативного средства при состояниях нервного возбуждения, неврозах, бессоннице, мигренеподобных головных болях и спазмолитического средства при спазмах желудка и кишечника с нарушением секреции железистого аппарата желудочно-кишечного тракта. Экспериментально доказано, что они снижают рефлекторную возбудимость в центральных отделах нервной системы и усиливают процессы торможения в коре головного мозга, улучшают коронарное кровообращение, регулируют сердечную деятельность [1–4].

В Европе валериана известна в качестве седативного и спазмолитического средства с XVI века; является официальным сырьем в Американской фармакопее (*USP*) с первого издания 1820 года и входит в число 30-ти наиболее популярных лекарственных растительных средств в истории *USP*.

В корневищах с корнями валерианы содержится от 0,5 до 2,4% эфирного масла, главными компонентами которого являются борнилизовалерианат, борнеол, пинен, терпинеол, сесквитерпеноиды (валереналь, валеренон, валереновая кислота); от 0,8 до 2,5% валепотриатов (иридоиды: валтрат, изовалтрат,

ацевалтрат, дигидроавалтрат, валередиин, валехлорин и др.); тритерпеновые гликозиды; дубильные вещества; алкалоиды (валерин, хатинин); органические кислоты (валериановая, изовалериановая кислоты) и свободные амины. Фармакологическое действие валерианы обусловлено комплексом действующих веществ, локализованных в корневищах и корнях валерианы. Седативное действие валерианы обусловлено в основном эфирным маслом. Другой группой биологически активных веществ считаются валепотриаты. Валепотриаты являются нестойкими соединениями, в процессе сушки и хранения корневищ они подвергаются ферментативному расщеплению с образованием свободной изовалериановой кислоты и иридоида – балдриналя, придающих сырью специфический запах [1– 4].

Для количественной оценки действующих веществ валерианы используется нормирование индивидуальных веществ, суммы веществ в пересчете на индивидуальное вещество, содержания эфирных масел или экстрактивных веществ.

Лекарственное растительное сырье и препараты валерианы описаны в Государственной фармакопее СССР XI издания (ГФ XI), Европейской, Британской, Американской, Японской, Индийской, Украинской и Белорусской фармакопеех.

В соответствии со ст. 77 ГФ XI, вып. 2, содержание действующих веществ в корневищах с корнями валерианы (цельное сырье) оценивается по количеству экстрактивных веществ, извлекаемых 70% спиртом (не менее 25%), в Изменение № 5 от 27.10.99 к ст.77 дополнительно внесена количественная оценка суммы валепотриатов в пересчете на валтрат (не менее 1,4%). Определение суммы валепотриатов проводится спектрофотометрическим методом, при расчетах используется удельный показатель поглощения пирилеовой соли валтрата.

Согласно Европейской и Британской фармакопеем в корневищах с корнями валерианы нормируется содержание эфирного масла не менее 5 мл/кг (0,5%) для цельного сырья или не менее 3 мл/кг (0,3%) для измельченного сырья, содержание суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту не менее 0,17% (цельное сырье) или не менее 0,10% (измельченное сырье). Для определения содержания суммы сесквитерпеновых кислот рекомендован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием в качестве стандартного образца экстракта валерианы сухого стандартизованного.

В монографии USP на аналогичный препарат включено определение содержания эфирного масла не менее 0,5%; валереновой кислоты не менее 0,05%; суммы валереновых кислот в пересчете на гидроксывалереновую, ацетоксывалереновую и валереновую кислоты не менее 0,17%; экстрактивных веществ, извлекаемых 70% спиртом не менее 20%. Определение валереновой кислоты и суммы валереновых кислот проводится методом ВЭЖХ с использованием стан-

дартных образцов валереновой кислоты и экстракта валерианы стандартизованного.

Фармакопея Украины нормирует содержание эфирного масла, экстрактивных веществ, экстрагируемых 70% спиртом, и суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту аналогично Европейской фармакопее; сумму сесквитерпеновых кислот определяют методом ВЭЖХ, используя в качестве внешнего стандарта дантрон.

В Белорусской фармакопее наряду с ВЭЖХ методикой определения содержания суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту, аналогичной методике Европейской фармакопеи, в сырье оценивают сумму сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты методом спектрофотометрии (не менее 2%).

В отечественные зарегистрированные ФСП включены: гравиметрический метод определения экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70%, (не менее 25%) и спектрофотометрический метод определения суммы сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты (не менее 2%).

В проект ФС на Валерианы корневища с корнями, подготовленной для ГФ XII взамен ст. 77 ГФ XI, в разделе количественное определение включена методика определения суммы сесквитерпеновых кислот (ацетоксывалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту методом ВЭЖХ (не менее 0,12% для цельного сырья; не менее 0,1% для измельченного сырья и порошка). В качестве стандартных образцов предусмотрено использование валереновой кислоты (содержание основного вещества $\geq 99\%$) или стандартизованного экстракта валерианы (*EP CRS*).

В зарегистрированных отечественных нормативных документах на таблетки экстракта валерианы количественное определение действующих веществ проводится спектрофотометрическим методом по содержанию сложных эфиров и карбоновых кислот в пересчете на кислоту валереновую (не менее 0,03 мг/табл.). В аналогичной статье USP нормируется содержание экстракта валерианы, в пересчете на сумму валереновых кислот (гидроксывалереновая, ацетоксывалереновая и валереновая кислоты), определяемое методом ВЭЖХ.

Таким образом, оценка действующих веществ в препаратах валерианы проводится по разным группам или индивидуальным соединениям действующих веществ: экстрактивным веществам, извлекаемым 70% спиртом; эфирному маслу, сумме валепотриатов в пересчете на валтрат, сумме сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты, сумме сесквитерпеновых кислот (ацетоксывалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту, содержанию валереновой кислоты, сумме сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту; разными методами: гравиметрии, дистилляции, спектрофотометрии, ВЭЖХ.

Цель данного исследования: провести сравнительную лабораторную оценку методик количественного определения действующих веществ в препаратах валерианы методами дистилляции по содержанию эфирного масла, спектрофотометрии по сумме сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты и ВЭЖХ по сумме сесквитерпеновых кислот (ацетоксивалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту с целью оценки качества образцов препаратов на соответствие основным фармакопейным требованиям и дальнейшей рекомендации о включении их в ГФ XII.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали: «Валерианы корневища с корнями», фильтр-пакеты; «Валерианы экстракт таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг»;

Лабораторная экспертиза была проведена на приборах: анализатор спектрофотометрический *Agilent 8453*; жидкостной хроматограф *Agilent 1200 DAD*.

Определение экстрактивных веществ не проводили, так как этот метод обычно используется в случае, если не найдены биологически активные вещества или не разработаны методики их определения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В образце лекарственного средства «Валерианы корневища с корнями», фильтр-пакеты, было проведено определение действующих веществ методом дистилляции (эфирное масло), спектрофотометрии (сумма сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты) и ВЭЖХ (суммы сесквитерпеновых кислот: ацетоксивалереновой и валереновой в пересчете на валереновую кислоту).

Содержание эфирного масла, определенное фармакопейным методом 1 по ГФ XI из навески около 30,0 г при кипячении в течение 2-х часов, составило – 0,3%, что соответствует нормам Американской фармакопеи для измельченного сырья.

Так как в процессе хранения активность действующих веществ корневищ с корнями валерианы снижается, оценка содержания эфирного масла является важным показателем качества сырья.

Определение суммы сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты проводили методом спектрофотометрии. В основе методики лежит общегрупповая реакция с гидроксиламином, железа (III) хлоридом и хлористоводородной кислотой (гидроксамовая проба). Экстракцию проводили смесью хлороформа и спирта 96%. После проведения реакции измерение оптической плотности проводили при длине волны 512 нм. Содержание суммы сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты составило 2,6%. Недостатком данной методики является низкая специфичность и селективность, так как на спектре испытуемого раствора отсутствует четко выраженный максимум по-

глощения при длине волны 512 нм, определение проводится без использования стандартного образца, по удельному показателю поглощения.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии было проведено определение содержания суммы сесквитерпеновых кислот (ацетоксивалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту. Экстрагировали сумму сесквитерпеновых кислот из сырья спиртом 96%. Оценка проводилась методом внешнего стандарта. В качестве стандарта использовали стандартизованный экстракт валерианы (*EP CRS*) и СО валереновой кислоты (*EP CRS*). Для приготовления испытуемого раствора и раствора СО валереновой кислоты использовали спирт 96% и метанол; для приготовления раствора стандартизованного экстракта валерианы – метанол.

Условия хроматографирования: колонка: *Nucleosil C18 5* мкм 125×4,0 мм; температура колонки: 25°C; скорость потока – 1,0 мл/мин; объем пробы – 10 мкл; детектирование – длина волны 220 нм; подвижная фаза: А – ацетонитрил, В – 5,0 г/л раствор фосфорной кислоты концентрированной.

Содержание суммы сесквитерпеновых кислот (ацетоксивалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту составило 0,102%, что соответствует требованиям проекта ФС для ГФ XII. На рисунках 1, 2 и 3 представлены типичные хроматограммы растворов стандартизованного экстракта валерианы, СО валереновой кислоты и испытуемого.

Оценку пригодности хроматографической системы проводили по величине относительного стандартного отклонения площадей пика валереновой кислоты (не более 2%), эффективности хроматографической колонки (не менее 15000 ТТ), коэффициенту асимметрии пика валереновой кислоты (от 0,8 до 1,5), разрешению между пиками ацетоксивалереновой и валереновой кислот (не менее 1,5).

Другим объектом нашего исследования был образец препарата «Валерианы экстракт таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг». Количественное определение действующих веществ проводили методами спектрофотометрии (определение сложных эфиров карбоновых кислот в пересчете на этиловый эфир кислоты валереновой) и ВЭЖХ (определение содержания суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту).

В результате экспертизы было установлено, что спектрофотометрическая методика определения, включенная в большинство зарегистрированных нормативных документах (НД), нуждается в уточнении, так как оболочка таблеток имеет поглощение в области измерения оптической плотности испытуемого раствора. При сравнительном изучении спектров, полученных с использованием в качестве испытуемого раствора таблеток с оболочкой, таблеток без оболочки и смытой пленочной оболочки, видно, что оболочка таблеток завышает результаты анализа почти на 40% (см. таблицу 1), (при проведении ла-

бораторной экспертизы был зафиксирован случай 5-кратного увеличения). Спектр поглощения испытуемых растворов не имеет характерного максимума поглощения, оптическая плотность испытуемых растворов (около 0,1) находится вне области оптимальных значений оптических плотностей (0,2–0,8).

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ИСПЫТУЕМЫХ РАСТВОРОВ

Измеряемая характеристика	Результаты анализа испытуемых растворов		
	Таблетки с оболочкой	Таблетки без оболочки	Оболочка таблеток
Оптическая плотность	0,138	0,094	0,065
Количественное определение. Содержание сложных эфиров карбоновых кислот в пересчете на этиловый эфир кислоты валереновой, мг/табл. (норма – не менее 0,3 мг/табл.)	0,7	0,4	0,3

Определение содержания суммы сесквитерпеновых кислот (ацетоксивалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту проведено унифицированной методикой ВЭЖХ, используемой для анализа сырья. Навеску растертых таблеток экстрагировали метанолом. В качестве стандартов использовали стандартизованный экстракт валерианы (*EP CRS*) и СО валереновой кислоты (*EP CRS*). Для приготовления растворов СО использовали метанол. На рисунках 1, 2 и 4 представлены типичные хроматограммы раствора стандартизованного экстракта валерианы, СО валереновой кислоты и испытуемого раствора.

Содержание суммы сесквитерпеновых кислот (ацетоксивалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту составило 0,025 мг/табл.

Оценка пригодности хроматографической системы проведена по величине относительного стандартного отклонения площадей пика валереновой кислоты (не более 2%), эффективности хроматографической колонки (не менее 15000 ТТ), коэффициенту асимметрии пика валереновой кислоты (от 0,8 до 1,5), разрешению между пиками ацетоксивалереновой и валереновой кислот (не менее 1,5).

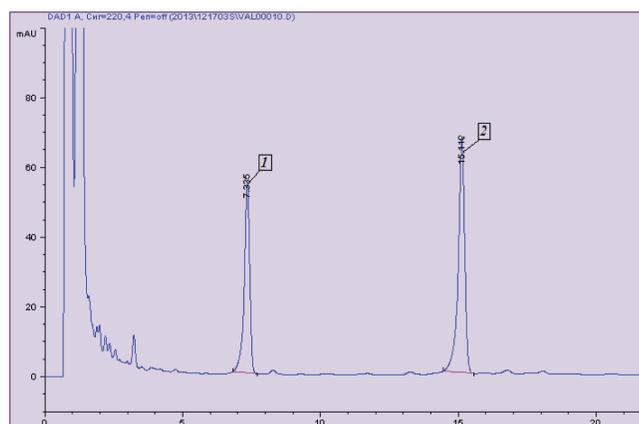


Рис. 1. Типичная хроматограмма раствора стандартизованного экстракта валерианы; 1 – пик ацетоксивалереновой кислоты, 2 – пик валереновой кислоты

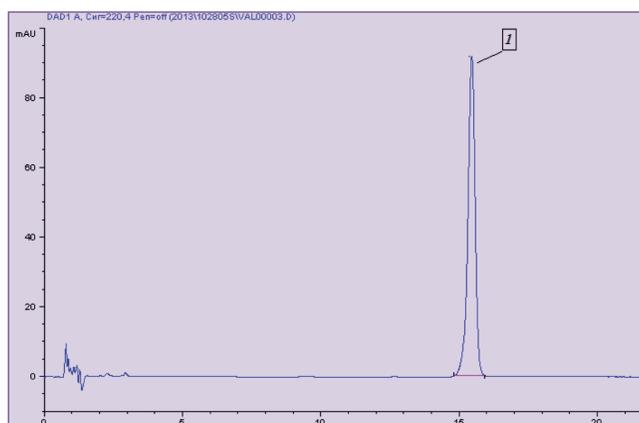


Рис. 2. Типичная хроматограмма СО валереновой кислоты; 1 – пик валереновой кислоты

ВЫВОДЫ

Проведенные исследования показывают, что спектрофотометрическая методика определения сложных эфиров карбоновых кислот в пересчете на этиловый эфир кислоты валереновой из-за недостаточной селективности и специфичности не позволяет получать достоверные результаты. Методика ВЭЖХ количественной оценки содержания суммы сесквитерпеновых кислот (ацетоксивалереновой и валереновой) в пересчете на валереновую кислоту является высокочувствительной и селективной и может использоваться как унифицированная методика для стандартизации препаратов валерианы. В проект ФС на «Валерианы корневища с корнями» для определения действующих веществ наряду с

Таблица 2

ПАРАМЕТРЫ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Параметры по пику валереновой кислоты	СО валереновой кислоты (<i>USP RS</i>)	Стандартизованный экстракт валерианы
Коэффициент асимметрии пика	1,3	1,3
Относительное стандартное отклонение, %	0,27	0,09
Эффективность хроматографической колонки, ТТ	24601	24555
Разрешение между пиками ацетоксивалереновой и валереновой кислот	–	21,6

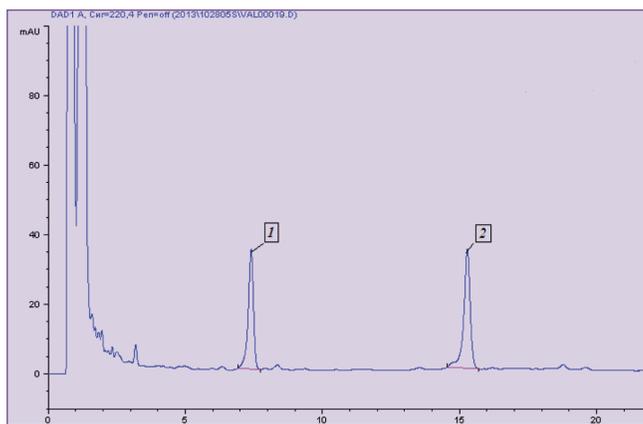


Рис. 3. Типичная хроматограмма раствора испытуемого образца «Валерианы корневища с корнями», фильтр-пакеты; 1 – пик ацетоксивалереновой кислоты; 2 – пик валереновой кислоты

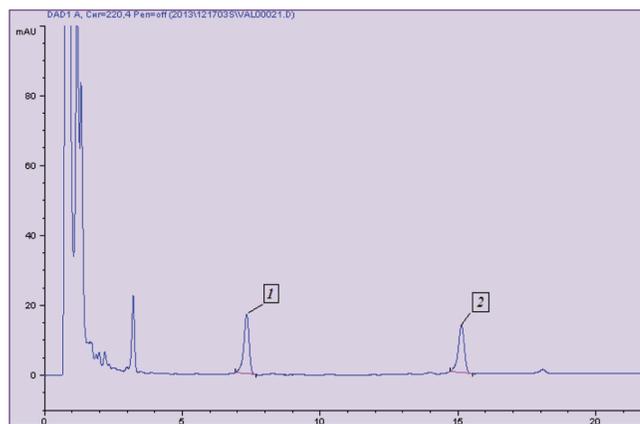


Рис. 4. Типичная хроматограмма раствора испытуемого образца «Валерианы экстракт таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг»; 1 – пик ацетоксивалереновой кислоты; 2 – пик валереновой кислоты

методикой ВЭЖХ рекомендуется включить нормирование эфирного масла, содержание которого является важным показателем качества. В НД на препарат «Валерианы экстракт таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» для количественного определения целесообразно

включать унифицированную методику ВЭЖХ определения действующих веществ взамен спектрофотометрической методики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков ВА, ред. Атлас лекарственных растений России. М.: ВИЛАР; 2006.
2. Талашова СВ. Фармакогностическое изучение, стандартизация и комплексная переработка валерианы лекарственной: автореферат дис. ... канд. фарм. наук. М.; 1996.
3. Коновалова ОА, Рыбалко КС. Биологически активные вещества подземных органов *Valeriana officinalis* L. Растительные ресурсы 1991; 27(16): 146–169.
4. Коновалова ОА, Шейченко ВИ, Рыбалко КС. О химическом составе корневища с корнями *Valeriana wolgensis* из цикла *Valeriana officinalis* L. Химия природных соединений 1991; 1: 141–143.
5. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1, 2. М.: Медицина; 1987.
6. United States Pharmacopeia 36–NF 31. «Valerian», «Powdered Valerian Extract», «Valerian tablets».
7. European Pharmacopoeia. 7th edition. Strasbourg: EDQM; 2010. «0453 Valerian root», «1898 Valerian dryhydroalcoholic extract», «2526 Valerian root cut».
8. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2. Минск; 2007.

ОБ АВТОРАХ:

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

Антонова Наталья Петровна. Начальник лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств; канд. биол. наук.

Шефер Елена Павловна. Главный эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств. Канд. фарм. наук.

Прохватилова Светлана Степановна. Главный эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств; канд. фарм. наук.

Семенова Наталья Евгеньевна. Ведущий эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств; канд. мед. наук.

Легонькова Ульяна Сергеевна. Эксперт 1-й категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Антонова Наталья Петровна, Nantonomova@expmed.ru.

Статья поступила 07.02.2014 г.

REFERENCES

1. Bykov VA, ed. Atlas of medicinal plants of Russia. Moscow: VILAR; 2006 (in Russian).
2. Talashova SV. Pharmacognostic study, standardization and complex processing of Valerian. Cand. Sci. Pharm. [Thesis]. Moscow; 1996 (in Russian).
3. Konovalova OA, Rybalko KS. Biologically active substances of underground organs of *Valeriana officinalis* L. Rastitelnye resursy 1991; 27(16): 146–169 (in Russian).
4. Konovalova OA, Sheychenko VI, Rybalko KS. On the chemical composition of rhizomes and roots of *Valeriana wolgensis* from cycle of *Valeriana officinalis* L. Himiya prirodnyh soedineniy 1991; 1: 141–143 (in Russian).
5. The State Pharmacopoeia of USSR. 11th ed. V. 1. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian).
6. United States Pharmacopeia 36–NF 31. «Valerian», «Powdered Valerian Extract», «Valerian tablets».
7. European Pharmacopoeia. 7th edition. Strasbourg: EDQM; 2010. «0453 Valerian root», «1898 Valerian dryhydroalcoholic extract», «2526 Valerian root cut».
8. The State Pharmacopoeia of Republic of Belarus. V. 2. Minsk; 2007 (in Russian).

AUTHORS:

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

Antonova NP. Head of Laboratory of herbal medicines and homeopathic medicines. Candidate of Biological Sciences.

Shefer EP. Chief expert of Laboratory of herbal medicines and homeopathic medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Prohvatilova SS. Chief expert of Laboratory of herbal medicines and homeopathic medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Semenova NE. Leading expert of Laboratory of herbal medicines and homeopathic medicines. Candidate of Medical Sciences.

Legonkova US. 1st category expert of Laboratory of herbal medicines and homeopathic medicines.

Принята к печати 11.03.2014 г.

Лекарственные формы и их место в современной гомеопатической практике

Е.И. Саканян¹, Н.Д. Бунятян¹, М.Н. Лякина¹, Н.С. Терешина²,
Т.Б. Шемерянкина¹, Н.А. Постоюк¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия
²Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова, Научно-исследовательский институт фармации,
Российская Федерация, 119991, Москва, Трубетская улица, 8, стр. 2.

Резюме: В настоящее время актуальны исследования, связанные с разработкой общих фармакопейных статей, регламентирующих требования, предъявляемые к лекарственным формам, используемым в гомеопатической практике. Необходимость унификации требований, предъявляемых к этим лекарственным формам в России и за рубежом очевидна, что свидетельствует о целесообразности создания отечественных стандартов качества на лекарственные формы, в которых производятся и изготавливаются отечественные гомеопатические лекарственные препараты, содержание которых должно быть гармонизировано с требованиями, предъявляемыми к лекарственным формам, используемым в аллопатической практике.

Ключевые слова: гомеопатические лекарственные средства; общая фармакопейная статья; лекарственные формы; стандартизация; гармонизация.

DOSAGE FORMS AND THEIR ROLE IN MODERN HOMEOPATHIC PRACTICE

E.I. Sakanyan¹, N.D. Bunyatyan¹, M.N. Lyakina¹, N.S. Tereshina², T.B. Shemeryankina¹, N.A. Postoyuk¹

¹Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia
²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Research Institute
of Pharmacy, 8/2 Trubetskaya Street, Moscow, 119991, Russian Federation.

Abstract: The research related to the development of general monographs regulating the requirements for dosage forms used in homeopathic practice is of current interest. The need to harmonize the requirements for the mentioned dosage forms in Russia and abroad is evident, which indicates the reasonability of establishing national standards for the quality of dosage forms for domestic homeopathic medicines. The content of the mentioned standards should be harmonized with the requirements for dosage forms used in allopathic practice.

Key words: homeopathic medicines; general monograph; dosage forms; standardization; harmonization.

В настоящее время гомеопатический метод лечения по-прежнему востребован и широко применяется в различных странах мирового сообщества. Об этом свидетельствует тот факт, что в Европейскую, Американскую и Индийскую фармакопеи, фармакопею Великобритании и другие фармакопеи включены монографии на гомеопатические лекарственные средства. Кроме того, в ряде стран (Германия, Франция, Великобритания, США, Индия) регулярно издаются гомеопатические фармакопеи, в которых содержатся монографии не только на гомеопатические препараты, но и на лекарственные формы, методы анализа гомеопатических лекарственных средств [13–17].

Отечественная гомеопатическая практика имеет свои характерные особенности, так как именно Россия в первой половине XIX века стала первой в мире страной, в которой Высочайшим Императорским Указом было официально разрешено использовать в медицинской практике гомеопатические методы лечения. В последующие годы представители российской медицины (ученые и практики) внесли су-

щественный вклад в развитие технологии гомеопатических ЛС, хотя за основу ими была взята немецкая гомеопатическая фармация. Например, альтернативно способ разведения гомеопатических лекарственных средств по С. Ганнеману в мировую практику был введен способ разведения по С. Корсакову [1, 14].

Согласно дефинициям одного из наиболее значимых зарубежных документов «Основы современного законодательства в Европейском союзе», «гомеопатический лекарственный препарат означает любой лекарственный препарат, приготовленный из продуктов, субстанций или составов, называемых гомеопатическим сырьем, в соответствии с процедурой производства гомеопатического препарата, описанной в Европейской фармакопее или в фармакопеех, официально используемых в настоящее время в государствах – членах ЕС». Гомеопатический препарат может содержать одно и более действующих веществ [3, 5].

Согласно определению ФЗ-61 «Об обращении лекарственных средств» от 12 апреля 2010 г. «Гомеопатическое лекарственное средство – лекарственное

средство, произведенное или изготовленное по специальной технологии».

Под специальной технологией подразумевается обязательное потенцирование (или динамизация) лекарственных средств, заключающееся в последовательном, ступенчатом разведении исходного материала путем добавления к нему определенных объемов растворителя или такого же последовательного тритурирования субстанции с твердыми веществами-разбавителями, в качестве которых чаще всего используют сахар молочный или глюкозу. При этом разведения исходных субстанций могут быть десятичными, сотенными и даже тысячными, что в большинстве случаев затрудняет или делает невозможной процедуру идентификации субстанции (субстанций), ее/их количественное определение в составе лекарственного гомеопатического препарата [2, 7].

С момента издания Приказа МЗ РСФСР № 115 от 01.07.91 г. «О развитии гомеопатического метода лечения в медицинской практике и улучшении организации обеспечения населения гомеопатическими лекарственными средствами» и Приказа Минздравмедпрома России № 335 от 29.11.95 г. «Об использовании метода гомеопатии в практическом здравоохранении» началась не только государственная регистрация гомеопатических лекарственных средств в Российской Федерации, но и работа по созданию единых стандартов качества. Этому во многом способствовало создание в 1992 г. (Приказ Минздравмедпрома России № 308) специализированной комиссии Фармакопейного комитета, которой было дано право проводить экспертизу нормативной документации на гомеопатические лекарственные средства, представляемой на регистрацию отечественными и зарубежными производителями. С 1997 года, сначала – Фармакопейным комитетом, позднее Институтом стандартизации и контроля лекарственных средств, а после реорганизации – Центром стандартизации лекарственных средств проводились экспертиза и рассмотрение стандартов качества предприятий на гомеопатические лекарственные средства и государственных стандартов качества, распространяющихся на гомеопатические лекарственные формы. Был подготовлен и утвержден целый блок общих фармакопейных статей (ВФС/ОФС) на гомеопатические лекарственные формы. Общее число утвержденных ОФС составило более 20 наименований: «Гомеопатические препараты на основе масел», «Гранулы гомеопатические», «Капли глазные гомеопатические», «Карамель гомеопатическая», «Настои и отвары гомеопатические», «Настойки гомеопатические матричные», «Настойки гомеопатические матричные ферментированные», «Растворы инъекционные гомеопатические», «Растворы и разведения (потенции) гомеопатические», «Разведения (потенции) гомеопатические», «Сиропы гомеопатические», «Смеси гомеопатические», «Суппозитории гомеопатические», «Таблетки гомеопатические», «Тритурации гомеопатические» и др.

Номенклатура лекарственных форм, применяемых в гомеопатической практике в последние годы значительно приблизилась к аллопатической [1, 10].

Так, например, наряду с наиболее распространенными в гомеопатической практике лекарственными формами, такими как гранулы, капли, оподельдоки, в настоящее время широко применяются таблетки, растворы для инъекций, глазные капли, суппозитории и т.д. [10].

Перечень современных гомеопатических лекарственных форм насчитывает более 25 наименований.

Анализ содержания общих монографий на отдельные лекарственные формы, представленные в гомеопатической фармакопее Германии, Франции, ЕФ, USP, BP и других ведущих зарубежных фармакопеех позволили сделать заключение о том, что многие из них аналогичны таковым, приведенным в общих фармакопейных статьях на аллопатические ЛС. Из наиболее характерных для гомеопатии и, в связи с этим, имеющим выраженную специфику в описании технологии получения, следует отметить настойки гомеопатические матричные и их различные разновидности (ферментированные, на глицерине т.д.), гранулы гомеопатические, настои и отвары гомеопатические, масла гомеопатические, оподельдоки гомеопатические жидкие, тритурации гомеопатические и некоторые другие. В описании технологии получения таких лекарственных форм, как таблетки, капли глазные, растворы для инъекций и некоторых других воспроизводятся общепринятые требования. Такого же принципа придерживались и разработчики проектов ОФС на отечественные гомеопатические ЛФ, предназначенные к включению в ГФ РФ. Однако, как в зарубежных общих монографиях, так и в отечественных ОФС, посвященных ЛФ, обязательно отмечаются особенности введения в них потенцируемых субстанций [4, 5, 6, 10].

Перечень показателей качества, их нормируемых значений и методы контроля также максимально гармонизированы с требованиями аналогичных монографий зарубежных фармакопеех [9, 14, 15].

Таким образом, количество проектов ОФС на гомеопатические ЛФ и их содержание приближено к фармакопейным стандартам качества, прежде всего – к Гомеопатической фармакопее Германии и ориентировано на национальные особенности отечественной гомеопатической практики [14].

В соответствии с «Правилами государственной регистрации лекарственных средств», утвержденными МЗ РФ от 01.12.98 г., гомеопатические препараты подлежат государственной регистрации и внесению в Государственный реестр лекарственных средств. В их число входят и настойки гомеопатические матричные [11, 12].

Сравнительный анализ содержаний монографий на настойки матричные гомеопатические (НГМ), представленные в гомеопатической фармакопее Германии, а также в фармакопеех: Франции, EP,

USP, BP показал, что они также имеют примерно одинаковую структуру и помимо требований, предъявляемых к их качеству, содержат краткую характеристику исходного лекарственного растительного сырья. Как правило, для получения НГМ используют свежесобранное лекарственное растительное сырье (ЛРС), реже высушенное. Вместе с тем, традиции российской фармакогностической школы предусматривают обязательное наличие отдельной фармакопейной статьи на лекарственное растительное сырье, используемое для получения НГМ. В связи с этим, представляется целесообразным разработка отдельной ФС на исходное сырье (свежее или высушенное, или то и другое) представлять вместе с ФС на соответствующую ГНМ, делая комплект документов на источник получения НГМ и настойку. Этот подход оправдан, так как отдельные виды ЛРС могут использоваться и в аллопатической практике, а выделение раздела по ЛРС в отдельную ФС позволяет проводить сквозную стандартизацию «сырье—НГМ». В настоящее время в Государственный реестр лекарственных средств РФ включены 16 ФС на НГМ, производство которых возможно на территории РФ, в том числе и из отечественных сырьевых источников [8, 9, 11].

Поскольку ранее отмечалось, что к числу наиболее специфичных для гомеопатии ЛФ следует отнести НГМ, то представляется целесообразным более подробно остановиться на структуре ОФС на НГМ [8, 12].

ОФС на НГМ обязательно содержит описание способов получения настоек. В зависимости от способа обработки используемого (свежее или высушенное) лекарственного растительного сырья, характера содержащихся в нем биологических активных соединений подробно описывается и способ получения настойки. В гомеопатической фармакопее Германии и Европейской фармакопее подобная информация приведена в разделе «Production» («Производство») со ссылкой на параграф статьи «*Specific methods of production*» («Специальные методы производства») [9, 14, 15].

Стандарт качества содержит набор показателей качества таких же, как и международные стандарты:

– «Описание», раздел, в котором приведена характеристика самой настойки с указанием ее цвета и специфического запаха (в случае его наличия).

– «Подлинность», этот раздел приводится в ОФС на препарат и содержит испытания, которые могут установить присутствие биологически активных соединений с помощью качественных реакций, а также методом хроматографии в тонком слое сорбента. Для этой цели могут быть дополнительно использованы и другие методы физико-химического анализа: спектрофотометрия в УФ-области спектра, высокоэффективная жидкостная хроматография/газовая хроматография.

– «Плотность» с указанием допустимого интервала и ссылкой на метод определения, согласно требованиям ГФ РФ.

– «Сухой остаток» с указанием нормы его содержания в % (нормирование по нижнему пределу) и ссылкой на метод определения согласно требованиям ГФ РФ.

– «Тяжелые металлы» с указанием норм содержания в % (нормирование по нижнему пределу) и ссылкой на метод определения согласно требованиям ГФ РФ.

– «Микробиологическая чистота», в соответствии с которой качество настойки гомеопатической должно удовлетворять требованиям ГФ РФ.

– «Испытание на четвертое десятичное разведение (D4)», которое вводится для оценки безопасности субстанции в стандарт качества, распространяющийся на настойку из сырья, содержащего сильнодействующие и ядовитые вещества.

– «Количественное определение», раздел, как правило, относится непосредственно к препарату, в котором должна быть подробно описана методика определения содержания биологически активных веществ (алкалоидов и др.) с использованием различных методов химического или физико-химического анализа, титриметрии, спектрофотометрии в ультрафиолетовой или видимой областях спектра, метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для настоек, полученных из сырья, содержащего сильнодействующие вещества. При этом, содержание суммы биологически активных веществ должно регламентироваться с использованием метода двустороннего нормирования «от ...% до ...%» (в случае пересчета на доминирующий компонент/стандарт). Характеризует качество препарата [8, 11, 12].

«Хранение» для всех настоек гомеопатических матричных должно быть регламентировано термином «В защищенном от света месте», если не указано иначе в частной нормативной документации.

Для настоек гомеопатических матричных растительного происхождения, содержащих сильнодействующие или ядовитые вещества, (и их разведений до D3) с предусмотренным проведением испытания на D4 или без него дополнительно предписывается условие «Хранить с осторожностью!».

Пересмотр общих фармакопейных статей на гомеопатические лекарственные формы проводится параллельно с пересмотром ОФС на аналогичные аллопатические лекарственные формы с тем, чтобы избежать их дублирования, а также с учетом реально существующих на фармацевтическом рынке РФ гомеопатических лекарственных форм.

При этом, по мере введения в действие пересмотренных общих фармакопейных статей на методы анализа, такие как: «Хроматография в тонком слое сорбента», «Газовая хроматография», «Высокоэффективная жидкостная хроматография», «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» и др. соответствующие коррективы должны быть внесены в разделы «Подлинность», «Количественное определение» фармакопейных статей (ФС) на настойки гоме-

опатические матричные с учетом методологии описания текстов в ФС на фармацевтические субстанции.

Принятие Российской Федерации в качестве официального наблюдателя в Комиссию Европейской фармакопеи обусловило необходимость гармонизации требований, приведенных в отечественных стандартах качества (ФС) на гомеопатические лекарственные средства, с европейскими требованиями.

В связи с этим, раздел «Анализ на чистоту» ФС на НГМ объединяет такие числовые показатели, как: «Относительная плотность», «Сухой остаток».

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1. М.: Медицина; 1987.
2. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 2. М.: Медицина; 1989.
3. Кейн С. Гомеопатическая фармация. М.: Гомеопатическая медицина; 2002.
4. Келлер Г. Гомеопатия. М.: Медицина; 1989.
5. Костенникова ЗП, Акашкина ЛВ, Островский АЗ. Введение в гомеопатическую фармацию. М.: Симилия; 2003.
6. Ладыгина ЕЯ, Сафронич ЛН, Отрышенкова ЛА и др. Химический анализ лекарственных растений. М.: Высшая школа; 1983.
7. Патудин АВ, Мищенко ВС, Ильенко ЛИ. Гомеопатические лекарственные средства, разрешенные в Российской Федерации для применения в здравоохранении и ветеринарии. М.: Валанг; 2005.
8. Багирова ВЛ, ред. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация. СПб.: СпецЛит; 2001.
9. Сборник методических рекомендаций по стандартизации лекарственных средств. М.: Пеликан; 2006.
10. Хабриев РУ, ред. Сборник фармакопейных статей по гомеопатии. М.; 2005 г.
11. ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.
12. ОФС 42-2700-06. Настойки гомеопатические матричные.
13. Ayurvedic Pharmacopoeia of India. V. 1-6. New Delhi: Department of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha and Homoeopathy; 2008.
14. Homeopathisches Arzneibuch 2000. HAB 2000. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2000.
15. Pharmacopée Française. X édition. 6 Supplement: Monographies de souches pour préparation homéopathiques. Paris; 1989.
16. British Herbal Pharmacopoeia. IV edition. 2001.
17. The Homeopathic Pharmacopoeia of the United States—1988. 1990.

ОБ АВТОРАХ:

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

Саканян Елена Ивановна. Директор Центра фармакопеи и международного сотрудничества, д-р фарм. наук.

Бунятян Наталья Дмитриевна. Заместитель генерального директора по научной работе, д-р фарм. наук.

Лякина Марина Николаевна. Заместитель начальника управления экспертизы № 3, д-р фарм. наук.

Шемерянкина Татьяна Борисовна. Начальник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа, канд. фарм. наук.

Постюк Наталья Александровна. Научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа.

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Научно-исследовательский институт фармации, Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2.

Терешина Наталья Сергеевна. Заведующий лабораторией фармакогнозии, д-р фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Шемерянкина Татьяна Борисовна; Shemeryankina@expm.ru

Статья поступила 03.06.2014 г.

В заключение следует отметить необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на создание отечественных стандартов качества на гомеопатические лекарственные формы, требования которых гармонизированы с аналогичными монографиями аллопатических лекарственных форм и монографиями ведущих зарубежных фармакопей, в том числе гомеопатических.

REFERENCES

1. The State Pharmacopoeia of USSR. 11th ed. V. 1. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian).
2. The State Pharmacopoeia of USSR. 11th ed. V. 2. Moscow: Meditsina; 1989 (in Russian).
3. Keyn S. Homeopathic pharmacy. Moscow: Gomeopaticheskaya Meditsina; 2002 (in Russian).
4. Keller G. Homeopathy. Moscow: Meditsina; 1989 (in Russian).
5. Kostennikova ZP, Akashkina LV, Ostrovskiy AZ. Introduction to homeopathic pharmacy. Moscow: Similiya; 2003 (in Russian).
6. Ladygina EYa, Safronich LN, Otryashenkova LA et al. Chemical analysis of medicinal plants. Moscow: Vyshaya shkola; 1983 (in Russian).
7. Patudin AV, Mischenko VS, Iliencko LI. Homeopathic medicines allowed in the Russian Federation for use in public health and veterinary. Moscow: Valang; 2005 (in Russian).
8. Bagirova VL, ed. Tinctures, extracts, elixirs and their standardization. St. Petersburg: SpetsLit; 2001 (in Russian).
9. Collection of guidelines for standardization of medicines. Moscow: Pelikan; 2006 (in Russian).
10. Habriev RU, ed. Collection of pharmacopoeia articles on homeopathy. Moscow; 2005 (in Russian).
11. State Standard 91500.05.001-00. Standards of quality of medicines. Fundamentals (in Russian).
12. General pharmacopoeia article 42-2700-06. Homeopathic tinctures matrix (in Russian).
13. Ayurvedic Pharmacopoeia of India. V. 1-6. New Delhi: Department of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha and Homoeopathy; 2008.
14. Homeopathisches Arzneibuch 2000. HAB 2000. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2000.
15. Pharmacopée Française. X édition. 6 Supplement: Monographies de souches pour préparation homéopathiques. Paris; 1989.
16. British Herbal Pharmacopoeia. IV edition. 2001.
17. The Homeopathic Pharmacopoeia of the United States—1988. 1990.

AUTHORS:

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

Sakanyan EI. Director of Center for pharmacopoeia and international cooperation. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Bunyatyan ND. Deputy Director General for the scientific work. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Lyakina MN. Deputy head of Expertise office of medicines № 3. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Shemeryankina TB. Head of the Department of State Pharmacopoeia and pharmacopoeia analysis. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Postoyuk NA. Researcher of the Department of State Pharmacopoeia and pharmacopoeia analysis.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Research Institute of Pharmacy, 8/2 Trubetskaya Street, Moscow, 119991, Russian Federation.

Tereshina NS. Head of the Laboratory of Pharmacognosy. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Принята к печати 05.06.2014 г.

XII международная конференция по биоаналогам (Лондон, Великобритания)

3–4 апреля 2014 года в Лондоне (Великобритания) состоялась XII международная конференция по биоаналогичным препаратам, организованная Европейской ассоциацией по воспроизведенным препаратам (European generic medicines association, EGA), скоординированная Европейской группой по биоаналогам (подразделение EGA).

Основные вопросы, освещенные на конференции:

- текущее состояние и перспективы рынка биоаналогов;
- бизнес-возможности производителей биоаналогов за пределами ЕС и США;
- последние изменения, касающиеся первых руководств ЕМА (European Medicines Agency, Европейское агентство по лекарственным средствам);
- развитие глобальных подходов к разработке биоаналогов: взгляд ЕМА, FDA (Food and Drug Administration, Администрация по пищевым продуктам и лекарственным препаратам) и KFDA (The Korean Food and Drug Administration, Администрация по пищевым продуктам и лекарственным препаратам Кореи);
- представление текущего опыта назначения биологических лекарственных препаратов, присвоения им наименований, отслеживания и фармаконадзора в ЕС;
- экстраполяция показаний: опыт регуляторов с оценкой первого биоаналогичного моноклонального антитела;
- концепция биоаналогичности: смена парадигмы ключевых заинтересованных сторон;
- биоаналоги для врачей: интерактивная дискуссия с авторитетными врачами и представителями основных уполномоченных органов ЕС.

На конференции выступали представители различных организаций, в том числе ЕМА, Европейской комиссии, FDA, ВОЗ, Министерства по пищевым продуктам и безопасности лекарственных препаратов Республики Корея, представители Автономного университета Барселона, Института Утрехта, Университета Париж-Дофин и других организаций. Открывал и выступал в качестве председателя конференции директор EGA Адриан ван ден Ховен.

Ханс Эбберс (Институт Утрехта, Нидерланды) в своем выступлении рассказал о зарегистрированных в ЕС биоаналогах и более подробно остановился на процессе подтверждения биоаналогичности первого зарегистрированного в ЕС биоаналога моноклонального антитела Ремзиме (то же Инфлектра – инфликсимаб), а также на возможных проблемах, связанных с безопасностью применения биоаналогов.

Сальватор Д'Эканто (Генеральный директорат по предпринимательству и промышленности, Европейская комиссия) рассказал о деятельности созданной в рамках деятельности Европейской комиссии Проектной группы по биоаналогам, которая разработала

согласованный информационный документ «Что вы должны знать о биоаналогичных лекарственных препаратах», с определенными вопросами и ответами для пациентов, врачей и спонсоров.

Иорданис Граванис (Департамент управления процедурами, ЕМА) рассказал об эволюции директив и руководящих принципов, регулирующих обращение биоаналогов в ЕС; представил данные о количестве поданных досье в ЕМА с целью регистрации лекарственных препаратов как биоаналогичных. Иорданис Граванис также рассказал об изменениях, вносимых в действующие общие руководства ЕС по биоаналогичным препаратам. Завершение пересмотра общих руководящих принципов планируется в 2014 году.

Стивен Козловски (Управление по биотехнологической продукции Центра по оценке и исследованиям лекарственных средств, FDA, США) в своем докладе представил подходы FDA к научным принципам подтверждения биоаналогичности. В настоящее время научные руководства, подробно описывающие подходы к подтверждению биоаналогичности в США, находятся в стадии разработки.

Дживон Янг (Отдел рекомбинантных белковых препаратов, MFDS, Республика Корея) рассказала о регулировании биоаналогов в Республике Корея и разработках в Азиатско-Тихоокеанском экономическом сотрудничестве (АТЭС). Корейская законодательная база для регулирования биоаналогичных препаратов была создана в сентябре 2009 г., что нашло отражение в Уведомлении Министерства по пищевым продуктам и безопасности лекарственных препаратов (Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) Notification).

Клод Ле Пен (Университет Париж-Дофин, Франция) выступил с докладом об особенностях рынка биоаналогов во Франции, а также о действующем во Франции «Перечне групп биоаналогов» (The List of Biosimilar Groups), за создание и актуализацию которого отвечает Агентство по лекарственным средствам Франции (The Drug Agency (ANSM)). Данный документ содержит: наименования лекарственных препаратов сравнения; список биоаналогов, разрешенных для замены на препарат сравнения; некоторые наблюдения о процессе замещения. Замена, не предусмотренная этим списком, не разрешается.

Регулярные встречи и обмен информацией между всеми заинтересованными сторонами позволяют отслеживать новые разработки, внедрение в практику новых биоаналогов, что повышает осведомленность и информированность об этой категории лекарственных препаратов. Международное сотрудничество в сфере регулирования обращения биоаналогов позволит гармонизировать подходы к их регистрации на основе современных научных требований.

А.Н. Васильев, Р.Р. Ниязов, Е.А. Тутер