

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

www.regmed.ru

2016
№ 1

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

СОДЕРЖАНИЕ

№ 1 2016

МЕТОДОЛОГИЯ ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

- В. К. Лепяхин, Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов, Н. Д. Бунятян, Б. К. Романов, А. Н. Яворский, Е. М. Рычихина
История создания и развития контрольно-разрешительной системы лекарственных средств
в России (25 лет со времени создания первого государственного учреждения по экспертной
оценке лекарственных средств) 3
- М. С. Рябцева, Т. А. Батушвили, Г. А. Сапожникова, Н. П. Неугодова, Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов
История развития и современное состояние биологических тестов в России 11
- О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Е. С. Новик, Г. М. Булгакова, Л. В. Колосова, И. А. Буйлова, М. В. Рощина
Развитие микробиологических методов анализа лекарственных средств 15

РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

- Л. И. Митькина
Новые возможности определения содержания действующих веществ
в органических соединениях 19
- Р. А. Абрамович, О. Г. Потанина, В. В. Чистяков, С. В. Горяинов, А. Н. Воробьев, А. В. Никулин
Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) РУДН —
современная экспериментальная база для разработки нормативов лекарственных средств 22
- А. В. Сыроешкин, Т. В. Плетенева, Е. В. Успенская, О. В. Левицкая
Оптические методы в исследованиях хиральных свойств лекарственных средств. I. Валин в воде
с различным содержанием дейтерия 25

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

- Ю. Е. Бурда, С. В. Надеждин, Е. В. Зубарева, М. В. Покровский, С. Ю. Бурда, М. С. Ширина
Тест-система для оценки активности ингибиторов GSK-3 в качестве антигипоксантов
и индукторов дифференцировки эндотелиальных предшественников *in vitro* 29

СТАНДАРТИЗАЦИЯ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

- Т. Н. Боковикова, Е. П. Герникова, Е. И. Саканян, Н. Д. Бунятян, Л. И. Шишова, Л. А. Стронова, С. А. Манаева
Отбор проб в современном фармацевтическом анализе 33
- Ю. В. Олефир, Т. Н. Боковикова, Л. А. Стронова, Е. П. Герникова, Л. И. Митькина, С. А. Манаева,
Ю. Б. Пурим, А. В. Пичугин
Определение видимых механических включений в лекарственных формах
для парентерального применения и глазных лекарственных формах 37
- И. А. Самылина, В. А. Куркин, Г. П. Яковлев
Научные основы разработки и стандартизации лекарственных растительных средств 41
- Г. М. Бобизода, Н. Д. Бунятян, А. Н. Шахматов
Стандартизация пептидного препарата тимозин 45
- Д. А. Леонтьев
Система вторичных стандартных образцов в лабораториях контроля качества
лекарственных средств 50

РАЦИОНАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

- А. Л. Хохлов, Ю. В. Рыбачкова
Генетическое тестирование в прогнозировании и течении хронической сердечной недостаточности
на фоне артериальной гипертензии 56

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

- А. А. Елапов, Т. М. Каргина, В. А. Меркулов
Патентно-информационный поиск при подготовке проектов фармакопейных статей
на лекарственные средства 61

РАЗНОЕ

- Юбилей В. К. Лепяхина. 64

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

Главный редактор
Ю. В. Олефир

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

Ответственный секретарь
А. Н. Яворский

Редактор
С. А. Калинин

Редакционная коллегия
Р. Н. Аляутдин
В. П. Бондарев
И. В. Борисевич
А. Н. Васильев
Е. Л. Ковалева
В. Г. Кукес
В. К. Лепяхин
Н. В. Медунитцын
А. А. Мовсесянц
Б. К. Романов
А. Б. Прокофьев
Е. И. Саканян
Р. И. Ягудина

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

Свидетельство о регистрации средства массовой
информации: ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.
© Ведомости НЦЭСМП
Адрес: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2
Телефоны: +7 495 214-62-19 (редакция);
+7 495 625-43-50 (факс); +7 495 625-43-42 (секретариат)
E-mail: vedomosti@expmed.ru
http://www.regmed.ru

Подписано в печать 20.02.2016.
Формат 60×90/8. Печ. л. 8,0
Бумага мелованная. Печать офсетная
Заказ № VED-1(16). Тираж 200 экз.
Отпечатано в Издательском доме «Фолиум»
127238, а/я 42, Москва, Дмитровское ш., 157
Тел.: +7 499 258-08-28
E-mail: press@folium.ru, www.folium.ru



Editor in chief

Yu. V. Olefir

Deputy chief editors

N. D. Bunyatyan

V. A. Merkulov

Executive editor

A. N. Yavorsky

Editor

S. A. Kalinichev

Editorial staff

R. N. Alyautdin

V. P. Bondarev

I. V. Borisevich

A. N. Vasilyev

E. L. Kovaleva

V. G. Kukes

V. K. Lepakhin

N. V. Medunitsyn

A. A. Movsesyants

B. K. Romanov

A. B. Prokofiev

E. I. Sakanyan

R. I. Yagudina

Editorial board

V. A. Aleshkin (Moscow)

Sh. A. Baidullaeva (Almaty)

G. M. Bobizoda (Dushanbe)

A. L. Gintsburg (Moscow)

A. D. Durnev (Moscow)

E. E. Zvartau

(Saint-Petersburg)

A. Zurdinov (Bishkek)

I. G. Kozlov (Moscow)

V. I. Kocherovets (Moscow)

A. G. Mulyar (Moscow)

A. V. Nadzharyan (Minsk)

V. I. Petrov (Volgograd)

A. A. Svistunov (Moscow)

D. A. Sychev (Moscow)

V. V. Udut (Tomsk)

A. L. Khokhlov (Yaroslavl)

V. P. Chekhonin (Moscow)

N. L. Shimanovsky

(Moscow)

METHODOLOGY OF EXPERT EVALUATION OF MEDICINES

V. K. Lepakhin, Yu. V. Olefir, V. A. Merkulov, N. D. Bunyatyan, B. K. Romanov, A. N. Yavorsky, E. M. Rychihina

The landmarks of control and licensing system development for medicinal products in Russia
(25 years since the establishment of the first state institution for expert evaluation of medicinal products) 3

M. S. Ryabtseva, T. A. Batuashevili, G. A. Sapozhnikova, N. P. Neugodova, Yu. V. Olefir, V. A. Merkulov

History and current status of biological tests in Russia 11

O. V. Gunar, N. G. Sakhno, E. S. Novik, G. M. Bulgakova, L. V. Kolosova, I. A. Buylova, M. V. Roshchina

The development of microbiological methods for drug analysis 15

DEVELOPMENT OF MEDICINES

L. I. Mitkina

New opportunities for the determination of active substances in organic compounds. 19

R. A. Abramovich, O. G. Potanina, V. V. Chistyakov, S. V. Goryainov, A. N. Vorobiev, A. V. Nikulin

Shared knowledge centre (Research and education centre) of the Peoples' Friendship University of Russia
as a modern experimental basis for the development of drug standards 22

A. V. Syroeshkin, T. V. Pleteneva, E. V. Uspenskaya, O. V. Levitskaya

Optical methods in the study of drug chiral properties. I. Valine in aqueous solutions
with different deuterium content 25

PRECLINICAL AND CLINICAL STUDY OF MEDICINES

Yu. E. Burda, S. V. Nadezhdin, E. V. Zubareva, M. V. Pokrovsky, S. Yu. Burda, M. S. Shirina

Test-system for the assessment of GSK-3 inhibitors activity as antihypoxants and endothelial
differentiation stimulators *in vitro* 29

STANDARDIZATION AND QUALITY CONTROL OF MEDICINES

T. N. Bokovikova, E. P. Gernikova, E. I. Sakanyan, N. D. Bunyatyan, L. I. Shishova,

L. A. Stronova, S. A. Manaeva

Sampling in modern pharmaceutical analysis 33

Yu. V. Olefir, T. N. Bokovikova, L. A. Stronova, E. P. Gernikova, L. I. Mitkina, S. A. Manaeva,

Yu. B. Purim, A. V. Pichugin

Determination of visible particles in parenteral dosage forms and ophthalmic dosage forms 37

I. A. Samylina, V. A. Kurkin, G. P. Yakovlev

Scientific basis of the development and standardization of herbal medicines 41

G. M. Bobizoda, N. D. Bunyatyan, A. N. Shakhmatov

Standardization of the peptide preparation timocin 45

D. A. Leontiev

The system of secondary reference standards in drug quality control laboratories 50

RATIONAL USE OF MEDICINES

A. L. Khokhlov, Yu. V. Rybachkova

Genetic testing for forecasting and course of the chronic heart failure against the background
arterial hypertension 56

GENERAL AND TOPICAL ARTICLES

A. A. Elapov, T. M. Kargina, V. A. Merkulov

Patent information retrieval in the preparation of pharmacopeia articles on drugs projects 61

OTHER

Jubilee of V. K. Lepakhin 64



Mass media registration certificate:
PI №FS77-53169 dated 14 March 2013

© SCEMAP Bulletin

Address: 127051, Moscow, Petrovskiy boulevard, 8—2

Tel: +7 495 214-62-19 (editors office);

+7 495 625-43-50 (fax); +7 (495) 625-43-42 (secretariat)

E-mail: vedomosti@expmed.ru

http://www.regmed.ru

Passed for printing 20.02.2016.

Format 60×90/8.

Printed sheets: 8,0

Enamel-paper. Offset printing.

Order № VED-1(16).

Circulation of 200 copies

Printed in Folium Publishing Company

157, Dmitrovskoe sh., Moscow, P.O. Box 42, 127238

История создания и развития контрольно-разрешительной системы лекарственных средств в России (25 лет со времени создания первого государственного учреждения по экспертной оценке лекарственных средств)

В. К. Лепяхин, Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов, Н. Д. Бунятян,
Б. К. Романов, А. Н. Яворский, Е. М. Рычихина

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

Статья поступила 12.01.2016 г. Принята к печати 08.02.2016 г.

Резюме: В статье представлена история создания и развития контрольно-разрешительной системы оценки, регистрации и обращения лекарственных средств. Необходимость создания для этих целей специального государственного учреждения была реализована организацией в 1990 году Всесоюзного научного центра экспертизы лекарственных средств (в 1992 году переименованного в Российский государственный центр экспертизы лекарств). Этот центр обеспечивал экспертную оценку материалов на новые лекарственные препараты, организовывал и мониторировал клинические испытания, рассматривал их результаты, готовил рекомендации по регистрации и медицинскому применению новых лекарств, а также выполнял функции Федерального центра по изучению побочных действий лекарственных средств. Российский государственный центр экспертизы лекарств явился основой функционирующего в настоящее время ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения».

Ключевые слова: лекарственные средства; экспертиза; клинические испытания; побочные действия; регистрация.

Библиографическое описание: Лепяхин ВК, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Бунятян НД, Романов БК, Яворский АН, Рычихина ЕМ. История создания и развития контрольно-разрешительной системы лекарственных средств в России (25 лет со времени создания первого государственного учреждения по экспертной оценке лекарственных средств). Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 3–10.

В ноябре 2015 года исполнилось 25 лет со дня организации Всесоюзного центра экспертизы лекарственных средств Минздрава СССР – первого государственного учреждения, специально созданного в нашей стране для проведения экспертной оценки лекарственных средств. Для того чтобы представить себе значимость создания такого центра для обеспечения населения качественными, эффективными и безопасными лекарственными препаратами и его роль в совершенствовании отечественной контрольно-разрешительной системы, необходимо рассмотреть историю развития этой системы с первых лет создания нашего государства.

ПРЕДЫСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ВСЕСОЮЗНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ МИНЗДРАВА СССР

В первые годы после Октябрьской революции Советом Народных Комиссаров были изданы декреты, предусматривающие упорядочение не только здравоохранения в целом, но и вопросы лекарственной помощи населению.

Принципиально важным шагом в этом направлении было издание Декрета Всероссийского Центрального Исполнительного Комитета от 21 июля 1918 года об утверждении Народного комиссариата здравоохранения (НКЗ). В утвержденном положении о НКЗ было сказано, что на него возлагается издание общеобязательных для всех учреждений РСФСР рас-

поряжений и постановлений в области медико-санитарного дела.

Этим положением предусматривалась передача в распоряжение органов здравоохранения всех правовых актов, связанных с организацией медицинской помощи населению, в том числе вопросов разрешения применения лекарственных средств.

С целью осуществления контроля качества разрешенных для применения лекарственных средств НКЗ поручил специально созданной в 1923 году Фармакопейной комиссии под председательством профессора А. Е. Чичибабина подготовить проект новой советской фармакопеи. С июля 1926 года первое издание Советской фармакопеи, названное VII изданием Государственной фармакопеи СССР (первые 6 фармакопей были изданы еще в дореволюционный период), было введено в действие.

Первое «Положение о регистрации готовых фармацевтических средств и новых фармацевтических препаратов» было утверждено циркуляром НКЗ от 25 мая 1926 года.

В этом Положении предписывались следующие требования:

– учреждения и лица, желающие выпускать в продажу фармацевтические готовые средства и новые препараты, должны зарегистрировать таковые в лечебном отделе НКЗ.

При заявлении на регистрацию требовалось представить:

а) наименование средства и состав его;

- б) протокол химического анализа и результат клинических наблюдений, если таковые имеются;
- в) четыре образца средства с предполагаемой формой упаковки и проектом надписи на ней;
- г) сообщение о предполагаемой цене препарата;
- д) сведения об оборудовании предприятия, условиях производства и его адрес.

На упаковке означенных средств и в предлагаемых проспектах должны быть указаны состав средства, дата изготовления и не должно быть указаний на медицинское применение и терапевтический эффект.

При регистрации означенных в этом положении средств Лечебный отдел руководствуется утвержденной НКЗ инструкцией.

В инструкции к Положению указывалось, что:

- новые препараты допускаются к регистрации после фармацевтического и клинического испытания их ценности;
- реклама средств в общей печати, плакатах, проспектах и т.п. изданиях, предназначенных для сведения больных, с восхвалением медицинского значения и терапевтических результатов не допускается. Клинические сведения и данные о зарегистрированных препаратах могут помещаться в медицинских и фармацевтических изданиях.

В 1937 году Совет Народных Комиссаров СССР принял специальное решение «О производстве и выпуске новых фармацевтических препаратов», в соответствии с которым:

- изготовление и выпуск в продажу новых фармацевтических препаратов могут производиться исключительно государственными и кооперативными предприятиями и не иначе как с разрешения НКЗ СССР на каждый новый препарат;
- НКЗ СССР дает разрешение на выпуск препарата или отказывает в таковом;
- каждый разрешенный к производству и выпуску новый фармацевтический препарат в НКЗ СССР заносится в специальный Государственный реестр разрешенных к производству и выпуску в СССР новых фармацевтических препаратов;
- в медицинской практике могут применяться только лекарственные средства, включенные в Государственный реестр.

Таким образом, уже более 75 лет назад в Советском Союзе был установлен определенный порядок апробации новых лекарственных средств, а их разрешение к медицинскому применению и производству было поставлено под государственный контроль.

В 1938 году из состава Фармакопейной комиссии была выделена Фармакологическая комиссия, которая в последующем была переименована в Фармакологический комитет, первым председателем которого стал профессор В. В. Николаев.

Задачами этой экспертной организации было рассмотрение материалов по экспериментальным и клиническим исследованиям эффективности и безопасности новых лекарственных препаратов и подготовка рекомендаций к разрешению их применения в медицинской практике и промышленному выпуску.

Дальнейшее развитие и совершенствование контрольно-разрешительной системы шло по пути как создания новых специализированных подразделений

Минздрава СССР, так и многочисленных порой неоправданных реорганизаций.

Так, в 1958 году с целью ускорения внедрения в медицинскую практику новых эффективных препаратов было решено ввести децентрализованную систему регистрации, при которой республиканские министерства здравоохранения имели право проводить у себя первичные клинические испытания, после чего материалы представлялись в Фармакологический комитет для решения вопросов о широких клинических испытаниях и принятия окончательного решения о возможности разрешения медицинского применения соответствующего лекарственного вещества в качестве лекарственного средства. Эта система просуществовала 5 лет и показала, что вместо ожидаемых преимуществ она принесла ряд недостатков, которые приводили с одной стороны, к удлинению сроков испытания и регистрации лекарственных средств, с другой — к частому дублированию, так как нередко в разных союзных республиках параллельно начинались испытания одних и тех же препаратов.

В 1963 году Минздрав СССР принял решение о централизации контроля за лекарственными препаратами и создал специальное Управление по внедрению новых лекарственных средств и медицинской техники, к компетенции которого были отнесены процедуры организации и проведения испытаний, разработка и контроль необходимых документов и проектов приказов министра здравоохранения СССР о разрешении производства и применения в медицинской практике новых лекарственных препаратов и медицинской техники. Начальником этого управления был назначен Э. А. Бабаян.

В качестве экспертных органов этому управлению были приданы Фармакологический и Фармакопейный комитеты, Всесоюзный центр по изучению побочного действия лекарственных средств и Комитет по новой медицинской технике.

Фармакологический комитет имел право разрешать проведение клинических испытаний новых лекарственных средств и рекомендовать их применение в медицинской практике.

Фармакопейный комитет рассматривал и утверждал нормативно-техническую документацию (НТД) на новые препараты.

Регистрация всех лекарственных средств, включая зарубежные, проходила лишь после того, как они успешно проходили в установленном порядке клинические испытания, были одобрены Фармакологическим и Фармакопейным комитетами и разрешены приказом министра здравоохранения СССР.

Состав комитетов утверждался министром здравоохранения СССР. В них входили ведущие специалисты в области фармакологии, фармации, токсикологии, клинической фармакологии, терапии, кардиологии и других медицинских специальностей.

В различные периоды времени Фармакологическим комитетом руководили профессора Г. Н. Першин, С. И. Золотухин, член-корр. РАМН В. К. Лепяхин, академики В. С. Моисеев, Р. В. Петров, В. П. Фищенко.

Фармакопейным комитетом руководили академики РАМН М. Д. Машковский, А. П. Арзамасцев, профессор Ю. Ф. Крылов.

С целью обеспечения качества поступающих в обращение лекарственных средств в 1966 году в Минздраве СССР была создана Государственная инспекция по контролю лекарственных препаратов и изделий медицинской техники, которой был придан Государственный НИИ по контролю и стандартизации лекарственных средств.

Трудно переоценить ту роль, которую сыграли члены Фармакологического и Фармакопейного комитетов в оценке эффективности, безопасности и качества новых лекарственных средств и внедрении в медицинскую практику высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов. Однако, при этом существовавшая в СССР система экспертной оценки материалов на новые фармакологические препараты имела ряд существенных недостатков.

Прежде всего к ним можно отнести то, что члены этих комитетов выполняли свои функции по экспертной оценке материалов на новые лекарственные средства на общественных началах, дополнительно к своей основной работе, где, как правило, они были чрезвычайно загружены.

Заседания комитетов проходили один раз в две недели, и на них рассматривалось по 20–30, а иногда и больше вопросов. Материалы готовились небольшим секретариатом, и решения Фармакологического комитета как правило основывались на мнении докладчика, имевшего очень ограниченное время для ознакомления с соответствующим делом. Нередко знакомство эксперта с материалами на новый препарат происходило только во время заседания комитета.

Кроме того, члены Фармакологического и Фармакопейного комитетов не несли персональную ответственность за заключение о безопасности, эффективности и качестве новых лекарственных препаратов, представленное в устной форме. Таким образом, решения государственной важности, связанные со здоровьем миллионов людей, нередко зависели от компетентности, мнения или желания одного человека.

Существенным недостатком системы при решении вопросов о разрешении клинических исследований было также то, что заключения членов Фармакологического и Фармакопейного комитетов о качестве образцов испытуемых препаратов принимались только на основании данных, представленных разработчиком, без какого-либо контроля проведенных исследований и качества образцов, представленных для клинических испытаний. Для проведения такого контроля просто не было материально-технической базы, поэтому члены Фармакологического и Фармакопейного комитетов должны были принимать на веру то, что было написано в представленных разработчиками и заявителями материалах.

Становилось очевидным, что проводить такую чрезвычайно важную работу только на общественных началах недопустимо, что необходимо принципиальное совершенствование существовавшей тогда контрольно-разрешительной системы.

Подтверждением этому стало проведенное в 1980-х гг. председателем Фармакологического комитета профессором В. К. Лепахиным специальное исследование различных этапов изучения и регистрации новых лекарственных средств и сравнительный анализ организации и функционирования контрольно-

но-разрешительных систем разных стран (СССР, США, Великобритании, Франции и др.).

Результаты этого исследования были изложены в первой в СССР диссертации на соискание ученой степени доктора наук по этой теме («Фармакокинетические исследования и экспертиза новых лекарственных средств»), и послужили основанием для создания современной государственной системы экспертизы материалов на новые лекарственные препараты, включая контроль качества самих препаратов.

Была обоснована необходимость организации наряду с Фармакологическим и Фармакопейным комитетами государственного экспертного учреждения, ответственного за все этапы оценки новых препаратов. Такая система двойного контроля гарантировала высокий уровень объективной профессиональной оценки эффективности, безопасности и качества новых лекарственных препаратов.

ОРГАНИЗАЦИЯ И РАБОТА «ВСЕСОЮЗНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ ЛЕКАРСТВ» МИНЗДРАВА СССР

Рекомендации В. К. Лепахина удалось реализовать в ноябре 1990 года, когда по его инициативе был организован Всесоюзный научный центр экспертизы лекарственных средств (ВНЦЭЛС) Минздрава СССР, директором которого он был назначен.

ВНЦЭЛС был первым в нашей стране государственным экспертным учреждением, специально предназначенным для объективной научной оценки документации на новые лекарственные препараты и их образцов (ранее в СССР существовало только узкоспециализированное экспертное учреждение – Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича).

Этот Центр был уполномочен проводить предрегистрационную экспертизу эффективности, безопасности и качества новых лекарственных средств.

При этом в процессе экспертизы осуществлялись:

- проверка полноты, достоверности и соответствия представленных на лекарственные средства документов и данных утвержденным требованиям;
- комплексная научно-обоснованная оценка информации о безопасности и эффективности поступившего на экспертизу лекарственных средств, представленной заявителем;
- экспертная оценка специфичности, чувствительности и воспроизводимости методов контроля качества, приведенных в нормативно-технической документации заявителя;
- испытание образцов лекарственных средств, предлагаемых для проведения клинических испытаний и оценка их качества.

Заключения экспертов представлялись для рассмотрения на заседании Фармакологического комитета в письменном виде с подписями экспертов.

Таким образом, в контрольно-разрешительной системе Минздрава СССР, а затем Минздрава России появилось чрезвычайно необходимое звено, обеспечивающее высокое качество экспертной оценки новых лекарственных средств и объективный кон-

троль качества образцов лекарственных препаратов, представляемых для клинических испытаний.

ВНЦЭЛС состоял из следующих отделов:

- научно-организационного;
- фармацевтической экспертизы;
- токсикологической экспертизы;
- общей терапии;
- сердечно-сосудистых средств;
- химиотерапии и онкологии;
- психоневрологии;
- инспекции клинических испытаний;
- побочных действий лекарств.

Основной целью деятельности ВНЦЭЛС было обеспечение научного и методического руководства организацией контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, разработка современных методов фармацевтической, доклинической и клинической экспертизы лекарственных препаратов.

Достижение поставленной цели было возможно при выполнении целого ряда задач:

- проведение научной объективной экспертизы материалов на новые отечественные и зарубежные препараты, предлагаемые для медицинского применения в Российской Федерации;
- проверка адекватности и воспроизводимости методов контроля качества, включенных авторами — разработчиками лекарственных средств в нормативную документацию, в том числе для проведения клинических исследований;
- экспериментальная оценка образцов лекарственных средств на соответствие требованиям проекта нормативной документации;
- подготовка экспертных заключений по результатам доклинического и клинического изучения новых лекарственных средств;
- гармонизация требований по проблемам «Качественной клинической практики» (GCP) и «Качественной лабораторной практики» (GLP);
- создание типовых протоколов клинической экспертизы лекарственных средств разных фармакотерапевтических групп;
- обеспечение работы специализированных комиссий Фармакологического и Фармакопейного комитетов;
- контроль за осуществлением клинических исследований лекарственных средств в лечебно-профилактических учреждениях;
- подготовка рекомендаций по разрешению медицинского применения препаратов;
- подготовка рекомендаций по исключению из Государственного Реестра РФ устаревших и малоэффективных лекарственных средств;
- систематизация и анализ поступающей из лечебно-профилактических учреждений информации о побочных эффектах лекарственных средств;
- издание информационных материалов о побочном действии лекарственных препаратов.

Уже первые результаты работы ВНЦЭЛС (переименованного в 1992 году в Российский государственный центр экспертизы лекарств — РГЦЭЛ) показали выявленные недостатки имевшейся системы, послужили основанием для ее существенного совершенствования и способствовали повышению качества как представляемых материалов на новые лекарст-

венные средства, так и образцов препаратов, представляемых на клинические испытания.

Только за два первых месяца работы фармацевтического отдела (руководитель — Е. Б. Нечаева) в 1990 году была проведена экспертная оценка НТД и образцов 68 лекарственных препаратов. Из них те или иные замечания имели все 100% представленных на экспертизу материалов.

В 1991 году 49 из 274 проверенных лекарственных средств не были допущены до клинических испытаний. В 1992 году этот показатель составил соответственно 43 из 352. За три года отделом фармацевтической экспертизы РГЦЭЛ была проведена экспертиза 766 проектов НТД на лекарственные средства с экспериментальной оценкой качества образцов.

По результатам оценки токсикокомплекса инъекционных препаратов из 84 лекарственных средств 16 было забраковано по показателям «пирогенность», 3 — по токсичности, и 5 — по стерильности.

Анализ результатов экспертной оценки лекарственных средств, не рекомендованных для клинических испытаний, показал, что в подавляющем большинстве случаев качество образцов было неудовлетворительным, уровень стандартизации низок, методы контроля часто не являлись специфическими или совсем не воспроизводились. В некоторых случаях на момент представления заявителями материалов на лекарственные средства технология их изготовления еще не была отработана.

Были обнаружены также случаи фальсификации в представленных материалах на воспроизведенные лекарственные средства, в связи с чем были предотвращены их клинические испытания.

Научно-организационный отдел (руководитель — В. В. Парин) совместно с другими отделами и специализированными комиссиями Фармакологического комитета разработал ряд методических рекомендаций по экспериментальному и клиническому испытанию различных групп новых фармакологических средств (серечно-сосудистых, психотропных, химиотерапевтических и др.).

При подготовке такого рода методических рекомендаций учитывались рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), документы контрольно-разрешительных систем разных стран.

Проводимая РГЦЭЛ гармонизация нормативных и методических требований к представляемым для регистрации материалам на новые препараты способствовала повышению качества и ускорению внедрения в медицинскую практику эффективных и безопасных лекарственных средств.

Отдел токсикологической экспертизы (руководитель — О. Л. Верстакова) разработал требования и методические рекомендации по экспериментальному изучению острой, хронической и специфической токсичности новых фармакологических средств. Проведенная в соответствии с этими рекомендациями экспертная оценка токсикологических испытаний новых фармакологических веществ позволила рекомендовать для клинических испытаний только те препараты, которые удовлетворяли требованиям безопасности для человека. При этом многие препараты не были разрешены для клинических испытаний в связи с недостаточными токсикологическими исследованиями или недостаточной безопасностью.

Отдел инспекции клинических испытаний (руководитель — В. Ю. Сницаренко) сыграл важную роль в повышении качества как самих исследований, так и представляемых для рассмотрения отчетов. При этом были обнаружены случаи несоответствия данных, приведенных в отчетах, первичной документации, имеющейся в лечебных учреждениях. С целью повышения качества проведения клинических испытаний и представления их результатов отделом инспекции клинических испытаний были разработаны и внедрены в практику методические указания по их проведению и составлению отчетов.

Отдел общей терапии (руководитель — А. Н. Богданов), отдел сердечно-сосудистых средств (руководитель — В. В. Чельцов), отдел химиотерапии (руководитель — С. Е. Кулешов) и отдел психо-неврологических препаратов (руководитель — Г. М. Руденко) разрабатывали методические рекомендации по экспериментальному и клиническому испытанию соответствующих групп новых лекарственных средств и проводили экспертную оценку представленных материалов. При этом спектр рассматриваемых ими препаратов значительно превышал указанные в названиях отделов.

Особо следует отметить роль отдела по изучению побочных действий лекарственных средств в изучении лекарственных осложнений и повышении безопасности фармакотерапии в нашей стране. Функции этого отдела выходили далеко за пределы экспертной оценки материалов на новые лекарственные средства. После распада СССР и ликвидации Минздрава СССР этот отдел практически исполнял функции национального, федерального центра мониторинга безопасности лекарств.

Также следует отметить, что Советский Союз был в числе первых стран, организовавших специальные центры по изучению побочных действий (ПД) лекарственных средств.

В 1969 году при Минздраве СССР был создан Отдел учета, систематизации и экспресс-информации о побочном действии лекарственных средств.

В апреле 1973 года этот Отдел был утвержден в качестве Всесоюзного организационно-методического центра по изучению побочных действий лекарств (ВЦПДЛ), и на него были возложены функции по контролю безопасности лекарств в стране и по предоставлению Управлению по внедрению новых лекарственных средств и медицинской техники Минздрава СССР и Фармакологическому комитету обобщенных материалов о ПД лекарственных средств для принятия оперативных мер.

Ликвидация ВЦПДЛ вместе с упразднением Минздрава СССР в конце 1991 года не только приостановила решение проблемы безопасности лекарственных препаратов в России, но и отбросила отечественное здравоохранение в этой области на много лет назад. Медицинские работники и население перестали получать независимую, объективную и всестороннюю информацию о безопасности лекарственных средств и осложнениях фармакотерапии, а также о мерах их профилактики.

Вместе с тем средства массовой информации начали проводить агрессивную рекламу многих далеко не безопасных лекарственных препаратов, не сообщая

о возможных побочных действиях и осложнениях.

В то же время политика «открытых дверей» и свободного фармацевтического рынка привела к резкому увеличению количества регистрируемых и поступающих в обращение новых лекарственных препаратов и, соответственно, необходимости усиления контроля за их побочными действиями.

Сложившаяся в стране ситуация требовала немедленного воссоздания национального центра по изучению ПД лекарственных средств.

С этой целью в РГЦЭЛ был организован отдел по изучению побочных действий лекарственных средств. Этот отдел совместно с кафедрой общей и клинической фармакологии Российского университета дружбы народов, на базе которой был создан Федеральный центр по изучению побочных действий лекарственных средств, выполнял функции национального центра мониторинга безопасности лекарств. Возглавила эту работу профессор кафедры А. В. Астахова. По ее инициативе РГЦЭЛ совместно с РУДН стал издавать журнал «Безопасность лекарств и фармаконадзор», в котором медицинским и фармацевтическим работникам нашей страны предоставлялась информация о возможных побочных действиях лекарственных препаратов и мерах их профилактики, что в итоге способствовало сохранению здоровья и жизни огромного числа людей.

Деятельность этого центра была высоко оценена не только в нашей стране, но и ВОЗ — в октябре 1997 года Россия была принята в качестве постоянного члена в Программу ВОЗ по международному мониторингу лекарств и получила прямой доступ в уникальную базу данных ВОЗ по побочным действиям лекарственных средств (VigiBase).

РЕОРГАНИЗАЦИЯ РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ ЛЕКАРСТВ

В 1998 г. в Российской Федерации был принят Федеральный Закон «О лекарственных средствах». Согласно этому закону функции федерального органа, регулирующего лекарственное обращение, была передана Министерству здравоохранения Российской Федерации. Все это обусловило необходимость создания структуры, способной объединить все ведомственные организации контрольно-разрешительной системы, обеспечив при этом совершенствование экспертизы и контроля качества как отечественных, так и зарубежных лекарственных средств.

В мае 1999 г. Минздрав России утвердил устав этого объединения, получившего название Государственного учреждения науки «Научный центр экспертизы и государственного контроля лекарственных средств» (НЦЭГКЛС), который впоследствии стал правопреемником Российского государственного центра экспертизы лекарств, Государственного научно-исследовательского института по стандартизации и контролю лекарственных средств, Научно-исследовательского института традиционных методов лечения, Научно-практического центра по контролю побочных действий лекарств. Генеральным директором НЦЭГКЛС был назначен член-корреспондент РАМН, профессор Владимир Петрович Фисенко.

В дополнение к тем функциям, которые выполнял РГЦЭЛ, новый центр должен был:

- осуществлять государственный контроль качества лекарственных средств на всех этапах их обращения (в рамках предварительного, выборочного и последующего контроля);
- проводить сертификацию отечественных и зарубежных лекарственных средств;
- вести разработку государственных стандартных образцов, методов определения основных свойств лекарственных средств;
- участвовать в лицензировании региональных контрольно-аналитических лабораторий, отделов (центров) контроля качества лекарственных средств; проверку предприятий — производителей лекарственных средств;
- вести разработку методических документов, необходимых для сертификации производства лекарственных средств.

Сотрудниками НЦЭГКЛС были подготовлены первое издание «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», первое издание II тома Государственного Реестра лекарственных средств («Типовые клинико-фармакологические статьи»), первые отраслевые стандарты: «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации», «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения», Государственный информационный стандарт лекарственного средства; первые «Методические рекомендации по проведению качественных клинических исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов».

ДАЛЕЙШЕЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КОНТРОЛЬНО-РАЗРЕШИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Следующий этап реорганизации контрольно-разрешительной системы начался в июне 2002 г. с создания Федерального государственного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России), организованного путем слияния Государственного учреждения науки «Научный центр экспертизы и государственного контроля лекарственных средств» и Федерального государственного учреждения «Контрольно-аналитический центр по вопросам контроля качества лекарственных средств и изделий медицинского назначения» Минздрава России.

Создание ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России было проведено с целью дальнейшего совершенствования процедуры предрегистрационной экспертизы лекарственных средств, организации пострегистрационного мониторинга качества, эффективности и безопасности лекарственных средств и обеспечения всех участников сферы обращения лекарственных средств всесторонней информацией об их качестве, эффективности и безопасности.

Руководителем ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России был назначен академик РАН и РАМН, профессор Рэм Викторович Петров.

Для выполнения возложенных на ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России в его составе были созданы: Контрольно-координационное управление, Экспертно-информационное управление, Институт стандартизации лекарственных средств, Институт контроля лекарственных средств, Институт доклини-

ческой и клинической экспертизы лекарственных средств, Институт клинической фармакологии.

На момент создания штатная численность сотрудников ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России составляла около 400 человек.

Приказом Минздрава России от 28.05.2003 № 223 «Положение о порядке проведения государственного контроля эффективности и безопасности лекарственных средств на территории Российской Федерации» ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России как подведомственное учреждение Минздрава России было уполномочено проводить предрегистрационную и пострегистрационную экспертизу эффективности и безопасности лекарственных средств.

Для достижения этой цели в ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России были определены и реализовались следующие задачи:

- модернизация и расширение материально-технической базы, позволяющие проводить лабораторный анализ лекарственных средств наиболее точными и чувствительными методами исследования (ГЭЖХ, ВЭЖХ, капиллярный электрофорез и др.);
- регламентация всех внутренних процессов (в том числе системы принятия экспертного решения), постоянный анализ их эффективности с последующей оптимизацией;
- развитие информационных баз данных, внутренней сети организации (Инtranет) и средств телекоммуникации для обеспечения постоянного обмена информацией о лекарственных средствах в процессе их экспертизы;
- создание системы внутреннего обучения персонала для развития кадрового потенциала Научного центра;
- проведение фундаментальных и прикладных научных исследований в области фармации и медицины.

Важными шагами по установлению двустороннего диалога с организациями-заявителями и профессиональным сообществом стало регулярное размещение оперативной информации ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России в интернете на сайте www.regmed.ru и выпуск журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения».

Очередной этап расширения деятельности ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России был связан с административной реформой федеральных органов исполнительной власти, начавшейся в 2004 г.

Указом Президента Российской Федерации от 9 марта 2004 г. № 314 «О системе и структуре федеральных органов исполнительной власти» была образована Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (Росздравнадзор). Постановлением Правительства Российской Федерации от 6 апреля 2004 г. № 155 «Вопросы Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития» было установлено, что основными функциями Росздравнадзора являются:

- осуществление государственной регистрации лекарственных средств, медицинской и реабилитационной техники и изделий медицинского назначения;
- осуществление контроля качества лекарственных средств, медицинской и реабилитационной техники и изделий медицинского назначения.

ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России стало одним из подведомственных Росздравнадзору федеральных

государственных учреждений (ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора).

В 2004 г. генеральным директором ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора был назначен профессор Владимир Борисович Герасимов. С 2007 по 2010 год обязанности директора исполнял кандидат медицинских наук Сергей Валентинович Буданов.

Основными задачами ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора, закрепленными новым уставом (утвержден приказом Росздравнадзора от 22 февраля 2005 г.), были:

- научное и методическое обеспечение организации контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, медицинских технологий, медицинской и реабилитационной техники, изделий медицинского назначения;
- разработка современных подходов к экспертизе фармацевтических, доклинических и клинических данных;
- консультативно-экспертное сопровождение работ по контролю качества доклинической и клинической экспертизы лекарственных средств и иных средств медицинского применения;
- информационно-методическое обеспечение экспертизы, контроля качества и регистрации лекарственных средств и иных средств медицинского применения;
- научные исследования в области оценки эффективности и безопасности лекарственных средств, фармакоэпидемиологии и фармакоэкономики;
- образовательная деятельность с целью подготовки специалистов в сфере обращения лекарственных средств и иных средств медицинского применения.

Для решения задач, стоящих перед Научным центром в новых условиях, было недостаточно выполнения традиционных экспертных процедур, так как изменения касались не только расширения списка объектов экспертизы. Экспертная работа не должна была ограничиваться задачами, связанными с государственной регистрацией лекарственных средств и разрешением проведения клинических исследований, она должна была включать также оценку качества, эффективности и безопасности уже разрешенных к применению лекарственных средств и методов лечения в условиях широкой медицинской практики.

В 2010 году ФГУ «НЦЭСМП» был передан в подчинение Министерству здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Генеральным директором был назначен профессор Александр Николаевич Миронов.

С целью создания единой мощной отечественной структуры, предназначенной для осуществления экс-

пертизы качества, эффективности и безопасности всех лекарственных средств (включая иммунобиологические препараты) в 2010 году к ФГУ «НЦЭСМП» был присоединен Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л. А. Тарасевича.

В 2012 г. в связи с реорганизацией Минздравсоцразвития Российской Федерации ФГБУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора было передано в ведомство Минздрава Российской Федерации.

С 2015 года генеральным директором ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России является доктор медицинских наук Юрий Витальевич Олефир.

На основании получаемых от Минздрава России государственных заданий ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России выполняет разнообразные функции в области экспертизы качества, эффективности и безопасности лекарственных средств на этапе принятия ответственного решения об их государственной регистрации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашей стране постоянно уделяется большое внимание обеспечению населения эффективными, безопасными и качественными лекарственными препаратами.

Заметную роль в улучшении этого процесса сыграло создание и развитие контрольно-разрешительной системы регистрации новых лекарственных препаратов.

Существенным качественным совершенствованием этой системы явилось создание в 1990 году государственного экспертного учреждения — Всесоюзного научного центра экспертизы лекарств Минздрава СССР, впоследствии переименованного в Российский государственный центр экспертизы лекарств Минздрава России. Этим учреждением 25 лет назад были заложены фундаментальные принципы и методы государственной экспертной работы по оценке качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, развитие которых привело к созданию ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» — мощной отечественной структуры, играющей чрезвычайно важную роль в работе контрольно-разрешительной системы Российской Федерации. Основные задачи, организация и функционирование ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России будут представлены в последующих номерах «Ведомостей Научного центра экспертизы средств медицинского применения».

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.
Лепахин Владимир Константинович. Главный научный сотрудник Центра экспертизы безопасности лекарственных средств, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН.

Олефир Юрий Витальевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д-р мед. наук, проф.

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

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

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

Рычихина Екатерина Михайловна. Начальник контрольно-организационного управления, канд. биол. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Лепакхин Владимир Константинович; Lepakhin@expmed.ru

THE LANDMARKS OF CONTROL AND LICENSING SYSTEM DEVELOPMENT FOR MEDICINAL PRODUCTS IN RUSSIA (25 YEARS SINCE THE ESTABLISHMENT OF THE FIRST STATE INSTITUTION FOR EXPERT EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS)

V. K. Lepakhin, Yu. V. Olefir, V. A. Merkulov, N. D. Bunyatyan, B. K. Romanov,
A. N. Yavorsky, E. M. Rychihina

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 landmarks of control and licensing system development for the purpose of drug evaluation, marketing authorization and circulation in Russia. The need for the development of a state institution for performing expert evaluation of medicines was satisfied in 1990 by the establishment of the All-Soviet Union Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicines (re-named in 1992 as the Russian State Centre for Expert Evaluation of Medicines — RSCEEM). The activities of the Centre included expert evaluation of all documents for new pharmaceutical products; organization and monitoring of clinical trials, as well as the assessment of their results; development of the recommendations regarding marketing authorization and medical use of new medicines. It also exercised the functions of the Federal Centre for Adverse Drug Reaction Study. RSCEEM became a basis for modern currently functioning Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products».

Key words: medicines; expert evaluation; clinical trials; adverse drug reactions; marketing authorization.

For citation: Lepakhin VK, Olefir YuV, Merkulov VA, Bunyatyan ND, Romanov BK, Yavorsky AN, Rychihina EM. The landmarks of control and licensing system development for medicinal products in Russia (25 years since the establishment of the first state institution for expert evaluation of medicinal products). Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 3–10.

AUTHORS

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

Lepakhin VK. Senior researcher of the Centre for Expert Evaluation of Drugs Safety. Doctor of Medical Sciences, professor, corresponding member of RAS.

Olefir YuV. Director General. Doctor of Medical Sciences.

Merkulov VA. Deputy Director General for the expertise of drugs. Doctor of Medical Sciences, professor.

Bunyatyan ND. Deputy Director General for Scientific work. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

Romanov BK. Director of the Centre for Expert Evaluation of Drugs Safety. Doctor of Medical Sciences.

Yavorsky AN. Scientific Secretary. Doctor of Medical Sciences, professor.

Rychihina EM. Head of Control and organizational office. Candidate of Biological Sciences.

История развития и современное состояние биологических тестов в России

М. С. Рябцева, Т. А. Батуашвили, Г. А. Сапожникова,
Н. П. Неугодова, Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов

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

Статья поступила 15.01.2016 г. Принята к печати 09.02.2016 г.

Резюме: Среди общих фармакопейных статей, включенных в действующие издания ведущих фармакопей мира, наиболее проблемными считаются биологические показатели «Пирогенность» и «Аномальная токсичность», целесообразность применения которых очевидна не для всех специалистов. Авторы анализируют причины введения и историю становления биологических методов контроля качества лекарственных средств, а также основные перспективы их дальнейшего развития в Российской Федерации.

Ключевые слова: фармакопея; фармакопейная статья; контроль качества лекарственных средств; биологические методы.

Библиографическое описание: Рябцева МС, Батуашвили ТА, Сапожникова ГА, Неугодова НП, Олефир ЮВ, Меркулов ВА. История развития и современное состояние биологических тестов в России. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 11–14.

Для специалистов фармацевтической области очевидно, что важнейшим документом фарминдустрии является национальная фармакопея. Вне зависимости от национальной принадлежности всегда остается неизменной цель этого документа — унификация требований, предъявляемых к качеству лекарственных средств (ЛС). Среди общих фармакопейных статей, включенных в действующие издания ведущих фармакопей мира, наиболее проблемными по праву считаются биологические показатели «Пирогенность» и «Аномальная токсичность», целесообразность применения которых на сегодняшний день очевидна не для всех специалистов. Цель данной статьи — осветить причины введения и историю становления биологических тестов, а также основные перспективы их дальнейшего развития в России.

Впервые в СССР официальные биологические методы контроля качества ЛС введены в Государственную фармакопею (ГФ) СССР IX изд. (1961 г.) [1]. Поскольку первые биологические методы ГФ были разработаны на основе Фармакопеи США (USP) и Международной фармакопеи (МФ), историю развития этих тестов нельзя рассматривать в отрыве от становления данных тестов в США и Европе, где начало XX века характеризовалось активным развитием фармацевтической промышленности. В этот период синтезировалось огромное количество новых фармацевтических субстанций и химических соединений, однако оценка их безопасности не была закреплена законодательно. Это приводило к регулярным отравлениям и возникновению скандалов вокруг подобных инцидентов, самыми значимыми среди которых можно назвать: применение героина как успокоительного средства при кашле (1898–1924 гг.), «сульфаниламидная» трагедия (1937–1938 гг.), применение двуокиси тория, альфа-активного радионуклида, в качестве рентгеноконтрастного вещества (1928–1960 гг.); «талидомидная» катастрофа (1957–1964 гг.). С каждым подобным скандалом со стороны населения росло недоверие к фармацевтиче-

ской промышленности, в результате чего активизировалась разработка подходов к оценке безопасности ЛС, в том числе с использованием лабораторных животных (мыши и крысы).

В этот период методическая и нормативно-правовая база в области фармации формировалась по прецедентному принципу, поэтому именно возникающие побочные эффекты от применения новых классов лекарственных препаратов (ЛП) определяли направление разработки соответствующих биологических методов [2, 3].

С появлением инъекционных ЛП было установлено такое явление как «инъекционный жар» — развитие у пациента лихорадки в ответ на инъекцию лекарства. В 1911 г. W. Wechsleman показал, что причина «инъекционного жара» — бактерии, которые находятся в воде, используемой для приготовления инъекционных растворов. В том же году E. C. Hort и W. J. Penfold доказали, что раствор может быть стерильным, но при этом вызывать пирогенную реакцию. Годом позже они же опубликовали результаты исследований «Микроорганизмы и их влияние на возникновение жара», из которых следовало, что подобная реакция ассоциируется с экзогенными пирогенами, образующимися в основном из грамотрицательных бактерий [4].

Первая попытка создать тест, позволяющий выявить наличие в ЛП пирогенных примесей, нашла отражение в Британской фармакопее в 1912 г. Однако исследования эффекта пирогенности на этом не прекратились. К 1923 г. F. B. Seibert выделил пирогенные вещества, установил их термостабильную природу, а также предложил использование кроликов для оценки пирогенной реакции. L. Rademacher подтвердил правильность его выводов и показал, что стерильность не является гарантией апиогенности, доказав необходимость предотвращения бактериального загрязнения на каждом этапе фармацевтического производства [4]. Однако потребовалось еще 20 лет для того, чтобы Национальный институт здоровья США

и 14 фармпроизводителей ввели тестирование пирогенности. В общепринятом виде тест «Пирогенность» появился в USP в 1942 г. [5].

При разработке теста в качестве тест-объектов для испытаний были исследованы многие виды животных. Уровень чувствительности к пирогенам и характер развития пирогенной реакции позволили выбрать два вида: собаки и кролики. Однако из-за порой агрессивного поведения собак предпочтение было отдано кроликам. К 1944 г. Со Тиу для кролика была определена минимальная пирогенная доза для пирогенов различной природы [4], что позволило подбирать тест-дозы испытуемых ЛП таким образом, чтобы они обеспечивали отсутствие пирогенной реакции у пациентов при клиническом применении. Началась эпоха теста «Пирогенность». Несмотря на это, из-за индивидуальной чувствительности и эмоциональности животных, кролик часто был ненадежен. А в условиях большого производства требовал значительных финансовых, трудовых и временных затрат. Кроме того, многие препараты невозможно было испытывать на животных из-за их фармакологического действия или физико-химических свойств (нерастворимость в водных растворителях, вязкость и т.п.). Поэтому параллельно шел процесс поиска достойной замены теста на животных (*in vivo*).

К 60-м годам XX века было накоплено достаточно информации относительно природы пирогенной реакции. Доказано, что лихорадку способны вызывать экзогенные и эндогенные вещества различного происхождения. Среди них основной вклад в загрязнение ЛП принадлежит грамотрицательным микроорганизмам, а точнее бактериальным эндотоксинам (БЭ), содержащимся в клеточной стенке. Для выявления БЭ был разработан ЛАЛ-тест. Началом разработки ЛАЛ-теста можно считать совместные работы Ф. Б. Банга и Дж. Левина в шестидесятых годах прошлого века, которые установили способность амебоцитов мечехвоста образовывать плотный гелиевый сгусток при взаимодействии с БЭ, что было положено в основу нового теста.

К началу 70-х годов были отработаны методы получения лизата амебоцитов и способы проведения теста для обнаружения БЭ. С конца 70-х годов началось промышленное производство ЛАЛ-реактивов. В 1983 году ЛАЛ-тест введен в USP XX издания как альтернативный тесту «Пирогенность». Дальнейшее развитие ЛАЛ-теста привело к расширению его возможностей и появлению к 1991 г. дополнительных кинетических методов (колориметрического и турбидиметрического) [6]. В России до начала XXI века показатель БЭ присутствовал в основном в НД на зарубежные препараты. Для отечественных производителей проведение анализа с помощью ЛАЛ-теста стало возможным после введения временной фармакопейной статьи «Определение содержания бактериальных эндотоксинов, ЛАЛ-тест» (ВФС 42-2960–97) в 1997 г. В 2000 г. она была заменена общей фармакопейной статьей «Бактериальные эндотоксины» (ОФС 42-0002–00), а с начала 2001 г. началось активное включение ЛАЛ-теста в ФСП отечественными производителями. В 2007 г. тест «Бактериальные эндотоксины» впервые включен в ГФ РФ XII изд., которая имела особое значение в гармонизации отечественных биологических методов с требованиями Европейского Союза.

В то же время стало понятно, что ЛАЛ-тест не может быть альтернативным тесту «Пирогенность»

из-за различной чувствительности и специфичности методов, так как они являются однонаправленными. Дальнейшее изучение механизма пирогенной реакции на фоне становления клеточных методик и иммуноферментного анализа привело к созданию более универсального метода определения пирогенных примесей в ЛС — теста активации моноцитов. В 2010 г. он был включен в текст Европейской фармакопеи как полностью альтернативный тесту «Пирогенность» [7]. На сегодняшний день данный тест является достаточно дорогим и не получил еще широкого распространения для использования в рутинном контроле как за рубежом, так и на территории Российской Федерации.

Параллельно с развитием методов контроля пирогенных загрязняющих веществ шла работа над еще одной проблемой, поставленной фармацевтической промышленностью — оценкой безопасности применения сывороток и вакцин.

Несмотря на положительные результаты применения иммунобиологических препаратов их использование вызывало ряд серьезных негативных последствий. В конце XIX века для получения иммунных сывороток в качестве консерванта использовали фенол или крезол, которые вызывали у пациентов аллергию и серьезные отравления. Кроме того, в результате загрязнения иммунных сывороток столбнячным токсином неоднократно были зафиксированы случаи заболевания и гибели пациентов от столбняка в Италии (1900 г.) и США (1901 г.). Уже в 1894 году правительство Германии представило конкретные правила для производства дифтерийной сыворотки. Образец сыворотки считался «безопасным», если он был свободен от крупных механических включений, бактериальных примесей, не содержал более 0,5% фенола, и был свободен от токсинов, в частности, столбнячного токсина. Возникла необходимость разработки соответствующих методов контроля [8].

В 1901 г. в Германии, а позже и в других странах, в качестве индикатора токсинов клостридий (в том числе столбнячного) в иммунных сыворотках был введен тест на морских свинках. Для решения проблемы с фенолом потребовалось чуть больше времени. Только в 1910 г. П. Эрлихом для выявления содержания фенола в сыворотке было предложено использовать лабораторных мышей, так как они оказались очень чувствительны к этому консерванту. Было показано, что при подкожном введении 0,5 мл сыворотки, содержащей 0,5% фенола, у мышей развивались тремор и судороги, но они переживали интоксикацию. В случае увеличения содержания фенола животные погибали. В таком виде тест «безопасности» был утвержден для дифтерийной и столбнячной сыворотки, а позже перенесен для первых бактериальных вакцин (против брюшного тифа и холеры), в производстве которых также использовался фенол [8, 9]. Тест на мышах стал стандартом для выявления содержания фенола в Германии и сохранялся без изменений до 1935 г. В 1940 г. в Германии при пересмотре нормативных документов на вакцины в первый раз была создана основная схема теста «Аномальная токсичность» — сочетание двух ранее независимых специфических тестов. В последующие годы тест вошел практически во все регуляторные документы на биологические и иммунобиологические препараты, а также в первое официальное издание МФ в 1951 г.

Открытие А. Флемингом пенициллина в 1928 г. положило начало эры широкого применения антибиотиков в клинической практике. Наряду с высокой эффективностью первых результатов применения антибиотиков в медицине, после создания инъекционных форм, стали появляться сообщения о серьезных токсических эффектах. Появилась необходимость контроля безопасности данного класса ЛС. В 1938 г. в США на законодательном уровне появились требования обязательных токсикологических исследований ЛС на животных, предшествующих клиническому применению [10]. Результаты таких исследований показали, что уровень токсичности мог колебаться для разных партий одного препарата. Стала очевидной необходимость оценки уровня токсичных примесей, для чего разработали «тест безопасности». В основу нового теста был заложен учет выживаемости животных при введении предельно переносимых доз препарата. В России ОФС «Испытание антибиотиков на токсичность» впервые была включена в 1961 г. в Государственную фармакопею СССР IX издания. К этому времени А. Е. Тебякина и Г. Я. Кивман в ряде исследований образцов препарата стрептомицин показали зависимость токсического действия от скорости внутривенного введения препарата (1952 г.). А чуть позже Л. М. Якобсон сформулировала основное требование к выбору тест-дозы — «желательно применение высших переносимых доз препарата», а также условия для снижения межлабораторных расхождений — соблюдение установленных параметров (скорости введения, растворителя, вводимого объема и др.). В дальнейшем показатель «Испытание на токсичность» был включен в ГФ X изд., где применение данного метода было расширено на препараты, получаемые из биологического сырья [11]. В таком виде тест сохранялся практически без изменений следующие 50 лет [4].

В 1985 г. в USP XXI издания, в рамках гармонизации Американской и Европейской фармакопей статья «Аномальная токсичность» объединила основной тест и тест для вакцин и сывороток [12]. В России гармонизация теста с требованиями Европейского Союза осуществлена в ГФ XII изд. ОФС «Аномальная токсичность» впервые включила оба теста [13].

К началу 90-х годов показатель «Аномальная токсичность» был исключен из большинства статей USP [14]. Такая же тенденция отмечена и в Европе. В 1994–1995 гг. при поддержке Министерства образования Германии проведен анализ показательности теста «Аномальная токсичность» на вакцины и сыворотки, для определения возможности изъятия данно-

го теста из регуляторных документов [9]. В России роль контроля качества по показателю «Аномальная токсичность» сохраняется еще на достаточно высоком уровне. Данный показатель включен в ГФ XIII изд. [15]. В то же время не отрицается и общемировая тенденция к индивидуальному подходу оценки безопасности ЛС с использованием альтернативных методов. Однако, в контроле качества ЛС, получаемых из биологического сырья, для которых сложна стандартизация условий производства, создание альтернативного метода затруднено, так как четко не определен источник опасности. Поэтому в стремлении к внедрению новейших результатов научно-технического прогресса важно не отказываться от использования уже зарекомендовавших себя методов обеспечения качества фармацевтических продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. 9-е изд. М.: Медгиз; 1961.
2. Schechtman LM. The Safety Assessment Process — Setting the Scene: An FDA Perspective. ILARJ 2002; 43(Suppl 1): S5–S10. Available from: <http://ilarjournal.oxfordjournals.org/>.
3. History of Federal Regulation: 1902–Present. Available from: <http://www.fdareview.org/history.shtml>.
4. Крылов ЮФ, Кивман ГЯ. Биологический контроль безопасности лекарственных средств. М.: Медицина; 1985.
5. U.S.P. 12th edition. 1942.
6. Ситников АГ, Травина ЛА, Багирова ВЛ. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности. М.; 1997.
7. European Pharmacopoeia. 6th edition. 2010.
8. Cussler K. The Scientific Relevance of the ATT — Today and from a historical Perspective. Available from: <https://circabc.europa.eu/sd/a/713b9d43-9383-4681-a46a-054c6249c40b/ihb%20sept%202015%205%20Case%20study%201 Klaus%20Cussler.pdf>.
9. Гарбе ЙХО, Озборн С, Бергс К, Бопст М, Йос А, Китахова АА. и др. Исключение теста на аномальную токсичность в качестве теста контроля качества: исторический анализ данных и научные знания. Разработка и регистрация лекарственных средств 2015; 2(11): 184–92.
10. FDA [Food and Drug Administration]. 1981b. The Story of The Laws Behind The Labels, Part II: 1938 — The Federal Food, Drug, and Cosmetic Act. FDA Consumer, June, 1981. Available from: <http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/historla.html>.
11. Государственная фармакопея СССР. 10-е изд. М.: Медицина; 1968.
12. U.S.P. 21th edition. 1985.
13. Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. Ч. 1. М.: НЦЭСМП; 2008.
14. U.S.P. 22th edition. 1990.
15. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Ч. 1. М.: НЦЭСМП; 2015.

ОБ АВТОРАХ

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

Рябцева Мария Сергеевна. Эксперт 2-й категории лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

Батуашвили Тамара Ариеловна. Главный эксперт лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук.

Сапожникова Галина Алексеевна. Ведущий эксперт лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

Неугодова Наталья Петровна. Начальник лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук.

Олефир Юрий Витальевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д-р мед. наук, проф.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Рябцева Мария Сергеевна; Ryabtseva@expmc.ru

HISTORY AND CURRENT STATUS OF BIOLOGICAL TESTS IN RUSSIA

M. S. Ryabtseva, T. A. Batuashvili, G. A. Sapozhnikova, N. P. Neugodova, Yu. V. Olefir, 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: «Pyrogenicity» and «Abnormal Toxicity» are considered to be among most problematic pharmacopoeia monographs in the current editions of the leading world pharmacopoeias, the reasonability of which is not obvious to all experts. The authors analyze the reasons for the introduction and history of the elaboration of biological methods for drug quality control, as well as major prospects for their further development in Russia.

Key words: pharmacopoeia; pharmacopoeia monograph; drug quality control; biological methods.

For citation: Ryabtseva MS, Batuashvili TA, Sapozhnikova GA, Neugodova NP, Olefir YuV, Merkulov VA. History and current status of biological tests in Russia. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 11–14.

REFERENCES

1. The State Pharmacopoeia of the USSR. 9th ed. Moscow: Medgiz; 1961 (in Russian).
2. Schechtman LM. The Safety Assessment Process — Setting the Scene: An FDA Perspective. ILARJ 2002; 43(Suppl 1): S5–S10. Available from: <http://ilarjournal.oxfordjournals.org/>.
3. History of Federal Regulation: 1902–Present. Available from: <http://www.fdareview.org/history.shtml>.
4. Krylov YuF, Kivman GYa. Biological control of drug safety. Moscow: Meditsina; 1985 (in Russian).
5. U.S.P. 12th edition. 1942.
6. Sitnikov AG, Travina LA, Bagirova VL. LAL test. Modern approaches to the determination of pyrogenicity. Moscow; 1997 (in Russian).
7. European Pharmacopoeia. 6th edition. 2010.
8. Cussler K. The Scientific Relevance of the ATT — Today and from a historical Perspective. Available from: <https://circabc.europa.eu/sd/a/713b9d43-9383-4681-a46a-054c6249c40b/ihb%20sept%202015%205%20Case%20study%201%20Klaus%20Cussler.pdf>.
9. Garbe IHO, Osborne C, Beggs K, Bopst M, Jos A, Kitashova AA, et al. The exception test for abnormal toxicity as a quality control test: a historical analysis of the data and scientific knowledge. Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv 2015; 2(11): 184–92 (in Russian).
10. FDA [Food and Drug Administration]. 1981b. The Story of The Laws Behind The Labels, Part II: 1938 — The Federal Food, Drug, and Cosmetic Act. FDA Consumer, June, 1981. Available from: <http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/historia.html>.
11. The State Pharmacopoeia of the USSR. 10th ed. Moscow: Meditsina; 1968 (in Russian).
12. U.S.P. 21th edition. 1985.
13. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 12th ed. Part 1. Moscow: NCESMP; 2008 (in Russian).
14. U.S.P. 22th edition. 1990.
15. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. Part 1. Moscow: NCESMP; 2015 (in Russian).

AUTHORS

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

Ryabtseva MS. 2nd category expert of Laboratory of pharmacology.

Batuashvili TA. Chief expert of Laboratory of pharmacology of Test Center of Quality Expertise of medicines. Candidate of Biological Sciences.

Sapozhnikova GA. Leading expert of Laboratory of pharmacology of Test Center of Quality Expertise of medicines.

Neugodova NP. Head of Laboratory of pharmacology of Test Center of Quality Expertise of medicines. Candidate of Biological Sciences.

Olefir YuV. Director General. Doctor of Medical Sciences.

Merkulov VA. Deputy Director General for the expertise of drugs. Doctor of Medical Sciences, professor.

Развитие микробиологических методов анализа лекарственных средств

О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Е. С. Новик, Г. М. Булгакова,
Л. В. Колосова, И. А. Буйлова, М. В. Рощина

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

Статья поступила 15.01.2016 г. Принята к печати 10.02.2016 г.

Резюме: Приведен обзор отечественной нормативной документации, посвященной испытанию лекарственных средств по микробиологическим показателям, таким как «Стерильность», «Микробиологическая чистота» и др. Обсуждается история возникновения показателей и создания соответствующих общих фармакопейных статей, а также перспективы развития методов в связи с изданием Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания. Имеется выраженная тенденция к гармонизации с ведущими мировыми фармакопеями, но Государственная фармакопея сохраняет индивидуальные особенности испытания качества лекарственных средств по микробиологическим показателям, в том числе, за счет внедрения новых технологий, автоматизации процесса и учета особенностей отдельных групп лекарственных средств.

Ключевые слова: микробиологические показатели; стерильность; микробиологическая чистота; содержание витаминов; концентрация микробных клеток; эффективность консервантов.

Библиографическое описание: Гунар ОВ, Сахно НГ, Новик ЕС, Булгакова ГМ, Колосова ЛВ, Буйлова ИА, Рощина МВ. Развитие микробиологических методов анализа лекарственных средств. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 15–18.

Выход в свет Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ) XIII издания ознаменовал начало нового этапа развития фармацевтического анализа. Принимая во внимание тесную связь микробиологических показателей с безопасностью применения лекарственных средств (ЛС), совершенствование методов их анализа имеет большое значение. Основные подходы, требования и способы оценки качества ЛС описаны в общих фармакопейных статьях (ОФС), касающихся микробиологических испытаний: «Стерильность», «Микробиологическая чистота», «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар», «Определение содержания витаминов в многокомпонентных препаратах микробиологическим методом», «Определение эффективности антимикробных консервантов», «Определение концентрации микробных клеток».

1. Стерильность. В мировой практике методика определения стерильности ЛС впервые была представлена в издании Британской фармакопеи, вышедшем в 1932 г., и фармакопее США 1936 г. С тех пор методика претерпела многочисленные изменения, в том числе касающиеся питательных сред, температуры и времени инкубации. Целью этих изменений было создание условий, обеспечивающих рост максимально возможного количества видов микроорганизмов-контаминантов [1].

Впервые в нашей стране ОФС «Стерильность» была включена в ГФ СССР X изд. в 1968 г. В статье были описаны методики испытания стерильности вакцин, анатоксинов и антитоксических сывороток, эндокринных ЛС, кровезаменителей, антибиотиков. В последующие годы основными руководящими документами по анализу стерильности были временная фармакопейная статья (ВФС) 42-1844–88 «Испытание на стерильность» (1988 г.), ГФ СССР XI изд. (1990 г.) [2], ОФС 42-0066–07 «Стерильность» ГФ РФ XII изд., ч. 1 (2007 г.) [3]. Переработанная ОФС 1.2.4.0003.15 «Стерильность», дополненная особен-

ностями анализа стерильности иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП), включена в ГФ РФ XIII изд. (2015 г.).

Разработчиками был переработан раздел «Определение антимикробного действия» ЛС, расширен перечень рекомендованных инактиваторов.

Изменения коснулись анализа качества питательных сред: их ростовых свойств, стерильности и нейтрализующей способности. В ОФС сохранена возможность использования жидкой среды Сабуро наряду с соево-казеиновым бульоном для выявления дрожжевых и плесневых грибов. В отличие от предыдущего издания ГФ и ведущих мировых фармакопей для анализа ростовых свойств тиаглицоловой среды, используемой в качестве универсальной для испытания ИБЛС, применяют тест-штаммы *Alcaligenes faecalis* 415 и *Clostridium novyi* 198.

2. Микробиологическая чистота. Требования к качеству ЛС по показателю «Микробиологическая чистота» впервые были введены в ГФ XI изд. в 1990 году. Позже, в 1995, 2001, 2003 годах были опубликованы три изменения к статье ГФ XI изд., а с 2007 г. испытания проводят по ГФ XII изд. с ОФС 42-0067–07 «Микробиологическая чистота».

Однако, учитывая современный уровень развития фармацевтического производства и контроля, возникла необходимость кардинального пересмотра и создания новой редакции ОФС «Микробиологическая чистота», в которую включены особенности испытания препаратов-пробиотиков, а также методов определения качества воды для инъекций (ангро) и воды очищенной.

В ОФС «Стерильность» сохранены обозначения категорий ЛС, использованные в ГФ XII изд. при нормировании их качества, а также внесены дополнения, касающиеся анализа ИЛП.

В раздел «Интерпретация результатов количественного определения микроорганизмов» введены коэффициенты — «2» для всех категорий ЛС и «5» — для

лекарственных растительных средств (ЛРС). Введение коэффициента «5» было обосновано и введено еще в ОФС «Методы микробиологического контроля» [4] ввиду того, что ЛРС, представляющие собой лекарственные растения или их части (листья, цветы, трава, плоды, семена, кора, корни, корневища и др.), невозможно полностью стандартизовать в отношении количества аэробных бактерий и грибов. Использование указанных коэффициентов при учете и интерпретации результатов анализа способствует гармонизации ГФ XIII изд. с ведущими мировыми фармакопеями.

В ОФС «Стерильность» актуализированы видовые названия бактерий и грибов согласно современной классификации, а также уточнен набор микроорганизмов, используемых в ходе анализа, с указанием тест-штаммов в первую очередь отечественных коллекций.

Впервые в отечественной нормативной документации приведены нормативные требования и методика определения дрожжевых грибов *Candida albicans* в вагинальных ЛС.

По сравнению с ГФ XII изд. внесены изменения в разделы, посвященные выделению и идентификации энтеробактерий, *Escherichia coli*, бактерий рода *Salmonella*. Они касаются объема образца для анализа, набора питательных сред и условий инкубации посевов.

Перечень питательных сред оптимизирован и дополнен с учетом современных возможностей производства. Способ определения ростовых и селективных свойств жидких питательных сред упрощен. Соответствующий раздел ОФС содержит рекомендации по анализу дифференциально-диагностических питательных сред.

3. Определение содержания витаминов в многокомпонентных препаратах микробиологическим методом. Современные методы определения содержания витаминов делят на физико-химические и биологические. К физико-химическим относят высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), фотокolorиметрию, спектрофотометрию. Для количественного определения аскорбиновой и фолиевой кислот в последнее время развивается метод флуориметрии. Однако содержание некоторых витаминов в поливитаминных препаратах настолько мало, что чувствительность физико-химических методов не позволяет провести количественное определение с необходимой точностью. В таких случаях применяют микробиологические методы с использованием специальных витаминзависимых микроорганизмов в качестве аналитических индикаторов, что нередко является единственно возможным способом. Такое определение основано на прямом воздействии химического вещества на живую клетку высокоспецифичного тест-штамма. Микробиологические методы используют для определения содержания цианокобаламина, кальция пантотената, фолиевой кислоты, D-биотина, никотиновой кислоты (никотинамида). К нормативным документам, в соответствии с которыми до недавнего времени производили испытание, относились:

- ГФ СССР XI изд., вып.2, «Определение цианокобаламина (витамина B12)»;
- ОФС 42-0005–01 «Определение содержания D-биотина»;

- ОФС 42-0006–01 «Определение содержания кальция пантотената»;
- ОФС 42-0018–04 «Определение содержания фолиевой кислоты»;
- ОФС 42-0017–04 «Определение содержания кислоты никотиновой или никотинамида».

В ГФ XIII изд. приведена ОФС 1.2.4.0012.15 «Определение содержания витаминов в многокомпонентных препаратах микробиологическим методом», в которую включены усовершенствованные и переработанные вышеперечисленные документы. В ОФС описаны особенности определения витаминов чашечным и пробирочным методами, что делает указанный документ компактным и более удобным для использования специалистами.

4. Определение эффективности антимикробных консервантов. На протяжении многих десятилетий фармацевтические производители применяют антимикробные консерванты для обеспечения микробиологической защиты ЛС, а также для увеличения срока их хранения.

В ГФ X изд. в качестве консервантов-антисептиков для инъекционных лекарственных форм и ИЛП были рекомендованы: хлорбутанолгидрат 0,05–0,5%, фенол 0,25–0,5%, хлороформ 0,5%, мертиолят 0,01%, нипагин 0,1%.

В ГФ XI изд. приведены консерванты, предназначенные для неинъекционных лекарственных форм.

Требования к проведению испытания эффективности антимикробных консервантов, входящих в состав ЛС, были включены в ВФС 42-3456–99 (1999 г.) и ГФ XII изд. ОФС 42-0069–07.

Метод определения эффективности антимикробных консервантов в готовых препаратах используется при решении вопроса о пригодности того или иного консерванта для данного ЛС, а также для расширения антимикробного спектра действия консерванта за счет использования синергического эффекта двух и более консервирующих соединений.

В связи с необходимостью совершенствования существующего метода анализа и устранения выявленных недостатков ОФС 42-0069–07 была пересмотрена.

Впервые в мировой практике в ОФС 1.2.4.0011.15 «Определение эффективности антимикробных консервантов» ГФ XIII изд. в методику испытания включен модифицированный глубинный чашечный агаровый метод. Кроме того, антиacidные лекарственные препараты, приготовленные на водной основе, исключены как отдельная категория и внесены в категорию 3 «Лекарственные препараты для приема внутрь». Представлена переработанная таблица «Критерии оценки эффективности антимикробных консервантов лекарственных препаратов» для упрощения понимания внесенных в нее данных.

Перечень используемых микроорганизмов исправлен в соответствии с современной классификацией, уточнен требуемый объем инокулятов тест-штаммов бактерий и грибов, требуемый при испытании.

5. Определение концентрации микробных клеток. ОФС 1.7.2.0008.15 «Определение концентрации микробных клеток» представлена в ГФ XIII изд. впервые и включает в себя:

— методы прямого подсчета (в счетной камере, на мембранных фильтрах);
 — методы непрямого подсчета (турбидиметрия, нефелометрия, кондуктометрия, визуальные методы с помощью оптических стандартных образцов мутности);

— методы определения жизнеспособных клеток микроорганизмов (мембранной фильтрации, посев на питательные среды, окраска селективными красителями).

Актуальность введения данной ОФС в ГФ XIII изд. продиктована необходимостью стандартизации методов определения концентрации микробных клеток. Описанные методы используются при микробиологических испытаниях качества ЛС, включая ИЛП и ветеринарные препараты, а также при других экспериментальных исследованиях в области микробиологии, включая валидационные испытания.

В данной ОФС методы биолюминесценции и проточной цитометрии, подробно описанные в ведущих мировых фармакопеях, представлены в качестве информации с указанием необходимости выполнения процедуры валидации перед их использованием. Особое внимание в ОФС уделено оптическому стандарту мутности как наиболее простому и широко распространенному в настоящее время непрямому методу определения количества микробных клеток. Среди

инструментальных методов в ОФС включен не описанный ни в одной мировой фармакопее метод электрочувствительных зон (Култера).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, несмотря на общую ярко выраженную тенденцию к гармонизации с ведущими мировыми фармакопеями, ГФ сохраняет индивидуальные особенности испытания качества ЛС по микробиологическим показателям. Развитие методов анализа происходит за счет внедрения новых технологий, автоматизации процесса и учета особенностей отдельных групп ЛС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bugno A, de Jesus Andreoli Pinto T. The influence of incubation conditions in sterility test. *PDA Journal of pharmaceutical science and technology* 2003; 57(6): 399–403.
2. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 2. М.: Медицина; 1990.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. Часть 1. М.: НЦЭСМП; 2007.
4. ОФС 42-0016–04. Методы микробиологического контроля лекарственных растительных средств, состоящих из одного вида сырья или нескольких (сборы) – фасованная продукция, а также растительного сырья «ангро». Москва; 2004.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.
Гунар Ольга Викторовна. Начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС, д-р фарм. наук.
Сахно Надежда Геннадьевна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.
Новик Елена Самарьевна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. биол. наук.
Булгакова Галина Михайловна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС.
Колосова Людмила Васильевна. Эксперт 1-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС.
Буйлова Ирина Александровна. Эксперт 1-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС.
Рощина Марина Владимировна. Микробиолог лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Гунар Ольга Викторовна; Gunar@exrmed.ru

THE DEVELOPMENT OF MICROBIOLOGICAL METHODS FOR DRUG ANALYSIS

O. V. Gunar, N. G. Sakhno, E. S. Novik, G. M. Bulgakova, L. V. Kolosova,
 I. A. Buylova, M. V. Roshchina

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 presents the review of the national regulatory documents on drug testing for microbiological characteristics, such as «Sterility», «Microbiological Purity» etc. It discusses the history of the establishment of characteristics and the elaboration of the related general pharmacopoeia monographs, as well as prospects for the development of methods in connection with the publication of the Russian State Pharmacopoeia XIII edition. There is a clear trend towards harmonization with the leading world pharmacopoeias, but the Russian State Pharmacopoeia maintains the individual characteristics of drug quality analysis in terms of microbiological characteristics, including the introduction of new technologies, process automation and taking into account the special features of individual drug groups.

Key words: microbiological characteristics; sterility; microbiological purity; vitamin content; concentration of microbial cells; preservative effectiveness.

For citation: Gunar OV, Sakhno NG, Novik ES, Bulgakova GM, Kolosova LV, Buylova IA, Roshchina MV. The development of microbiological methods for drug analysis. *Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin* 2016; (1): 15–18.

REFERENCES

1. Bugno A, de Jesus Andreoli Pinto T. The influence of incubation conditions in sterility test. *PDA Journal of pharmaceutical science and technology* 2003; **57**(6): 399–403.
2. State Pharmacopoeia of the USSR. 11th ed. Issue 2. Moscow: Meditsina; 1990 (in Russian).
3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 12th ed. Part 1. Moscow: NCESMP; 2007 (in Russian).
4. General Monograph 42-0016–04. Methods of microbiological control of medicinal plant resources, consisting of one or more kinds of raw materials (charges) – packaged products as well as vegetable raw materials in bulk. Moscow; 2004 (in Russian).

AUTHORS

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

Gunar OV. Head of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Sakhno NG. Leading expert of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Novik ES. Leading expert of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Biological Sciences.

Bulgakova GM. Leading expert of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines.

Kolosova LV. 1st category expert of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines.

Buylova IA. 1st category expert of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines.

Roshchina MV. Microbiologist of Laboratory of microbiology of Test Center of Quality Expertise of Medicines.

Новые возможности определения содержания действующих веществ в органических соединениях

Л. И. Митькина

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

Статья поступила 11.01.2016 г. Принята к печати 11.02.2016 г.

Резюме: В разработанной для Государственной фармакопеи Российской Федерации общей фармакопейной статье показана возможность применения прибора «элементный анализатор» для решения задач определения действующего вещества в лекарственных препаратах на основе определения элементов С, Н, N, S. Метод основан на высокотемпературном окислительном разложении в потоке гелия, либо в его смеси с кислородом в присутствии катализатора окисления до соответствующих этим элементам неорганических веществ, восстановлении окислов азота до молекулярного азота в присутствии катализатора восстановления и определении соответствующих продуктов разложения методом газовой хроматографии. Метод отличается быстротой определения и не требует использования стандартного образца действующего вещества.

Ключевые слова: количественное определение; элементный анализ; содержание.

Библиографическое описание: Митькина Л.И. Новые возможности определения содержания действующих веществ в органических соединениях. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 19–21.

Контроль качества фармацевтической продукции, надежные методы контроля и отличия подлинных препаратов от фальсифицированных требуют наличия экспрессных и надежных аналитических методик, основанных на использовании современных инструментальных методов анализа.

Впервые в Государственную фармакопею Российской Федерации включена общая фармакопейная статья (ОФС) «Автоматический элементный анализ», предназначенная для определения действующих веществ в лекарственных средствах на основе определения элементов С, Н, N и S.

Метод автоматического определения содержания элементов С, Н, N, S в органических соединениях [3] основан на высокотемпературном (от 1100 до 1800°C) окислительном разложении в потоке гелия, либо в его смеси с кислородом в присутствии катализатора окисления до соответствующих этим элементам неорганических веществ, восстановлении окислов азота до молекулярного азота в присутствии катализатора восстановления и определении продуктов разложения (CO_2 , H_2O , N_2 , SO_2), соответствующих определяемым элементам, методом газовой хроматографии в приборе «элементный анализатор».

Метод элементного анализа может быть применен и для определения содержания активного вещества в лекарственных препаратах, в состав которых входит азотсодержащая фармацевтическая субстанция, при условии отсутствия азота в молекулах вспомогательных веществ. Вследствие присутствия наполнителей при окислительном разложении лекарственных препаратов образуется большое количество углерода диоксида (CO_2), оказывающего влияние на определение азота. В связи с этим газохроматографическое определение азота в лекарственных препаратах проводится после предварительного поглощения углерода диоксида (вместе с серы диоксидом) и воды.

В качестве катализатора окисления обычно используют меди(II) оксид (CuO) с добавкой вана-

дия(V) оксида (V_2O_5) или посеребренного кобальта(II, III) оксида (Co_3O_4). В качестве катализатора восстановления применяют электролитическую медь. Для поглощения диоксидов углерода и серы (CO_2 и SO_2) используют ловушки с натронной известью, воды — с ангидроном, или освобождаются от воды в соединительных трубках, стенки которых селективно проницаемы для воды.

Возможность применения автоматического элементного анализа для контроля лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций на содержание действующего вещества показана в работах [4–9]. В случае фармацевтических субстанций обычно метод используют для определения содержания элементов С, Н, N, S, а в случае лекарственных препаратов — только азота (N) по указанной выше причине. Навески проб вводят в капсулированном виде в реактор с помощью автодозатора. На основании полученных данных по количеству определяемого элемента в навеске анализируемого образца и процентного содержания элемента в молекуле действующего вещества рассчитывают количество вещества во взятой навеске. Для фармацевтических субстанций рассчитывают процентное содержание действующего вещества в исследуемом образце фармацевтической субстанции, для таблеток, зная среднюю массу, — содержание в таблетке. Метод может быть использован и для целей идентификации лекарственного вещества на основе установления его брутто-формулы.

В качестве стандартов используют высокоочищенные органические вещества, применяемые в стандартном элементном анализе (например, ацетанилид, метионин, цистеин — при анализе на С, Н, N, S), причем один и тот же стандарт используется для определения соответствующего элемента в субстанциях, радикально отличающихся по своему строению от вещества-стандарта, и в лекарственных препаратах, содержащих эту фармацевтическую субстанцию. Соответствующие условия высокотемпературного



Рис. 1. Внешний вид приборов «элементный анализатор»

окислительного либо пиролизного разложения и восстановления при определении С, Н, N, S одинаковы для всех анализируемых проб, независимо от строения молекул субстанций и состава соответствующих лекарственных средств; стандартные образцы определяемых действующих веществ не требуются, тогда как определение известными фармакопейными методами требует конкретного оборудования и конкретных условий проведения анализа и наличия стандартных образцов для каждого вещества. При использовании элементного анализатора можно без изменения условий анализа проводить одновременное определение содержания многих действующих веществ, отличающихся по своим физико-химическим свойствам, и таким образом значительно повысить возможности оперативного контроля качества фармацевтической продукции, что имеет большое значение как на производстве, так и при проведении выборочного контроля качества лекарственных средств, находящихся в обращении на фармацевтическом рынке.

Применение элементного анализа наиболее перспективно для быстрого скрининга на содержание действующего вещества представительной группы азотсодержащих лекарственных веществ, количество которых составляет более 70 % всех фармацевтических субстанций. Предлагаемый для фармакопейного анализа новый метод хорошо дополняет описанный в предыдущих изданиях Государственной фармакопеи достаточно трудоемкий химический метод определения азота в органических соединениях — метод Кьельдаля [1, 2]. Титриметрический метод определения серы после сжигания в колбе с кислородом [2] также может быть заменен экспресс-методом с использованием элементного анализатора.

Прибор. Определение проводят на приборе «автоматический элементный анализатор». Прибор работает по принципу «динамической вспышки»: проба в оловянном контейнере сбрасывается в зону реактора, одновременно туда попадает порция кислорода. Температура быстро повышается до 1800 °С. Газообразные продукты сгорания пробы проходят через систему восстановительных реакторов и ловушек, разделяются на хроматографической колонке и детектируются катарометром. Основными составными частями прибора являются: ультрамикровесы, узел ввода пробы — автодозатор капсулированных (запечатанных в контейнеры из оловянной фольги) проб анализируемых образцов, окислительный и восста-

новительный реакторы, помещенные в электропечь, ловушки (поглотители), хроматографическая колонка, детектор по теплопроводности и система для обработки данных и управления прибором. Может комплектоваться универсальной системой ввода проб в контейнерах и/или портом ввода жидких проб.

Внешний вид различных моделей элементных анализаторов приведен на рис. 1.

Современные модели элементных анализаторов соединяют в себе самый высокий уровень автоматизации процесса анализа с возможностью получения надежных данных благодаря применению высокочувствительных датчиков, детекторов и высококачественных реагентов. Они удобны в работе, позволяют свести процесс подготовки пробы к анализу к минимуму. Пользователь должен только взвесить образец, а остальные операции проводятся автоматически. Результаты анализа через считанные минуты выводятся на принтер в виде процентного содержания элементов, отношения содержания углерода к водороду или в виде эмпирической формулы.

Метод применим для анализа как твердых, так и жидких лекарственных средств, может использоваться для анализа углерода в воде (ТОС) и азота/белка в лекарственных препаратах и пищевых продуктах.

Применение данного метода позволит обеспечить резкое увеличение производительности определения содержания действующего вещества за счет универсальности определения и отсутствия необходимых стандартных образцов определяемых действующих веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. 10-е изд. Москва; 1968.
2. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1. Москва; 1998.
3. Pella E. Elemental Organic Analysis. American Lab. 1990; 22: 116–25.
4. Revelsky IA, Luzianin BP, Chernetsova ES, Kapinus EN, Avtamonova MI, Revelsky AI, Glazkov IN. New approach to fast pharmaceutical authenticity/quality control based on elemental analysis of dosage forms. In: Abstracts of the 1st BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Siofok, Hungary, September 26–29, 2005. P. 24–25.
5. Гильдеева ГН, Багирова ВА, Косенко ВВ, Митькина ЛИ, Ревельский ИА, Соловьева ОВ. Новый подход к контролю качества лекарственных средств. Ремедиум 2006; (9): 26–27.
6. Gildeeva GN, Bagirova VL, Kosenko VV, Mitkina LI, Revelsky IA. New Approach to Detection of Counterfeited Pharmaceuticals. In: Europe against Counterfeit Medicines International Conference, Abstracts of Speakers Presentations, Moscow, The Russian Federation, 23–24 October. P. 72–73.
7. Ревельский ИА, Чернецова ЕС, Лузянин БП, Шнайдер АА, Глазков ИН. Быстрый контроль качества фармацевтических препаратов, основанный на определении азота. Заводская лаборатория 2007; 73(7): 20–25.
8. Ревельский ИА, Косенко ВВ, Чернецова ЕС, Федосеева МВ, Митькина ЛИ, Лузянин БП, Ревельский АИ. Быстрый скрининг проб лекарственных средств на содержание активного вещества. Вестник Росздравнадзора 2009; (3): 27–31.
9. Трескунова ТС. Применение автоматизированного элементного анализатора в анализе синтетических лекарственных средств. II. Гарантия качества по показателю «Количественное содержание» и официальные требования. В кн.: Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств. Т. 2, часть 1. Физико-химические методы стандартизации и контроля качества лекарственных средств и средств медицинского микроанализа. М.; 1991. С. 103–105.

ОБ АВТОРАХ

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

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Митькина Лидия Ивановна; Mitkina@expmed.ru

NEW OPPORTUNITIES FOR THE DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCES IN ORGANIC COMPOUNDS

L. I. Mitkina

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 general monograph developed for the Russian State Pharmacopoeia describes the opportunity for using special equipment called «elemental analyzer» to solve the problem of determining active ingredients in pharmaceuticals by determining the elements C, H, N, S. The method is based on the high-temperature oxidative decomposition in a stream of helium, or in its mixture with oxygen in the presence of an catalyst of oxidation to inorganic substances corresponding the mentioned elements, reduction of nitrogen oxides to molecular nitrogen in the presence of the respective reduction catalyst and determining the corresponding decomposition products by gas chromatography. This method is fast and does not require the analysis of a sample of an active substance.

Key words: assay; elemental analysis; content.

For citation: Mitkina LI. New opportunities for the determination of active substances in organic compounds. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 19–21.

REFERENCES

1. The State Pharmacopoeia of the USSR. 10th edition. Moscow; 1968 (in Russian).
2. The State Pharmacopoeia of the USSR. 11th edition. V. 1. Moscow; 1998 (in Russian).
3. Pella E. Elemental Organic Analysis. American Lab. 1990; 22: 116–25.
4. Revelsky IA, Luzianin BP, Chernetsova ES, Kapinus EN, Avtamonova MI, Revelsky AI, Glazkov IN. New approach to fast pharmaceutical authenticity/quality control based on elemental analysis of dosage forms. In: Abstracts of the 1st BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Siofok, Hungary, September 26–29, 2005. P. 24–25.
5. Gildeeva GN, Bagirova VA, Kosenko VV, Mitkina LI, Revelsky IA, Solovieva OV. A new approach to control the quality of medicines. Remedium 2006; (9): 26–27 (in Russian).
6. Gildeeva GN, Bagirova VL, Kosenko VV, Mitkina LI, Revelsky IA. New Approach to Detection of Counterfeited Pharmaceuticals. In: Europe against Counterfeit Medicines International Conference, Abstracts of Speakers Presentations, Moscow, The Russian Federation, 23–24 October. P. 72–73.
7. Revelsky IA, Chernetsova ES, Luzianin BP, Shnayder AA, Glazkov IN. Fast quality control of pharmaceutical products, based on determination of nitrogen. Zavodskaya laboratoriya 2007; 73(7): 20–25 (in Russian).
8. Revelsky IA, Kosenko VV, Chernetsova ES, Fedoseeva MV, Mitkina LI, Luzianin BP, Revelsky AI. Quick screening of medicines trials for active substances. Vestnik Roszdravnadzora 2009; (3): 27–31 (in Russian).
9. Treskunova TS. Use of an automated analyzer in elemental analysis of synthetic medicines. II. Quality assurance in terms of «quantitative content» and official requirements. In: Problems of standardization and quality control of medicines. V. 2, Part 1. Physical and chemical methods of standardization and quality control of medicines and medical microanalysis. Moscow; 1991. P. 103–105 (in Russian).

AUTHORS

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

Mitkina LI. Head of expertise office № 2 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products.
Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) РУДН — современная экспериментальная база для разработки нормативов лекарственных средств

Р. А. Абрамович, О. Г. Потанина, В. В. Чистяков, С. В. Горяинов,
А. Н. Воробьев, А. В. Никулин

Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) РУДН,
117198, Москва, Россия

Статья поступила 13.01.2016 г. Принята к печати 12.02.2016 г.

Резюме: Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) Российского университета дружбы народов создан в 2009 году, оснащен современным передовым измерительным и испытательным оборудованием. На базе Центра коллективного пользования проводятся научно-исследовательские работы по направлениям: разработка и создание лекарственных препаратов, контроль качества и стандартизация лекарственных средств и субстанций и др. Результаты исследований положены в основу ряда общих фармакопейных статей и фармакопейных статей для Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания, в частности «Масс-спектрометрия», «Жирные масла» и др. В настоящее время в Центре коллективного пользования разрабатываются технологии и методы стандартизации лекарственных форм: трансдермальный пластырь, трансбуккальные пленки, плавающая таблетка и другие инновационные лекарственные формы, которые будут использованы для дальнейших разработок общих фармакопейных статей и фармакопейных статей для будущих изданий Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Ключевые слова: Государственная фармакопея XIII изд.; общая фармакопейная статья; фармакопейная статья; масс-спектрометрия; жирные масла; полиморфизм; кристалличность; суппозитории.

Библиографическое описание: Абрамович РА, Потанина ОГ, Чистяков ВВ, Горяинов СВ, Воробьев АН, Никулин АВ. Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) РУДН — современная экспериментальная база для разработки нормативов лекарственных средств. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 22–24.

Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) Российского университета дружбы народов (ЦКП (НОЦ) РУДН) создан в 2009 году в рамках инновационной образовательной программы приоритетного Национального проекта «Образование», оснащен современным измерительным и испытательным оборудованием и обеспечивает полный комплекс исследований, связанных с разработкой лекарственных средств, начиная с синтеза субстанции и заканчивая внедрением в производство современных лекарственных форм. ЦКП (НОЦ) РУДН аккредитован в области анализа лекарственных средств (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.21ФЛ05 от 25.05.2015 г.). Получен международный сертификат соответствия системы менеджмента качества требованиям стандарта «Правила GMP» и ISO 9001:2008.

ЦКП (НОЦ) РУДН совместно с фармацевтическими предприятиями и институтами принимал участие в разработке лекарственных препаратов, в том числе в рамках государственных заказов. Итогами такой деятельности стали стратегически важные воспроизведенные и инновационные импортозамещающие препараты. Результаты исследований ЦКП (НОЦ) РУДН были использованы для подготовки общих фармакопейных статей (ОФС) и фармакопейных статей (ФС) для Государственной фармакопеи XIII изд. (ГФ XIII).

Сотрудниками Центра прецизионных инструментальных методов анализа (Центра «Прима») ЦКП (НОЦ) РУДН впервые разработана ОФС «Масс-спектрометрия». Некоторые данные по этой теме представлены в публикациях [9, 10]. В указанной ОФС рассмотрены общие понятия метода, класси-

фикация методов ввода образца, описание методов ионизации и разделения ионов, принципы качественного и количественного анализа.

Европейская и Британская фармакопеи включают статью «Масс-спектрометрия», однако в ней отсутствует информация о способах количественного анализа с помощью масс-спектрометрии. Кроме того, появились новые методы ионизации, новые типы масс-анализаторов, — все это вошло в подготовленную ОФС «Масс-спектрометрия». Американская фармакопея включает статью «Масс-спектрометрия», однако она требует актуализации. Например, в разделе о методах ионизации отсутствует информация о десорбционных методах (DART, DESI), позволяющих проводить ультрабыстрый скрининг различных лекарственных форм практически без проведения пробоподготовки. Предложенная к ГФ XIII ОФС учитывает эти недостатки.

В Центре «Прима» ЦКП (НОЦ) РУДН подготовлена диссертационная работа «Фармацевтический анализ лекарственных субстанций, вспомогательных веществ и масел сочетанием методов масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР». Данные исследований опубликованы в журналах списка ВАК [2, 3] и предложены дополнением к ОФС «Масла жирные»: добавлены методы масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР ¹H.

В ЦКП (НОЦ) РУДН проводятся исследования фармацевтических субстанций, их полиморфных модификаций, обладающих различными физико-химическими и поверхностными свойствами. Явление полиморфизма лекарственных веществ — один из важнейших аспектов, которым нельзя пренебрегать при получении лекарственных форм, изучении их ста-

бильности, условий их хранения, биодоступности. В подготовке ОФС «Полиморфизм» и ОФС «Кристалличность» принимал участие Директор центра доклинических и клинических исследований ЦКП (НОЦ) РУДН, профессор В. В. Чистяков совместно с сотрудниками 1-го МГМУ им. И. М. Сеченова, результаты опубликованы в печатных изданиях [7, 8].

Большой интерес в ЦКП (НОЦ) РУДН проявляется к исследованию и анализу лекарственного растительного сырья. В 2010 году в рамках государственного выборочного контроля проанализирована продукция ряда фармацевтических компаний, производителей лекарственного растительного сырья. В настоящее время проводятся исследования по разработке методов определения элементов, а также хлоридов, бромидов, нитратов; определения содержания полисахаридов в лекарственном растительном сырье различными инструментальными методами анализа. Результаты исследований подготовлены в виде научных статей и переданы в издательства, планируется подготовка изменений к существующим ОФС по определению указанных веществ.

Результаты диссертационной работы директора Центра научных исследований и разработок ЦКП (НОЦ) РУДН О. Г. Потаниной [4] положены в основу более 30 ОФС и ФС, включенных в ГФ XIII, подготовленных совместно с сотрудниками НИИ Фармации 1-го МГМУ им. И. М. Сеченова [5, 6]. Среди указанных статей: «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств из него», «Определение подлинности, измелченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье», «Цветки», «Плоды», «Кора», «Цветки бузины». «Трава сушеницы», «Семена льна» и другие.

Исследования, проводимые директором ЦКП (НОЦ) РУДН Р. А. Абрамович, представленные в диссертационной работе [1], позволили доработать ряд ОФС при их рецензировании по стандартизации суппозитория, в том числе впервые было предложено включить показатель «Дисперсность» для суппозитория, изготовленного по типу суспензии. Среди пересмотренных статей были: «Суппозитории», «Растворение для суппозитория на липофильной основе», «Распадаемость суппозитория и вагинальных таблеток», «Определение времени полной деформации суппозитория на липофильной основе».

Сотрудники ЦКП (НОЦ) приняли активное участие в рецензировании ОФС и ФС к ГФ XIII, в частности были подготовлены рецензии на статьи: ОФС «Масс-спектрометрия», ОФС «Рентгеновская порошковая дифрактометрия», ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье», ОФС «Ситовой анализ»,

ОФС «Определение содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье», «Определение концентрации микробных клеток в бактериальных взвесьях» и многие другие.

В настоящее время в ЦКП (НОЦ) проводятся исследования по разработке и стандартизации лекарственных форм: трансдермальный пластырь, трансбуккальные пленки, таблетки с модифицированным высвобождением активной субстанции, плавающая таблетка, многослойная таблетка, — все это будет продолжением дальнейших разработок ОФС и ФС для будущих изданий ГФ РФ с целью своевременного обеспечения требований к контролю качества и стандартизации современных лекарственных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамович Р. А. Основы разработки и технологии получения суппозитория с использованием отечественных субстанций: дис. ... д-ра фарм. наук. М.; 2013.
2. Горяинов СВ, Хомик АС, Калабин ГА, Вандышев ВВ, Абрамович РА. Жирнокислотный состав семян *Punica granatum* L. из отходов от получения гранатового сока. Вестник РУДН (серия Экология. Безопасность жизнедеятельности) 2012; (1): 10–15.
3. Горяинов СВ, Лабзиуи З, Суслина СН, Вандышев ВВ, Калабин ГА. Сравнительное исследование образцов масла семян *Argania spinosa*, полученных разными способами, методами ЯМР ^1H спектроскопии и масс-спектрометрии. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2013; (4): 10–15.
4. Потанина ОГ. Совершенствование стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм из него на основе микроскопического метода исследования: дис. ... д-ра фарм. наук. М; 2003.
5. Потанина ОГ, Самылина ИА. Фармакопейные требования к микроскопическому анализу лекарственного растительного сырья. Фармация 2015; (4): 47–48.
6. Потанина ОГ, Самылина ИА. Совершенствование требований к разработке общих фармакопейных методов анализа лекарственного растительного сырья. Фармация 2011; (3): 46–47.
7. Чистяков ВВ. Проблемы качества субстанций при производстве генериков. Лекарственные средства: прикладная фармакология и персонализированная фармакотерапия; 2010.
8. Чистяков ВВ. Взаимосвязь кристаллической структуры субстанции вещества, фармакокинетики и эффективности лекарственного средства. В кн.: Кукес ВГ, ред. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство. М.: ГЭОТАР Медиа; 2009. С. 432.
9. Chernetsova ES, Khomyakov YuYu, Goryainov SV, Ovcharov MV, Abramovich RA, Bochkov PO, Zatonsky GV, Zhokhov SS. A comparison of the capabilities of Direct Analysis in Real Time mass spectrometry and gas chromatography — mass spectrometry for the analysis of mint essential oil samples. Mendelev Commun 2010; 20(5): 299–300.
10. Borisov RS, Polovkov NY, Gorjainov SV, Zaikin VG. Determination of composition of poly(ethylene-copropylene) glycols at molecular level by MALDI mass spectrometry following preliminary derivatization. International Journal of Polymer Analysis and Characterization 2012; 17: 608–615.

ОБ АВТОРАХ

Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) РУДН. Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8/2.

Абрамович Римма Александровна. Директор, д-р фарм. наук, проф.

Потанина Ольга Георгиевна. Директор Центра научных исследований и разработок, д-р фарм. наук.

Чистяков Виктор Владимирович. Директор Центра доклинических и клинических исследований, д-р фарм. наук.

Горяинов Сергей Владимирович. Заведующий лабораторией масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР высокого разрешения.

Воробьев Александр Николаевич. Главный технолог, канд. фарм. наук.

Никулин Александр Владимирович. Заведующий лабораторией физико-химических методов исследования, канд. хим. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Абрамович Римма Александровна; Microly@mail.ru

SHARED KNOWLEDGE CENTRE (RESEARCH AND EDUCATION CENTRE) OF THE PEOPLES' FRIENDSHIP UNIVERSITY OF RUSSIA AS A MODERN EXPERIMENTAL BASIS FOR THE DEVELOPMENT OF DRUG STANDARDS

R. A. Abramovich, O. G. Potanina, V. V. Chistyakov, S. V. Goryainov, A. N. Vorobiev, A. V. Nikulin

Shared Knowledge Centre (Research and Education Centre) of the Peoples' Friendship University of Russia,
117198, Moscow, Russia

Abstract: Shared Knowledge Centre (Research and Education Centre) of the Peoples' Friendship University of Russia (SKC (REC) PFUR) was established in 2009. It is equipped with modern advanced measuring and testing equipment. On the basis of SKC (REC) various scientific and research projects are conducted, such as the development and formulation of medicines; quality control and standardization of medicines and substances, etc. The research results became a basis for a number of general monographs and monographs to be included in the Russian State Pharmacopoeia XIII edition, in particular, «Mass Spectrometry», «Fatty oils» etc. At the moment the employees of SKC (REC) are developing technologies and methods of standardization for dosage forms such as transdermal patch, buccal films, floating tablet and other innovative dosage forms, which will be used for further development of the general monographs and monographs for the future Russian State Pharmacopoeia editions.

Key words: Russian State Pharmacopoeia XIII edition; general pharmacopoeia monograph; pharmacopoeia monograph; mass spectrometry; fatty oils; polymorphism; crystallinity; suppositories.

For citation: Abramovich RA, Potanina OG, Chistyakov VV, Goryainov SV, Vorobiev AN, Nikulin AV. Shared Knowledge Centre (Research and Education Centre) of the Peoples' Friendship University of Russia as a modern experimental basis for the development of drug standards. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 22–24.

REFERENCES

1. Abramovich RA. The basics of design and technology of suppositories with domestic substances. Dr. Pharm. Sci [dissertation]. Moscow; 2013 (in Russian).
2. Goryainov SV, Homik AS, Kalabin GA, Vandyshev VV, Abramovich RA. Fatty acid composition of seeds of *Punica granatum* L. waste from receiving pomegranate juice. Vestnik RUDN 2012; (1): 10–15 (in Russian).
3. Goryainov SV, Labziui Z, Suslina SN, Vandyshev VV, Kalabin GA. Comparative study samples seed oil *Argania spinosa*, obtained by different methods, methods ^1H NMR spectroscopy and mass spectrometry. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy himii 2013; (4): 10–15 (in Russian).
4. Potanina OG. Improved standardization and quality control of medicinal plant materials and dosage forms thereof on the basis of the microscopic method of investigation. Dr. Pharm. Sci [dissertation]. Moscow; 2003 (in Russian).
5. Potanina OG, Samylina IA. Pharmacopoeial requirements for microscopic analysis of medicinal plants. Farmatsiya 2015; (4): 47–48 (in Russian).
6. Potanina OG, Samylina IA. Improving the requirements for the development of common methods of analysis pharmacopoeia of medicinal plants. Farmatsiya 2011; (3): 46–47 (in Russian).
7. Chistyakov VV. Quality problems of substances in the production of generics. Medicines: applied pharmacology and personalized pharmacotherapy; 2010 (in Russian).
8. Chistyakov VV. The relationship of the crystal structure of substance, pharmacokinetics and drug efficacy. In: Kukes VG, ed. Clinical pharmacokinetics: theoretical, applied and analytical aspects: guidance. Moscow: GEOTAR Media; 2009. P. 432 (in Russian).
9. Chernetsova ES, Khomyakov YuYu, Goryainov SV, Ovcharov MV, Abramovich RA, Bochkov PO, Zatonksy GV, Zhokhov SS. A comparison of the capabilities of Direct Analysis in Real Time mass spectrometry and gas chromatography — mass spectrometry for the analysis of mint essential oil samples. Mendelev Communications 2010; 20(5): 299–300.
10. Borisov RS, Polovkov NY, Gorjainov SV, Zaikin VG. Determination of composition of poly(ethylene-copropylene) glycols at molecular level by MALDI mass spectrometry following preliminary derivatization. International Journal of Polymer Analysis and Characterization 2012; 17: 608–615.

AUTHORS

Shared Research and Education Centre of the PFUR, Miklukho-Maklaya street, 6, Moscow, 117198, Russian Federation.

Abramovich RA. Director. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

Potanina OG. Director of Center for Research and Development. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Chistyakov VV. Director of Center for preclinical and clinical studies. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Goryainov SV. Head of the Laboratory of mass spectrometry and high-resolution NMR spectroscopy.

Vorobiev AN. Chief technologist. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Nikulin AV. Head of the Laboratory of physical and chemical research methods. Candidate of Chemical Sciences.

Оптические методы в исследованиях хиральных свойств лекарственных средств. I. Валин в воде с различным содержанием дейтерия

А. В. Сыроешкин, Т. В. Плетенева, Е. В. Успенская, О. В. Левицкая

Российский университет дружбы народов, Медицинский институт,
117198, Москва, Россия

Статья поступила 19.01.2016 г.; Принята к печати 08.02.2016 г.

Резюме: Методами поляриметрии и лазерной дифракции света исследованы водные растворы валина (фармакологическая группа «Белки и аминокислоты»). Показано, что оптическая активность энантиомеров валина зависит от содержания дейтерия в водных растворах. Обсуждается вклад в оптическую активность растворов валина дейтерий-зависимых гетерофазных кластеров воды.

Ключевые слова: хиральная чистота лекарственных средств; поляриметрия; лазерная дифракция света; соотношение дейтерий/протий в воде.

Библиографическое описание: Сыроешкин АВ, Плетенева ТВ, Успенская ЕВ, Левицкая ОВ. Оптические методы в исследованиях хиральных свойств лекарственных средств. I. Валин в воде с различным содержанием дейтерия. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 25–28.

Выход в свет Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII изд. открывает новые возможности для совершенствования системы контроля качества лекарственных средств и детального изучения механизмов их действия в организме. Например, включенные в новую фармакопею такие ОФС, как «Поляриметрия» (обновленный вариант) и «Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света» (новая статья) являются базовыми при разработке и контроле качества ЛС, обладающих оптической активностью [1]. Внимание мировых фармакопей к хиральной чистоте субстанций для фармацевтического применения обусловлено различиями в биологической активности оптических антиподов и равновесными процессами с образованием в организме их токсичных форм [2].

Равновесные процессы с участием оптических антиподов многообразны и мало изучены [3]. Так, при переходе с одного иерархического уровня организации живой материи на другой наблюдается замена оптических изомеров: например, природные белки состоят только из L-аминокислот, в то время как в состав клеточных мембран входят D-аминокислоты. Такого рода избирательность может быть связана с изотопным составом и другими физико-химическими характеристиками растворителя (воды), в котором проходило формирование биосистем. Влияние природы растворителя на оптические свойства описано в фармакопейном анализе: при замене растворителя величина удельного вращения раствора субстанции может изменяться вплоть до смены знака на противоположный [1, 4].

Известно, что вода не является однокомпонентной системой, но содержит изотопологи, в том числе H₂O, HDO и D₂O [5, 6]. Дейтерий ²H(D) — нерадиоактивный тяжелый изотоп водорода — влияет на размер, количество и время релаксации субмиллиметровых плотностных неоднородностей — гигантских гетерофазных кластеров (ГГК) воды [7, 8]. В связи с этим оптическая активность водных растворов хиральных лекарств является функцией изотопного состава воды.

Цель работы — методами поляриметрии и лазерной дифракции света исследовать влияние соотношения дейтерий/протий (D/H) на удельное вращение растворов оптических изомеров валина и размерные спектры гигантских гетерогенных кластеров воды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Субстанции L- и D-валина (L- и D-2-амино-3-метилбутановая кислота) с содержанием действующего вещества ≥98%, производитель «Sigma-Aldrich».

В качестве контрольных использовали растворы L-валина, приготовленные согласно Европейской фармакопее: 8% раствор в 6 М HCl, $[\alpha]_D^{20} = +26,5^\circ \div +29,0^\circ$ [4].

Деионизованную высокоомную воду (не менее 18 МОм/см при 25°C) готовили путем очистки апирированной дистиллированной воды в системе Milli-Q (фирма «Millipore», Великобритания), соотношение D/H = 140 ppm. Вода, обедненная по содержанию дейтерия, D/H = 6 ppm («легкая» вода, deuterium depleted water), ЗАО «Легкая вода», Москва. Тяжелая вода с содержанием 99,99% D₂O, «Sigma-Aldrich».

Измерение pH проводили потенциометрически (PP-20, «Sartorius», Германия).

Оптическую активность растворов валина измеряли с точностью 0,2% на автоматическом поляриметре Atago POL-1/2, Япония. Удельное вращение рассчитывали по формуле:

$$[\alpha]_D^{20} = \alpha \cdot 100 / (w \cdot l),$$

где: α — измеренный угол вращения, град. при 20°C, w — масса-объемная концентрация раствора, %, l — длина поляриметрической трубки, дм.

Объемное распределение ГГК воды по размерам (размерные спектры) определяли методом лазерной дифракции света с применением лазерного малоуглового измерителя дисперсности (particle sizer) производства фирмы «Malvern» (модель 3600 Ec, луч мало-мощного (2 мВт) He-Ne лазера коллимирован до диа-

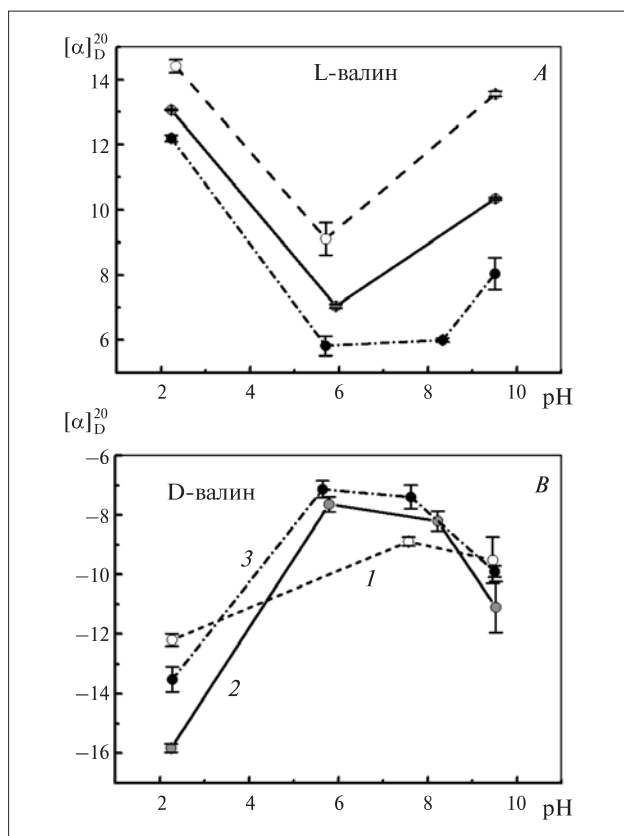


Рис. 1. Удельное вращение водных растворов L-валина (А) и D-валина (В) с разным соотношением D/H в зависимости от pH: 1 — вода, обедненная по дейтерию, — 6 ppt; 2 — деионизованная высокоомная вода — 140 ppt; 3 — тяжелая вода — 99,9% D₂O

метра 8 мм) [9]. Все измерения повторены не менее 5 раз; относительная ошибка измерений не превышала 20% при доверительной вероятности 0,95.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружено, что удельное вращение растворов оптических изомеров валина имеет достоверные различия в водах с разным соотношением D/H: деионизованной высокоомной — 140 ppt; обедненной по дейтерию — 6 ppt; тяжелой — 99,9% D₂O (рис. 1). Следует подчеркнуть, что если для L-валина зависимость оптической активности от содержания дейтерия проявляется в интервале pH = 2–10, то для D-валина эффект четко выражен только при pH=2. Удель-

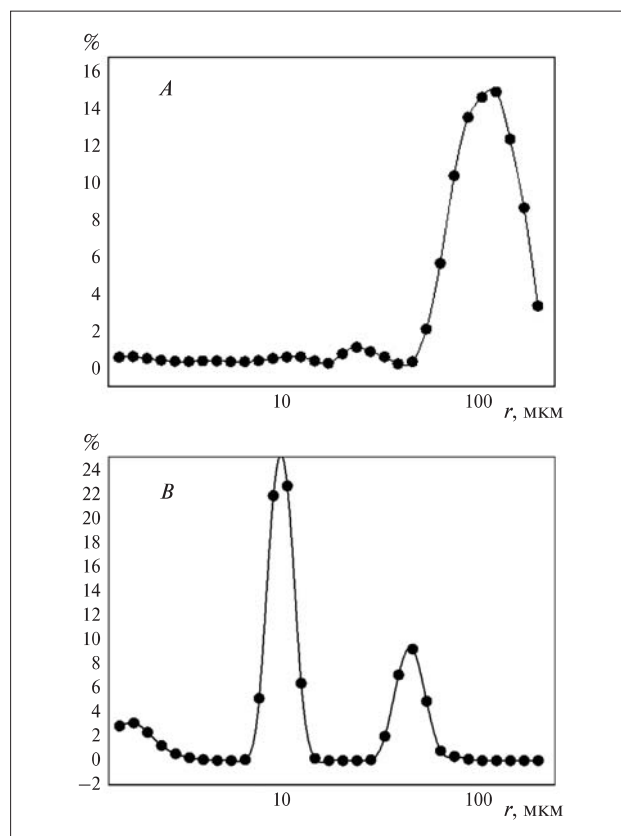


Рис. 2. Размерные спектры гигантских гетерогенных кластеров воды, формирующихся в растворах L-валина (А) и D-валина (В) при pH = 2,3 в «легкой» воде (D/H = 6 ppt); метод лазерной дифракции света

ное вращение растворов L-валина и доля дейтерия в воде антибатны: рост одного показателя ведет к снижению другого. Для D-валина такая зависимость отсутствует. Интересно, что минимальные значения оптической активности исследуемых растворов совпадают с формированием цвиттер-иона валина.

Наблюдаемые значения удельного вращения могут представлять собой аддитивные величины с учетом вклада растворителя в результате формирования надмолекулярных структур (ГГК), критически зависящего от концентрации дейтерия. Наши работы [5–8] и труды ряда других исследователей [10–12] указывают на существование долгоживущих (часы) плотностных неоднородностей в объемной фазе воды. В качестве примера представлен пример различия размеров ГГК воды для энантиомеров валина в легкой воде (рис. 2). L-валин индуцирует формирование более крупных плотностных неоднородностей ($r_{\max} = 100$ мкм) в отличие от D-валина, в растворе которого существуют две размерные группы кластеров: $r_{\max 1} = 15$ мкм и $r_{\max 2} = 50$ мкм. Таким образом, различия удельного вращения изомеров валина можно объяснить влиянием хиральной среды, которая способна индуцировать или изменять оптическую активность субстанции [9, 13, 14].

Следует подчеркнуть, что суммарное количество ГГК в растворе L-валина снижается на два порядка в исследуемом интервале pH (табл. 1). В то же время в растворах D-валина объемная концентрация ГГК воды практически не меняется, что коррелирует с поляризметрическими результатами (рис. 1).

Таблица 1

ЗНАЧЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛАЗЕРНОГО МАЛОУГЛОВОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ НА ПЛОТНОСТНЫХ НЕОДНОРОДНОСТЯХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ВАЛИНА ПРИ D/H = 6 ppt

pH	Объемная концентрация плотностных неоднородностей (ГГК), %	
	L-валин	D-валин
2,3	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$7,0 \cdot 10^{-4}$
5,9	$3,0 \cdot 10^{-4}$	$7,0 \cdot 10^{-4}$
9,6	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные на модельной системе валина, свидетельствуют о важной роли изотопного эффекта растворителя в проявлении оптической активности водных растворов хиральных фармацевтических субстанций. Это особенно существенно в связи с различиями изотопного состава вод различных регионов, используемых для приготовления жидких лекарственных форм, что не может не отражаться на контроле их качества поляризметрическим методом.

Дальнейшее развитие Государственной фармакопеи потребует разработки и включения ОФС, связанной с хиральностью фармацевтических субстанций. Метод лазерной дифракции света, использованный нами ранее для оценки дисперсности гетерофазных систем [15] и включенный в ГФ XIII, получит дальнейшее развитие в плане детализации влияния изотопного состава воды на качество оптически активных лекарственных средств, выпускаемых в РФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 2. М.; 2015.
2. Rehman W, Arfons LM, Lazarus HM. The rise, fall and subsequent triumph of thalidomide: lessons learned in drug development. *The Adv Hematol*. 2011; 2(5): 291–308.
3. Твердислов ВА, Яковенко ЛВ, Жаворонков АА. Хиральность как проблема биохимической физики. *Российский химический журнал* 2007; LI(1): 13–22.

ОБ АВТОРАХ

Российский университет дружбы народов, Медицинский институт. Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8.
Сыроешкин Антон Владимирович. Заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, д-р биол. наук, проф.
Плетенева Татьяна Вадимовна. Профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии, д-р хим. наук, проф.
Успенская Елена Валерьевна. Доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, канд. хим. наук.
Левицкая Ольга Валерьевна. Ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Успенская Елена Валерьевна; uspenskaya75@mail.ru

OPTICAL METHODS IN THE STUDY OF DRUG CHIRAL PROPERTIES. I. VALINE IN AQUEOUS SOLUTIONS WITH DIFFERENT DEUTERIUM CONTENT

A. V. Syroeshkin, T. V. Pleteneva, E. V. Uspenskaya, O. V. Levitskaya

Peoples' Friendship University of Russia, Medical Institute
117198, Moscow, Russia

Abstract: Two optical methods — polarimetry and laser light diffraction — have been used to study valine aqueous solutions. It has been shown that optical activity of valine enantiomers depends on deuterium content in aqueous solutions. The influence of deuterium-dependant heterophase clusters of water on optical activity of valine aqueous solutions has been discussed.

Key words: drug chiral purity; polarimetry; laser light diffraction; deuterium/protium ratio in water.

For citation: Syroeshkin AV, Pleteneva TV, Uspenskaya EV, Levitskaya OV. Optical methods in the study of drug chiral properties. I. Valine in aqueous solutions with different deuterium content. *Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin* 2016; (1): 25–28.

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 2. Moscow; 2015 (in Russian).
2. Rehman W, Arfons LM, Lazarus HM. The rise, fall and subsequent triumph of thalidomide: lessons learned in drug development. *The Adv Hematol*. 2011; 2(5): 291–308.
3. Tverdislov VA, Yakovenko LV, Zhavoronkov AA. Chirality as a problem of Biochemical Physics. *Rossiyskiy himicheskiy zhurnal* 2007; LI(1): 13–22 (in Russian).
4. European Pharmacopoeia. 7.0.2011. V. 2. 3188.
5. Goncharuk VV, Lapshin VB, Burdeinaya TN, Pleteneva TV, Chernopyatko AS. Physicochemical Properties and Biological Activity of the Water Depleted of Heavy Isotopes. *Journal of Water Chemistry and Technology* 2011; 33(1): 8–13.
6. Смирнов АН, Гончарук ВВ, Успенская ЕВ, Николаев ГМ, Попов ПИ, Кармазина ТВ. и др. Вода как гетерогенная структура. Исследовано в России 2006; 88: 843–54.
7. Смирнов АН, Успенская ЕВ, Сыроешкин АВ, Лапшин ВБ, Гончарук ВВ, Плетенева ТВ. Структура воды и лазерные экспресс-методы определения подлинности. *Фармация* 2007; (5): 21–23.
8. Смирнов АН, Сыроешкин АВ. Супранадмолекулярные комплексы воды. *Российский химический журнал* 2004; 48(2): 125–35.
9. Крестов ГА, Королев ВП, Батов ДВ. Дифференцирующее действие замещения протия дейтерием на свойства растворителей. *Доклады Академии наук СССР* 1987; 293(4): 882–3.
10. Pollack GH. The role of aqueous interfaces in the cell. *Advances in Colloid and Interface Science* 2003; 103(2): 173–96.
11. Коваленко ВФ, Бордюк АЮ, Шутов СВ. Определение формы кластеров воды. *Оптика атмосферы и океана* 2011; 24(7): 601–605.
12. Фесенко ЕЕ, Терпугов ЕЛ. О необычных спектральных свойствах воды в тонком слое. *Биофизика* 1999; 44(1): 5–9.
13. Лобышев ВИ. Вода как сенсор слабых взаимодействий физической и химической природы. *Российский химический журнал* 2007; 51(1): 107–14.
14. Natori K. Electron-electron interaction in natural optical rotation. *Journal of the faculty of engineering* 1994; 74: 1–11.
15. Плетенева ТВ, Попов ПИ, Сыроешкин АВ, Берлянд АС, Шаназаров КС, Лесников ЕВ, Багирова ВЛ. Проект фармакопейной статьи «Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света». *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2007; (4): 104–107.

6. Smirnov AN, Goncharuk VV, Uspenskaya EV, Nikolaev GM, Popov PI, Karmazina TV, et al. Water as a heterogeneous structure. Issledovano v Rossii 2006; 88: 843–54 (in Russian).
7. Smirnov AN, Uspenskaya EV, Syroeshkin AV, Lapshin VB, Goncharuk VV, Pleteneva TV. The structure of water and laser rapid methods for determining authenticity. Farmatsiya 2007; (5): 21–23 (in Russian).
8. Smirnov AN, Syroeshkin AV. Supramolecular complexes of water. Rossiyskiy himicheskiy zhurnal 2004; 48(2): 125–35 (in Russian).
9. Krestov GA, Korolev VP, Batov DV. The differentiating effect of protium deuterium substitution on the properties of the solvent. Doklady akademii nauk SSSR 1987; 293(4): 882–3 (in Russian).
10. Pollack GH. The role of aqueous interfaces in the cell. Advances in Colloid and Interface Science 2003; 103(2): 173–96.
11. Kovalenko VF, Bordyuk AYU, Shutov SV. Determination of the shape of water clusters. Optika atmosfery i okeana 2011; 24(7): 601–605 (in Russian).
12. Fesenko EE, Terpugov EL. On unusual spectral properties of the water in a thin layer. Biofizika 1999; 44(1): 5–9 (in Russian).
13. Lobyshev VI. Water as a sensor of weak interactions of physical and chemical nature. Rossiyskiy himicheskiy zhurnal 2007; 51(1): 107–14 (in Russian).
14. Natori K. Electron-electron interaction in natural optical rotation. Journal of the faculty of engineering 1994; 74: 1–11.
15. Pleteneva TV, Popov PI, Syroeshkin AV, Berlyand AS, Shanazarov KS, Lesnikov EV, Bagirova VL. Project of pharmacopoeia article «Determination of particle size distribution by laser diffraction of light». Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya 2007; (4): 104–107 (in Russian).

AUTHORS

Peoples' Friendship University of Russia, Medical Institute, Miklukho-Maklaya street, 8, Moscow, 117198, Russian Federation.
Syroeshkin AV. Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Doctor of Biological Sciences.
Pleteneva TV. Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Doctor of Chemical Sciences, professor.
Uspenskaya EV. Docent of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Candidate of Chemical Sciences.
Levitskaya OV. Assistant of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry.

Тест-система для оценки активности ингибиторов GSK-3 в качестве антигипоксантов и индукторов дифференцировки эндотелиальных предшественников *in vitro*

Ю. Е. Бурда¹, С. В. Надеждин¹, Е. В. Зубарева¹, М. В. Покровский¹,
С. Ю. Бурда², М. С. Ширина¹

¹ Национальный исследовательский университет «Белгородский государственный университет», 308005, Белгород, Россия

² Курский государственный медицинский университет, 305031, Курск, Россия

Статья поступила 28.01.2016 г. Принята к печати 09.02.2016 г.

Резюме: Описаны этапы разработки модельной тест-системы для проверки *in vitro* антигипоксической и эндотелиально-дифференцировочной активности вновь создаваемых ингибиторов киназы гликогенсинтазы-3 — потенциальных регуляторов клеточной активности. В качестве референтного препарата выбран β4-тимозин, обладающий противоишемическим и ангиогенным действием. Предложенная экспериментальная клеточная модель может быть использована в предварительном тестировании новых химических соединений в плане их лекарственного потенциала при ишемических расстройствах и быть альтернативой методикам с использованием лабораторных животных.

Ключевые слова: киназа гликогенсинтазы-3; GSK-3; β4-тимозин; гипоксия; ишемия; эндотелий.

Библиографическое описание: Бурда ЮЕ, Надеждин СВ, Зубарева ЕВ, Покровский МВ, Бурда СЮ, Ширина МС. Тест-система для оценки активности ингибиторов GSK-3 в качестве антигипоксантов и индукторов дифференцировки эндотелиальных предшественников *in vitro*. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 29–32.

Киназа гликогенсинтазы-3 (Glycogen synthase kinase 3, GSK-3) является тирозинкиназой, принимающей участие во многих центральных путях передачи сигналов в клетку, включая пролиферацию, миграцию и апоптоз. Фосфорилирование белков с ее участием обычно ингибирует активность последующих звеньев в цепочке передачи сигнала. Ингибиторы активности GSK-3 являются многообещающими претендентами на роль лекарств при многих заболеваниях, в том числе в качестве стимуляторов репарации тканей и неопластогенеза, индукторов миелопоэза и в ряде иных направлений [1, 2].

Одной из задач при разработке новых лекарственных препаратов является проведение скрининга биологической активности синтезируемых молекул-претендентов. В настоящее время большая часть экспериментальных и доклинических исследований в России проводится с использованием лабораторных животных, что не является, на наш взгляд, оптимальным решением. На уровне организма сложно выявить и контролировать все химические и биологические процессы, происходящие с лекарственным препаратом, в том числе в силу неизвестных на начальном этапе фармакокинетических особенностей нового химического соединения, неточного соответствия между активностью вещества у животного и у человека. Также существуют вопросы об этичности использования живых моделей и об отсутствии модельных животных для некоторых состояний и болезней. В связи с этим фармакологами и фармпроизводителями на начальных этапах разработки и тестирования новых лекарственных препаратов все активнее используются клеточные культуры [9]. Указанный подход лишен описанных для животных недостатков, при этом широчайший выбор стандартизированных и первичных клеточных линий позволяет разработать адекватную модель практически для любого по-

тенсиального лекарства и проведения скрининга биологической активности синтезируемых молекул-претендентов.

Настоящая работа посвящена разработке модельной клеточной тест-системы для проверки биологической активности новых ингибиторов GSK-3 в опытах *in vitro*. Для любой модели необходимо использование некоего контрольного вещества, обладающего известной активностью, для проведения сравнительного исследования новых молекул. Для ингибиторов GSK-3 нами был выбран β4-тимозин, изученный в спортивной фармакологии и в некоторых других областях медицины [3–5] и доступный в качестве готовой субстанции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эндотелиальные предшественники получали из костного мозга 10 крыс Wistar возраста 3–4 недели, умерщвленных декапитацией под эфирным наркозом, по модифицированному методу Nana Y. и соавт. [7]. Костный мозг вымывали с помощью шприца фосфатно-солевым буфером (ФСБ, pH=7,4; Панэко #P074) из диафизов и механически измельченных эпифизов трубчатых костей конечностей. Для очистки от фрагментов костной, мышечной и соединительной ткани вымытый костный мозг фильтровали через нейлоновые фильтры (SPL LifeSciences #93100) с диаметром пор 100 мкм.

Профильтрованную суспензию клеток в ФСБ аккуратно переносили на раствор фиколла-урографина с $\rho = 1,077$ (Панэко #P052) и центрифугировали при 2000 об/мин в течение 20 мин при комнатной температуре. Мононуклеарную фракцию в виде кольца на поверхности фиколла-урографина аккуратно собирали и переносили в новые центрифужные пробирки (SPL LifeSciences #51115), ресуспендировали в ФСБ и

центрифугировали при 1500 об/мин 10 мин при комнатной температуре. Надосадок отсасывали, а осевшие клетки еще раз ресуспендировали в ФСБ и вновь центрифугировали в том же режиме, после чего надосадочную жидкость удаляли. Клеточный осадок ресуспендировали в полной питательной среде, содержащей среду 199 (Панэко #C210п), 15% сыворотки эмбрионов коров (HyClone #K052/SV30160.03), 10 нг/мл FGFb (Панэко #ФР07010) и 20 нг/мл VEGF (Sigma #V4512), и рассевали на 24-луночный планшет (Corning Costar #3524) из расчета 100 тыс. клеток на лунку. Инкубировали во влажной атмосфере 5% CO₂ при 37 °С.

Через 2 суток не прикрепившиеся к дну лунок клетки удаляли, а к прикрепившимся добавляли новую полную питательную среду. В дальнейшем каждые 3 дня половину среды удаляли и вносили равный объем свежей полной среды в каждую лунку.

Через 11 дней супернатант с клеток полностью удаляли и вносили свежую полную питательную среду, к части клеток — с добавлением β4-тимозина (LCN Bio-Chemicals Limited) в концентрации 2 мкг/мл. Клетки инкубировали в течение 3-х суток во влажной атмосфере 5% CO₂ при 37 °С. Ишемию клеток моделировали путем прекращения доступа кислорода к клеткам за счет образования масляной пленки на поверхности питательной среды в лунках планшета, с использованием индифферентного для клеток минерального масла (Sigma #M5310). Длительность гипоксии — 2, 4, 6 и 8 ч. Кроме того, часть клеток подвергали дополнительно «голоданию», заменив среду на ФСБ.

Для оценки общего числа клеток производили подсчет клеток в 5 смежных полях зрения в каждой лунке планшета с использованием хоффмановского контрастирования при помощи флуоресцентного микроскопа Eclipse Ti-S (Nikon). Методом флуоресцентной микроскопии оценивали число жизнеспособных клеток с использованием флуорохромов: кальцеина — АМ (Sigma #17783) и этидиума бромида (Sigma #E7637) в тех же полях зрения. Принадлежность к эндотелиальным предшественникам оценивали по мембранной экспрессии специфического маркера Flk1/VEGFR1 с окраской методом двойных антител (SantaCruz #sc-505 и #sc-2012) флуоресцентным методом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая интерес к противоишемическому и ангиогенному действию ингибиторов GSK-3, была изучена способность β4-тимозина влиять на данные параметры в нашей модели.

При оценке динамики общего числа клеток в лунках планшета в условиях гипоксии (рис. 1) обнаружено протективное действие β4-тимозина на клетки, которое сохраняется на протяжении всего периода гипоксии — даже на 6 и 8 ч гипоксии в опытных лунках с питательной средой и β4-тимозином сохранялось $22,9 \pm 2,7$ и $20,2 \pm 2,0$ клеток соответственно в 5 полях зрения (здесь и далее приведены $M \pm tm$, $n = 10$), в то время, как в контроле их количество продолжало прогрессивно снижаться до $1,9 \pm 1,2$ и $0,9 \pm 0,6$ клеток в эти периоды времени. Различия между контролем и средой с β4-тимозином носили достоверный характер ($p < 0,05$). В условиях гипоксии и «голодания» уже вначале эксперимента отмечено резкое снижение числа клеток — с $54,4 \pm 2,6$ до

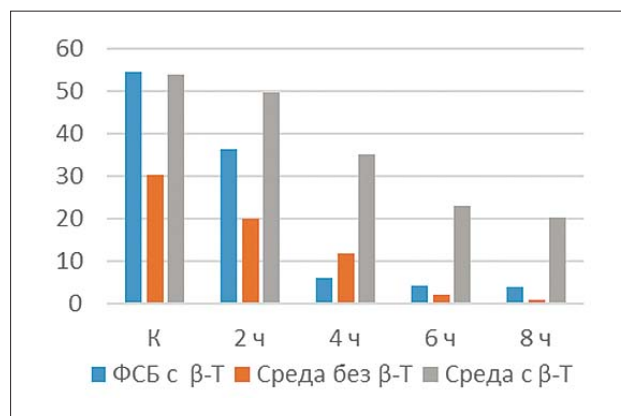


Рис. 1. Абсолютное число клеток в 5 полях зрения

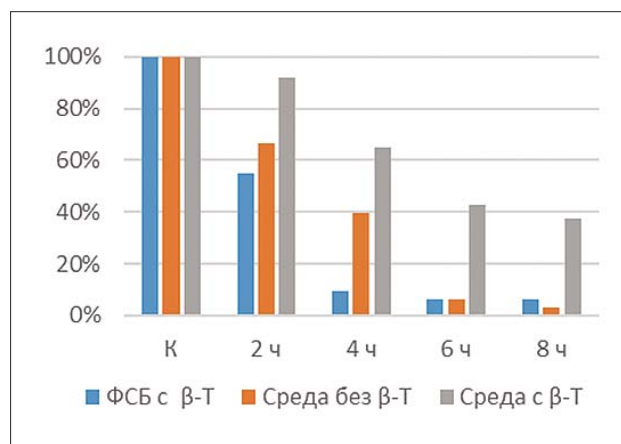


Рис. 2. Процентная динамика числа клеток в 5 полях зрения

$36,2 \pm 1,9$ через 2 ч и до $6,0 \pm 0,7$ клеток через 4 ч, превосходящее контрольные показатели, где количество клеток снижалось с меньшей скоростью — с $30,1 \pm 1,3$ до $20,0 \pm 1,0$ через 2 ч и до $11,8 \pm 1,0$ через 4 ч.

Динамика гибели клеток в лунках относительно их исходного числа отражена на рис. 2.

Исходя из представленных графиков, нельзя исключить некоторый протективный эффект β4-тимозина, проявляющийся при длительном пребывании клеток в условиях гипоксии и «голодания», т.к., несмотря на резкое снижение числа клеток в первые часы комбинированной ишемии, на поздних этапах исследования в лунках с ФСБ сохранилось больше клеток, чем в контроле ($4,1 \pm 0,9$ клетки через 6 ч и $3,9 \pm 0,6$ клеток через 8 ч против $1,9 \pm 1,2$ и $0,9 \pm 0,6$ клеток соответственно — в контроле).

Таблица 1

ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК (Flk-1⁺) В КУЛЬТУРЕ КОСТНОМЗГОВЫХ МСК

	Без β4-тимозина	С β4-тимозином
Всего клеток ($M \pm tm$)	$20,8 \pm 1,3$	$51,0 \pm 2,4^*$
Flk-1 ⁺ клеток ($M \pm tm$)	$10,5 \pm 1,1$	$42,2 \pm 2,1^*$
% Flk-1 ⁺ клеток	$50,6 \pm 4,7$	$82,8 \pm 2,2^*$

* — $p < 0,05$

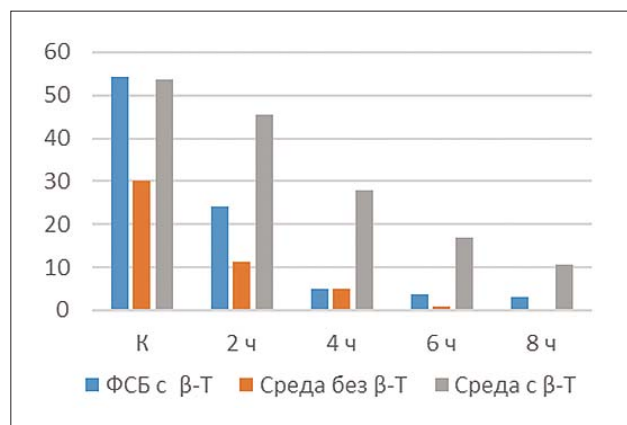


Рис. 3. Абсолютное число живых клеток в 5 полях зрения

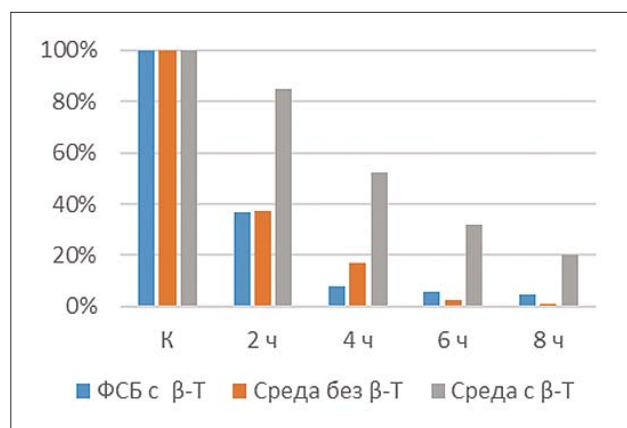


Рис. 4. Процентная динамика числа живых клеток в 5 полях зрения

Более выраженный протективный эффект β4-тимозина на выживаемость клеток в условиях гипоксии и сочетания гипоксии с «голоданием» виден на рисунках 3 и 4, где число и доля живых клеток в контроле значительно ниже, чем в опытных образцах.

По данным литературы известно, что β4-тимозин предотвращает апоптоз эндотелиальных прогениторных клеток в культуре [5]. Этой его способностью, по-видимому, и объясняется большая доля живых клеток в опытных образцах по сравнению с контролем. Но в исследовании обнаружено, что исходное количество клеток в лунках, где культивирование проводилось в течение 3-х суток в присутствии β4-тимозина, выше, чем в лунках без его присутствия (столбцы К на рис. 1). Насколько данный феномен обусловлен антиапоптогенным эффектом β4-тимозина и не обладает ли последний свойством стимулировать пролиферацию клеток, эксперимент ответа не дает, т.к. изучение данных механизмов не проводили. В литературе есть сведения как о стимулирующем, так и ингибирующем влиянии β4-тимозина на пролиферативную активность клеток через реализацию Wnt и инсулинового путей передачи сигналов [1].

ОБ АВТОРАХ

Национальный исследовательский университет «Белгородский государственный университет». Российская Федерация, 308005, Белгород, ул. Победы, 85.

Бурда Юрий Евгеньевич. Доцент кафедры фармакологии медицинского института, канд. мед. наук.

Надеждин Сергей Викторович. Руководитель ОПУ «Клеточные и вспомогательные репродуктивные технологии», канд. биол. наук, доц.

Следующим этапом эксперимента стало изучение эндотелиальной дифференцировки адгезирующей фракции костномозговых мононуклеаров, для чего был произведен подсчет числа клеток, экспрессирующих маркер эндотелиальных прогениторных клеток — ранних предшественников эндотелиоцитов — Flk-1 (VEGFR), представляющий собой рецептор сосудисто-эндотелиального фактора роста. Представленные в таблице 1 результаты показывают, что присутствие β4-тимозина не просто увеличивает общее число клеток, но и заметно повышает процент клеток, экспрессирующий указанный маркер эндотелиальных предшественников — $50,6 \pm 4,7\%$ Flk⁺ клеток в контроле и $82,8 \pm 2,2\%$ — при культивировании в течение 3-х суток с β4-тимозином.

Наряду с показанными другими исследователями кардиопротективными свойствами ингибиторов GSK-3β [6, 8], способность стимулировать дифференцировку МСК в эндотелиальном направлении делает еще более перспективным их изучение в плане профилактики и лечения ишемической болезни сердца и облитерирующих заболеваний артерий.

Таким образом, полученные в эксперименте данные согласуются с результатами других исследователей, занимающихся изучением биологической активности ингибиторов GSK-3 и, в частности, β-тимозина. Последний в дальнейшем может служить референс-агентом в сравнительных исследованиях. Поэтому предложенная экспериментальная клеточная модель может быть с успехом использована в предварительном тестировании новых химических соединений в плане их лекарственного потенциала при ишемических расстройствах без использования лабораторных животных на ранних этапах исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Осолодкин ДИ. Молекулярный дизайн потенциальных ингибиторов киназы гликогенинсинтазы 3: дис. ... канд. хим. наук. М.; 2011.
- Шаманская ТВ, Осипова ЕЮ, Румянцев СА. Ex vivo экспансия гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови (обзор литературы). Онкогематология 2012; (1): 35–44.
- Xu TJ, et al. A novel dimeric thymosin beta 4 with enhanced activities accelerates the rate of wound healing. Drug Design, Development and Therapy 2013; 7: 1075–88.
- Chang Z-T, et al. Application of peripheral-blood-derived endothelial progenitor cell for treating ischemia-reperfusion injury and infarction: a preclinical study in rat models. Journal of Cardiothoracic Surgery 2013; 8: 33–43.
- Yanbo Z, β4 activates integrin-linked kinase and decreases endothelial progenitor cells apoptosis under serum deprivation. Journal of Cellular Physiology 2011; 226: 2798–2806.
- Hinkel R, et al. Thymosin β4 Is an Essential Paracrine Factor of Embryonic Endothelial Progenitor Cell-Mediated Cardioprotection. Circulation 2008; 117: 2232–40.
- Nana Y. The characteristics of endothelial progenitor cells derived from mononuclear cells of rat bone marrow in different culture conditions. Cytotechnology 2011; 63: 217–26.
- Miura T, Nishihara M, Miki T. Drug Development Targeting the Glycogen Synthase Kinase-3β (GSK-3β)-Mediated Signal Transduction Pathway: Role of GSK-3β in Myocardial Protection Against Ischemia/Reperfusion Injury. J Pharmacol Sci. 2009; 109: 162–67.
- Marx U, Sandig V, eds. Drug Testing In Vitro. WILEY-VCH; 2007.

Зубарева Екатерина Владимировна. Научный сотрудник ОПУ «Клеточные и вспомогательные репродуктивные технологии», канд. биол. наук.
 Покровский Михаил Владимирович. Заведующий кафедрой фармакологии медицинского института, д-р мед. наук, проф.
 Ширина Мария Сергеевна. Студентка биолого-химического направления.

Курский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 305000, Курск, ул. К. Маркса, 3.
 Бурда Светлана Юрьевна. Студентка лечебного факультета.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Бурда Юрий Евгеньевич, burda@bsu.edu.ru

TEST-SYSTEM FOR THE ASSESSMENT OF GSK-3 INHIBITORS ACTIVITY AS ANTIHYPOXANTS AND ENDOTHELIAL DIFFERENTIATION STIMULATORS *IN VITRO*

Yu. E. Burda¹, S. V. Nadezhdin¹, E. V. Zubareva¹, M. V. Pokrovsky¹, S. Yu. Burda², M. S. Shirina¹

¹ Belgorod State National Research University, 308015, Belgorod, Russia

² Kursk State Medical University, 305031, Kursk, Russia

Abstract: The present article describes the stages of the development of the test-system that allows to research the potency of GSK-3 inhibitors to induce endothelial progenitor differentiation and to increase cell survival in hypoxia *in vitro*. β 4-thymosin, which shows anti-ischemic and angiogenic activity, has been used as a reference preparation. The proposed experimental cell model can be useful in the preliminary testing of new chemical compounds in terms of their ability to treat ischemic disorders and it can be used as an alternative for procedures involving animal testing.

Key words: Glycogen synthase kinase 3; GSK-3; β 4-thymosin; hypoxia; ischemia; endothelium.

For citation: Burda YuE, Nadezhdin SV, Zubareva EV, Pokrovsky MV, Burda SYu, Shirina MS. Test-system for the assessment of GSK-3 inhibitors activity as antihypoxants and endothelial differentiation stimulators *in vitro*. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 29–32.

REFERENCES

- Osolodkin DI. Molecular design of potential glycogen synthase kinase 3 inhibitors: Dr. Chem. Sci [dissertation]. Moscow; 2011 (in Russian).
- Shamanskaya TV, Osipova EYu, Rumyantsev SA. Ex vivo expansion of cord blood-derived hemopoietic stem cells (review). *Onkologematologiya* 2012; (1): 35–44 (in Russian).
- Xu TJ, et al. A novel dimeric thymosin β 4 with enhanced activities accelerates the rate of wound healing. *Drug Design, Development and Therapy* 2013; 7: 1075–88.
- Chang Z-T, et al. Application of peripheral-blood-derived endothelial progenitor cell for treating ischemia-reperfusion injury and infarction: a preclinical study in rat models. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2013; 8: 33–43.
- Yanbo Z, et al. Thymosin β 4 activates integrin-linked kinase and decreases endothelial progenitor cells apoptosis under serum deprivation. *Journal of Cellular Physiology* 2011; 226: 2798–2806.
- Hinkel R, et al. Thymosin β 4 Is an Essential Paracrine Factor of Embryonic Endothelial Progenitor Cell-Mediated Cardioprotection. *Circulation* 2008; 117: 2232–40.
- Nana Y. The characteristics of endothelial progenitor cells derived from mononuclear cells of rat bone marrow in different culture conditions. *Cytotechnology* 2011; 63: 217–26.
- Miura T, Nishihara M, Miki T. Drug Development Targeting the Glycogen Synthase Kinase-3 β (GSK-3 β)-Mediated Signal Transduction Pathway: Role of GSK-3 β in Myocardial Protection Against Ischemia/Reperfusion Injury. *J Pharmacol Sci.* 2009; 109: 162–67.
- Marx U, Sandig V, eds. *Drug Testing In Vitro*. WILEY-VCH; 2007.

AUTHORS

Belgorod State National Research University, Pobedy street, 85, Belgorod, 308015, Russian Federation.

Burda YuE. Associate professor of the Pharmacology Department. Candidate of Medical Sciences.

Nadezhdin SV. Head of the Experimental-Industrial Department «Cellular and Assisted Reproductive Technologies». Candidate of Biological Sciences.

Zubareva EV. Experimental-Industrial Department «Cellular and Assisted Reproductive Technologies», Scientific associate. Candidate of Biological Sciences.

Pokrovsky MV. Head of the Pharmacology Department. Doctor of Medical Sciences, professor.

Shirina MS. Student.

Kursk State Medical University, K. Marx street, 3, Kursk, 305000, Russian Federation.

Burda Svetlana. Student.

Отбор проб в современном фармацевтическом анализе

Т. Н. Боковой, Е. П. Герникова, Е. И. Саканян, Н. Д. Бунятян,
Л. И. Шишова, Л. А. Стронова, С. А. Манаева

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

Статья поступила 14.01.2016 г. Принята к печати 09.02.2016 г.

Резюме: Процедура отбора проб является составной частью системы контроля качества лекарственных средств. Объективный научно-обоснованный отбор проб — важная операция, при которой берется только малая часть материалов, предназначенных для анализа всей серии продукции. Обоснованные выводы о качестве ЛС могут быть сделаны только на основе испытаний, проведенных на репрезентативных образцах, которые отбираются с соблюдением определенных правил и положений. С целью гармонизации с зарубежными нормативными документами, систематизации и актуализации предъявляемых требований к отбору проб, конкретизации их условий, была разработана общая фармакопейная статья «Отбор проб», которая регламентирует общие правила и особенности процедуры отбора проб лекарственных средств для контроля их качества. В общей фармакопейной статье объединены и систематизированы материалы законодательных и нормативных документов Российской Федерации, Всемирной организации здравоохранения, Европейского Союза, а также монографии зарубежных фармакопей.

Ключевые слова: отбор проб; контроль качества лекарственных средств; общая фармакопейная статья.

Библиографическое описание: Боковой ТН, Герникова ЕП, Саканян ЕИ, Бунятян НД, Шишова ЛИ, Стронова ЛА, Манаева СА. Отбор проб в современном фармацевтическом анализе. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 33–36.

Обеспечение качества лекарственных средств (ЛС) — важная и сложная социально значимая проблема, которая в большинстве стран мира находится под непосредственным контролем государства.

Процедура отбора проб является составной частью системы контроля качества ЛС. Объективный научно-обоснованный отбор проб — важная операция, при которой берется только малая часть материалов, предназначенных для анализа всей серии продукции.

Национальным государственным стандартом РФ, устанавливающим единые требования к правилам отбора проб лекарственных средств (ЛС) до последнего времени являлась статья ГФ XI изд. «Отбор проб (выборок) лекарственных средств» [1]. За более чем 20 лет, прошедших после введения в действие этой статьи, система контроля качества лекарственных средств в РФ развивалась, совершенствовалась, ее требования гармонизировались с международными. На фармацевтическом рынке появилось много новых лекарственных форм (ЛФ): имплантаты, таблетки для имплантации, пластыри и т.д., препараты, выпускаемые партиями малого объема (например, орфанные препараты), ЛС высокой стоимости, ЛФ в нестандартной упаковке (флакон в комплекте с иглой, снабженной фильтром для извлечения препарата из флакона), фасовка препарата слишком малого объема (0,165 мл, 0,23 мл, 0,5 мл), к которым предъявляются нестандартные требования по осуществлению контроля качества, в том числе и по отбору средней пробы.

Законодательными органами Министерства здравоохранения Российской Федерации постоянно вносятся изменения в правила осуществления государственного контроля качества ЛС, в т.ч. в отношении порядка отбора их образцов.

В этой связи с целью гармонизации с зарубежными НД, систематизации и актуализации предъявляемых требований к отбору проб, конкретизации их условий, была разработана Общая фармакопейная статья (ОФС) «Отбор проб», которая регламентирует общие правила и особенности процедуры отбора проб ЛС для контроля их качества.

В ОФС объединены и систематизированы материалы законодательных и нормативных документов РФ, ВОЗ, ЕС, а также монографии зарубежных фармакопей.

Ведущие зарубежные фармакопеи (Европейская, США, Международная, Британская) не имеют монографий по правилам отбора проб лекарственных средств. В эти фармакопеи включены ОФС только по отбору лекарственного растительного сырья [2–5]. В отдельных монографиях на методы анализа (определение стерильности, определение механических включений в парентеральных растворах) или на лекарственные формы имеются указания о необходимости статистически обоснованных планов отбора образцов для оценки качества анализируемых препаратов. В USP несколько шире представлены статистические способы формирования выборки (статья «Аналитические данные — интерпретация и обработка», описаны статистические планы отбора проб для нерасфасованных порошков, вспомогательных веществ), а в монографиях затрагиваются отдельные аспекты процедуры отбора проб ряда лекарственных форм — аэрозолей, спреев, медицинских газов и др.

В фармакопею Республики Беларусь включена статья «Отбор проб», которая содержит все положения ОФС ГФ СССР XI изд. и дополнена указаниями объектов отбора проб, требованиями к процедуре отбора, к оборудованию для отбора проб, к персоналу [6]. Кроме того, важные положения по данной теме содержат нормативно-правовые документы РФ [7–11].

Изучение имеющегося международного опыта по данному вопросу показало, что наибольший объем информации по данной теме содержит Руководство ВОЗ, предназначенное как для органов надзора, таможенных и полицейских служб, лабораторий контроля качества, так и для производителей, розничных и оптовых звеньев обращения ЛС. В соответствии с положениями Руководства ВОЗ объектами для проведения испытаний могут быть не только непосредственно ЛС (готовые фармацевтические продукты до и после упаковки или расфасованные «ангро»), но и исходное сырье, активные субстанции, вспомогательные вещества; промежуточные продукты, образующиеся в процессе производства (например, гранулы); материалы первичной упаковки и укупорки; материалы вторичной упаковки (в т.ч. печатные материалы для маркировки, листки-вкладыши); материалы для комплектации потребительских упаковок (устройства для дозирования или введения лекарственного средства); вспомогательные материалы, используемые в процессе производства (например, дезинфицирующие средства, материалы для очистки, технологические газы, сжатый воздух и пр.), т.е. могут быть различные группы фармацевтических продуктов и связанные с ними материалы [13].

В монографиях зарубежных фармакопей [2–6] Руководстве ВОЗ [13], и некоторых отечественных документах [10] значительное место уделено выбору надлежащего статистически обоснованного плана отбора проб, при формировании которого необходимо принимать во внимание конкретные цели отбора проб; физико-химические, биологические и др. свойства исследуемой продукции, обращая внимание на ее однородность, стабильность, количество отбираемого образца, риски и последствия, связанные с ошибочными решениями по выбору плана отбора.

Относительно целей — в международной практике отбор проб осуществляется: для преквалификации; для инспекций при таможенной очистке; для выявления подделок или фальсификации [13].

В РФ законодательными и нормативными документами определены, например, такие цели отбора проб:

— *на федеральном уровне:* экспертиза качества ЛС при осуществлении государственной регистрации ЛС [7]; проверка качества, проведение исследований образцов при осуществлении государственного контроля (надзора) в сфере обращения ЛС [7, 9]; проведение испытаний ЛС, зарегистрированных в установленном порядке и внесенных в Государственный Реестр [8];

— *отбор проб при производстве ЛС* (продукции и материалов): предварительный (приемочный, входной контроль); контроль в процессе производства (контроль промежуточной продукции); контроль качества сырья и материалов; контроль качества выпущенной серии (партии); контроль образцов (поточный, архивных и контрольных образцов); контроль (мониторинг) состояния производства; квалификационные и валидационные испытания [10];

— *отбор проб для проведения тестов в отношении конкретного образца:* испытания, применимые к выборке, могут включать проверку подлинности; выполнение полных аналитических испытаний (в соответствии со спецификациями по всем показателям); выполнение специальных или индивидуальных (отдельных) тестов.

Для характеристики вновь введенных терминов в ОФС введен самостоятельный раздел «Основные

термины и определения», в котором приведены определения терминов на основании законодательных документов РФ, стандартов по упаковке и другим источникам, дающим наиболее точную характеристику определяемому объекту [7, 10, 11].

В ОФС внесено требование о том, что отбор проб ЛС должен проводиться в соответствии с утвержденной процедурой отбора проб, если иное не указано в частных фармакопейных статьях или другой НД.

Процедура отбора проб включает: план или схему отбора проб; объем и тип отбора проб; место и время; извлечение и подготовку проб для испытания; специальные меры предосторожности, особенно в отношении стерильных и опасных ЛС и материалов; перечень используемого оборудования; требования по очистке и хранению оборудования; тип, характеристику и маркировку тары для хранения проб для испытаний; параметры окружающей среды при отборе и подготовке проб для испытаний.

Уточнено и дополнено, с учетом ранее регламентированных, требование о наружном осмотре упаковочной тары для последующего принятия решения. Предварительно приведены термины «упаковка», «тара» и их дефиниции в соответствии с нормативными и законодательными документами РФ [3, 4, 7].

В статье ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» приведена формула расчета количества отбираемых единиц при многоступенчатом методе отбора проб ЛС. С целью гармонизации требований с международными, в ОФС отмечено, что указанная формула относится к однородной продукции, и предложены формулы расчета количества отбираемых единиц для других видов продукции, обозначены факторы, учитываемые при формировании плана отбора проб. Поскольку метод случайного отбора является наиболее широко используемым при выборочном контроле, предложена методика его практического выполнения [3, 7].

Анализируемые отечественные и зарубежные источники содержат значительный объем требований по соблюдению санитарно-гигиенического и безопасного режима работы при отборе проб, которые включены в ОФС, а также описаны предупредительные мероприятия, на выполнение которых необходимо обратить внимание перед отбором проб (подготовка помещения, оборудования, персонала, документации).

Особенности отбора проб нерасфасованной продукции отражены в самостоятельном разделе, в котором этапы отбора проб приведены более полно и последовательно в соответствии с рекомендациями зарубежных документов [4, 13]. Подробно изложены требования к пробоотборникам и другому оборудованию, используемому при отборе проб.

Введены требования к персоналу. Персонал, выполняющий отбор проб, должен иметь соответствующую подготовку, строго соблюдать инструкции, регламентирующие состояние здоровья и требования личной гигиены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обоснованные выводы о качестве ЛС могут быть сделаны только на основе испытаний, проведенных на репрезентативных образцах, которые отбираются с соблюдением определенных правил и положений. Уточненные требования к процедуре отбора проб гармонизированы с мировыми стандартами и включены в разработанную ОФС «Отбор проб», которая

включена в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII изд.

ЛИТЕРАТУРА

1. ОФС «Отбор проб (выборок) лекарственных средств». ГФ СССР. 11-е изд. Вып. 2. 1990.
2. The International Pharmacopoeia. 4th edition.
3. United States Pharmacopoeia. 35th edition (USP 35-NF30).
4. European Pharmacopoeia. 8th edition.
5. British Pharmacopoeia.
6. ОФС «Отбор проб». Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 1. Минск: Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; 2006.
7. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
8. Постановление Правительства РФ № 982 от 01.12.2009 «Об утверждении единого перечня продукции, подлежащей обязательной сертификации и единого перечня продукции, под-
- тверждение соответствия которой осуществляется в форме принятия декларации о соответствии».
9. Постановление Правительства РФ № 1043 от 15.10.2012 «Об утверждении положения о федеральном государственном надзоре в сфере обращения лекарственных средств».
10. Национальный стандарт РФ «Правила производства и контроля качества лекарственных средств». ГОСТ Р 52249–2009.
11. ГОСТ Р 52537–2006. Производство лекарственных средств. Система обеспечения качества. Общие требования.
12. Правила, регулирующие лекарственные средства в Европейском Союзе. Т. 4. Правила ЕС по надлежащей производственной практике лекарственных средств для человека и применения в ветеринарии (GMP Европейского Союза) «Good manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use».
13. Руководство ВОЗ по отбору проб фармацевтических продуктов и связанных с ними материалов. WHO guidelines for sampling of pharmaceutical products and related materials. Annex 4. WHO Technical Report Series. № 929.2005.

ОБ АВТОРАХ

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

Боковикова Татьяна Николаевна. Начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества ЛС, д-р фарм. наук.

Герникова Евгения Петровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.

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

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

Шишова Лидия Ивановна. Старший научный сотрудник Центра фармакопеи и международного сотрудничества.

Стронова Лариса Александровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.

Манаева Светлана Алексеевна. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Боковикова Татьяна Николаевна; bokovikova@expmed.ru

SAMPLING IN MODERN PHARMACEUTICAL ANALYSIS

**T. N. Bokovikova, E. P. Gernikova, E. I. Sakanyan, N. D. Bunyatyan,
L. I. Shishova, L. A. Stronova, S. A. Manaeva**

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: Sampling procedure is an integral part of the drug quality control system. Objective science-based sampling is an important operation when only a small amount of a material is taken and it is representative for the analysis of the whole product batch. Reasoned conclusions about drug quality can only be based on the results of tests conducted on representative samples, taken in accordance with certain rules and regulations. For the purpose of harmonization with foreign normative documents, systematization and updating of the requirements for sampling, specifying their conditions, general pharmacopoeia monograph «Sampling» has been developed. It regulates general rules and special aspects of drug sampling procedures for the purpose of drug quality control. The general pharmacopoeia monograph «Sampling» consolidates and classifies the materials of legislative and regulatory documents of the Russian Federation, the WHO, the EU and international pharmacopoeia monographs.

Key words: sampling; drug quality control; general pharmacopoeia monograph.

For citation: Bokovikova TN, Gerchikova EP, Sakanyan EI, Bunyatyan ND Shishova LI, Stronova LA, Manaeva CA. Sampling in modern pharmaceutical analysis. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 33–36.

REFERENCES

1. General Monograph «Sampling of medicines». The State Pharmacopoeia of the USSR. 11th ed. Issue 2. 1990 (in Russian).
2. The International Pharmacopoeia. 4th edition.
3. United States Pharmacopoeia. 35th edition (USP 35-NF30).

4. European Pharmacopoeia. 8th edition.
5. British Pharmacopoeia.
6. General Monograph «Sampling». The State Pharmacopoeia of Republic of Belarus. V. 1. Minsk: Tsentr ekspertiz i ispytaniy v zdoravoozhraeni; 2006 (in Russian).
7. Federal Law of the Russian Federation № 61-FZ, 12.04.2010 «On Circulation of Medicines» (in Russian).
8. Resolution of the Government of the Russian Federation № 982, 01.12.2009 «On the approval of a single list of products subject to mandatory certification, and a single list of products, conformity assessment which takes the form of acceptance of the declaration of conformity» (in Russian).
9. Resolution of the Government of the Russian Federation № 1043, 15.10.2012 «On Approval of the federal state supervision in the field of medicines» (in Russian).
10. National Standard of the Russian Federation «Rules of production and quality control of medicines». GOST R 52249–2009 (in Russian).
11. State Standard R 52537–2006. Production of medicines. The quality assurance system. General requirements (in Russian).
12. The rules governing medicinal products in the European Union. T4. EU rules on good manufacturing practice for medicinal products for human and veterinary use (GMP EU) «Good manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use».
13. WHO guidelines for sampling of pharmaceutical products and related materials. Annex 4. WHO Technical Report Series. № 929.2005.

AUTHORS

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

Bokovikova TN. Head of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Gernikova EP. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

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

Bunyatyán ND. Deputy Director General for Scientific work. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

Shishova LI. Senior researcher of Center for pharmacopoeia and international cooperation.

Stronova LA. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Manaeva SA. Leading expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Определение видимых механических включений в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах

Ю. В. Олефир, Т. Н. Боковикова, Л. А. Стронова, Е. П. Герникова,
Л. И. Митькина, С. А. Манаева, Ю. Б. Пурим, А. В. Пичугин

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

Статья поступила 14.01.2016 г. Принята к печати 10.02.2016 г.

Резюме: Описаны подходы к выбору методик оценки содержания видимых механических включений в парентеральных и глазных лекарственных формах, принятые в общей фармакопейной статье «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах», а также особый подход к оценке видимых механических включений в отдельных лекарственных препаратах в зависимости от объема серии, вида упаковки, объема препарата в упаковке, природы лекарственного средства и др., требующих нестандартных условий и критериев оценки.

Ключевые слова: парентеральные лекарственные средства; глазные лекарственные формы; видимые механические включения; общая фармакопейная статья; руководство; нестандартные условия определения и критерии оценки.

Библиографическое описание: Олефир ЮВ, Боковикова ТН, Стронова ЛА, Герникова ЕП, Митькина ЛИ, Манаева СА, Пурим ЮБ, Пичугин АВ. Определение видимых механических включений в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 37–40.

Парентеральные и глазные лекарственные формы (ЛФ) занимают большой сегмент фармацевтического рынка. Учитывая пути введения данных лекарственных средств (ЛС), важным показателем качества для них являются «Механические включения», так как механические частицы могут вызывать патологические изменения в структуре тканей внутренних органов, степень тяжести которых зависит от природы, формы и размера частиц, а также места их локализации [1, 2].

Все ЛФ для парентерального применения, а также глазные ЛФ (стерильные жидкие, мягкие или твердые лекарственные формы, предназначенные для местного применения на глазном яблоке и/или конъюнктиве, инъекционного и имплантационного введения в ткани глаза) подвергаются оценке содержания видимых механических включений (ВМВ) размером 50 мкм и более, наличие которых оценивается визуально, в парентеральных ЛФ дополнительно проводят определение невидимых механических включений — включения «довидимого» диапазона размером менее 50 мкм.

Методики проведения испытания и критерии оценки содержания ВМВ приведены в общей фармакопейной статье (ОФС) «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах» [3], в которой были объединены и систематизированы материалы РД 42-501–98 «Инструкция по контролю на механические включения инъекционных лекарственных средств» и Изменения № 1 от 02.02.2000 к РД 42-501–98, а также РДИ 42-504–00 «Инструкция по контролю на механические включения глазных капель».

Качество лекарственных препаратов (ЛП) для парентерального применения и глазных ЛФ по показателю «Механические включения» регламентируют статьи Государственной фармакопеи Республики Бе-

ларусь [4] (ГФРБ, 2.9.19; 2.9.20; 2.9.21), Государственной фармакопеи Республики Казахстан [5] (ГФРК 2.9.19; 2.9.20; 2.9.21), Европейской фармакопеи [6] (ЕФ, 2.9.19; 2.9.20), Фармакопеи США [7] (USP), Японской фармакопеи [8] (ЯФ) и т.д.

Однако, в зарубежных фармакопеях [4, 5, 6, 7, 8, 9], как правило, недостаточно информации для проведения испытаний на механические включения видимого диапазона: методика определения ВМВ описана кратко (описаны только прибор и условия просмотра), а требование к содержанию описано как «должен быть практически свободным от видимых механических включений» без расшифровки «практически свободный».

В статье <790> «Видимые частицы в растворах для инъекций» USP [7] фраза «практически свободный» означает, что не более чем определенное количество единиц продукции может содержать ВМВ; при этом не указывается необходимое количество единиц ЛС. В Приложении XIII Британской фармакопеи «SC I N. Particulate Contamination» [10] указано, что для малого объема ЛП испытанию на ВМВ подвергаются 20 емкостей (препарат не выдерживает испытание, если более чем в одной емкости обнаружены одна или более частиц).

Данный критерий оценки (в расчете на 80 единиц продукции допускается 4 единицы с механическими включениями) не согласуется с требованиями ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах» [3], в которой допускается только 2 емкости из 80 просмотренных, имеющие ВМВ.

В рабочем документе ВОЗ QAS/11.405 [11], содержащем план-предложение по пересмотру статьи 5.7. «Тест на механические включения» Международной фармакопеи [12], указано, что при проведении теста на ВМВ в индивидуальной монографии необхо-

димо указывать типы препаратов, для которых должен выполняться этот тест (испытание проводят на 20 контейнерах, препарат не выдерживает испытание, если одна или более частиц обнаружены более чем в одном контейнере; при проведении теста на восстановленном из порошка растворе для инъекций тест не выдерживается, если частицы обнаружены более чем в двух контейнерах).

В общей статье «Visible particulates in injections» (790) в разделе «Product in Distribution» USP [7] указано, что в случае наличия жалоб потребителей или сомнений регуляторных органов контролю подвергаются 20 образцов, в которых видимые частицы должны отсутствовать.

На вебинарах USP, посвященных пересмотру статьи «Injections» [7] были сделаны следующие предложения для продукта при дистрибуции:

- инспектируют 60 единиц (не более чем 1 единица может содержать ВМВ);
- при просмотре 20 единиц требование «практическое отсутствие» означает, что частицы отсутствуют (данный тест допустим в случае 100% текущего производственного контроля и при удовлетворительном отборе проб); если один контейнер содержит частицы, то подвергают контролю дополнительно 80 единиц продукции (в этом случае требование «Практическое отсутствие» означает, что ни один дополнительный контейнер не должен содержать ВМВ);
- для лиофилизированных продуктов предлагается следующая формулировка требований: «в 10 единицах не должно быть частиц».

В особых случаях, когда оценку содержания механических включений необходимо проводить в ЛС, имеющих, например, белковую природу (могут содержать частицы или агломераты), метод оценки и требования для ВМВ должны быть указаны в индивидуальной монографии или в одобренной (утвержденной) регуляторным органом нормативной документации ((790) USP «Видимые частицы в растворах для инъекций») [7].

Кроме того, оценка содержания ВМВ в ЛП для парентерального применения, а также глазных ЛФ, в ряде случаев может быть затруднена небольшим объемом фасовки или нестандартной упаковкой (0,165 мл или 0,5 мл в шприце или шприц-тюбике, тюбик-капельнице), малыми объемами партий (например, орфанные препараты), высокой стоимостью препаратов.

В данных случаях требуется особый подход к выбору критериев оценки и условий проведения испытаний.

Основанием для принятия решения об объеме выборки, методике и оценке результатов испытания ЛП могут быть следующие положения:

- способ введения пациенту (подкожное, внутримышечное, внутривенное; концентрат для приготовления раствора для инфузий, внутриглазные);
- вид упаковки: стеклянный одноразовый шприц, шприц-тюбик, флакон (флакон в комплекте с иглой, снабженный фильтром для извлечения препарата из флакона);
- объем препарата в упаковке (0,165 мл, 0,23 мл, 0,5 мл, 0,9 мл, 1 мл);
- объем серии (произведено для отечественных и ввезено для зарубежных препаратов);

- валидация процесса производства; валидационные материалы, подтверждающие адекватность и воспроизводимость методики определения;
- цена одной упаковки;
- природа лекарственного препарата.

Для таких групп препаратов выборка может быть уменьшена, что должно быть указано в соответствующей нормативной документации, или показатель «Видимые механические включения» может отсутствовать при обязательном нормировании невидимых механических включений; могут быть использованы другие валидированные методы, адекватность которых должна быть подтверждена материалами исследований.

ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах» предусматривает единый принципиальный подход к выбору методики оценки содержания ВМВ в парентеральных и глазных ЛФ, учитывающий индивидуальные особенности ЛФ и упаковки; в настоящее время ФГБУ НЦЭСМП разработан проект Изменения к данной ОФС, дополненный особым подходом к оценке ВМВ в отдельных ЛП, требующих нестандартных условий и критериев оценки содержания ВМВ, на основании которых подготовлено «Руководство по определению видимых механических включений в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах» (Руководство).

В Руководстве более подробно описаны условия и методики проведения испытаний, приведены критерии оценки содержания ВМВ в парентеральных и в указанных ниже глазных ЛФ:

- конкретизированы условия определения ВМВ в твердых глазных ЛФ (порошки) в емкостях из стекла или прозрачных полимерных материалов;
- приведена подробная методика оценки содержания ВМВ в жидких глазных ЛФ, расфасованных в емкости из непрозрачных материалов;
- сформулированы рекомендации по оценке содержания ВМВ в парентеральных ЛФ и твердых глазных ЛФ (порошки), расфасованных в емкости из непрозрачных полимерных материалов;

В Руководстве определен подход к проведению анализа некоторых препаратов для парентерального применения, требующих нестандартных условий определения и критериев оценки при контроле по показателю «Видимые механические включения», а также (для отдельных случаев) предусмотрен особый подход при решении вопроса о включении показателя «Видимые механические включения» в НД, при обязательном нормировании невидимых механических включений.

Таким образом, в отечественной нормативной документации по визуальной оценке жидких и твердых парентеральных ЛФ, глазных ЛФ (капель глазных, примочек глазных, порошков для приготовления капель глазных и других) на наличие ВМВ предусмотрено описание методики определения ВМВ, критериев оценки и рекомендаций для особых случаев.

Требования данной статьи не распространяются на суспензии и эмульсии для парентерального применения, гели для инъекций, имплантаты, ЛП с высокой вязкостью.

Количество отбираемых образцов от каждой серии парентерального препарата зависит от его агрегатного состояния (жидкое или твердое), объема (малый или большой), объема серии, а также от метода испытаний (разрушающий или неразрушающий).

Для препаратов, требующих нестандартных условий проведения испытания и критериев оценки, методика проведения испытания и нормативные требования должны быть обоснованы. В настоящее время для таких групп ЛП не разработаны единые требования к их качеству и методикам проведения испытания, так как это непосредственно связано с природой препарата, способом введения, объемом серии, видом упаковки, объемом препарата в упаковке, ценой одной упаковки и должно быть изложено в соответствующей нормативной документации, принимая во внимание условия производства и валидацию процесса производства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Braun B. Melsungen AG Hospital Care. Particulate Contamination Risk Prevention in Infusion Therapy. Sharing expertise. Available from: <http://www.safeinfusiontherapy.com/>.

2. Grunewald M. Pflege von Patienten mit Erkrankungen des Herz-Kreislauf- und Gefäßsystems. In: Kellnhauser E, Schewior-Popp, et al. Thiemes Pflege. Stuttgart, New York; 2004. P. 316–17.
3. ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».
4. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 1-е изд. Т. 1. Минск: Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; 2006.
5. Государственная фармакопея Республики Казахстан. 1-е изд. Т. 1. Алматы: Жибек жолы; 2008.
6. European Pharmacopoeia. 8th edition. European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). Available from: <http://online.edqm.eu/entry.htm>.
7. United States Pharmacopoeia. 35th ed. United States Pharmacopoeial Convention. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf/login>.
8. The Japanese Pharmacopoeia. 16th ed. Pharmaceuticals and medical devices agency. Available from: <http://www.pmda.go.jp/english/>.
9. British Pharmacopoeia. British Pharmacopoeia Commission. Available from: <http://www.pharmacopoeia.co.uk/>.
10. Приложение XIII к Британской фармакопее «SC I N. Particulate Contamination».
11. Рабочий документ B03 QAS/11.405.
12. The International Pharmacopoeia. 4th ed. World Health Organization. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/about/>.

ОБ АВТОРАХ

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

Олефир Юрий Витальевич. Генеральный директор, д-р мед. наук.

Боковикова Татьяна Николаевна. Начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества ЛС, д-р фарм. наук.

Стронова Лариса Александровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.

Герникова Евгения Петровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.

Миткина Лидия Ивановна. Начальник управления экспертизы № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р фарм. наук.

Манаева Светлана Алексеевна. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества ЛС, канд. фарм. наук.

Пурим Юлия Борисовна. Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1

Испытательного центра экспертизы качества ЛС.

Пичугин Алексей Викторович. Эксперт 1-й категории управления экспертизы № 3

Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Боковикова Татьяна Николаевна; Bokovikova@expmed.ru

DETERMINATION OF VISIBLE PARTICLES IN PARENTERAL DOSAGE FORMS AND OPHTHALMIC DOSAGE FORMS

Yu. V. Olefir, T. N. Bokovikova, L. A. Stronova, E. P. Gernikova, L. I. Mitkina, S. A. Manaeva, Yu. B. Purim, A. V. Pichugin

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 present article describes the approaches to the choice of methods for assessing the content of visible particles in parenteral and ophthalmic dosage forms, recognized in general pharmacopoeia monograph «Visible particles in parenteral dosage forms and ophthalmic dosage forms», as well as a special approach to the assessment of visible particles in individual preparations according to the batch volume, package type, the amount of drug in a package, drug nature etc., requiring unusual conditions and evaluation criteria.

Key words: parenteral dosage forms; ophthalmic dosage forms; visible particle; general pharmacopoeia monograph; guidance; unusual conditions and evaluation criteria.

For citation: Olefir YuV, Bokovikova TN, Stronova LA, Gernikova EP, Mitkina LI, Manaeva SA, Purim YuB, Pichugin AV. Determination of visible particles in parenteral dosage forms and ophthalmic dosage forms. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 37–40.

REFERENCES

1. Braun B. Melsungen AG Hospital Care. Particulate Contamination Risk Prevention in Infusion Therapy. Sharing expertise. Available from: <http://www.safeinfusiontherapy.com/>.
2. Grunewald M. Pflege von Patienten mit Erkrankungen des Herz-Kreislauf- und Gefäßsystems. In: Kellnhauser E, Schewior-Popp, et al. Thiemes Pflege. Stuttgart, New York; 2004. P. 316–17.
3. General pharmacopoeial article «Visible mechanical inclusion in the formulations for parenteral and ophthalmic dosage forms» (in Russian).
4. The State Pharmacopoeia of Republic of Belarus. 1st ed. V. 1. Minsk: Tsentr ekspertiz i ispytaniy v zdoravoohraneni; 2006 (in Russian).
5. The State Pharmacopoeia of Republic of Kazakhstan. 1st ed. V. 1. Almaty: Zhibek Zholy; 2008 (in Russian).
6. European Pharmacopoeia. 8th edition. European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). Available from: <http://online.edqm.eu/entry.htm>.
7. United States Pharmacopoeia. 35th ed. United States Pharmacopoeial Convention. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf/login>.
8. The Japanese Pharmacopoeia. 16th ed. Pharmaceuticals and medical devices agency. Available from: <http://www.pmda.go.jp/english/>.
9. British Pharmacopoeia. British Pharmacopoeia Commission. Available from: <http://www.pharmacopoeia.co.uk/>.
10. Annex III to the British Pharmacopoeia «SC 1 N. Particulate Contamination».
11. Working document WHO QAS/11.405.
12. The International Pharmacopoeia. 4th ed. World Health Organization. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/about/>.

AUTHORS

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

Olefir YuV. Director General. Doctor of Medical Sciences.

Boikovikova TN. Head of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Stronova LA. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Gernikova EP. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Mitkina LI. Head of expertise office № 2 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

Manaeva SA. Leading expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Purim YuB. Leading expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center of Quality Expertise of Medicines.

Pichugin AV. 1st category expert of expertise office № 2 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products.

Научные основы разработки и стандартизации лекарственных растительных средств

И. А. Самылина¹, В. А. Куркин², Г. П. Яковлев³

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 443099, Самара, Россия

³ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург, Россия

Статья поступила 11.01.2016 г. Принята к печати 11.02.2016 г.

Резюме: В настоящей работе в концептуальном плане рассматриваются научные подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. Обосновано, что химическая классификация лекарственного растительного сырья имеет фундаментальное значение для фармакогнозии и фармации в целом. Показано, что химическая природа биологически активных соединений должна рассматриваться как методологическая основа в плане разработки новых подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. В работе обсуждаются также зависимости физических, физико-химических, спектральных и фармакологических свойств от химической природы биологически активных соединений, используемых в качестве критерия подлинности и качества сырья и фитопрепаратов. В работе обсуждаются современные тенденции развития фармакогнозии, нашедшие отражение в Государственной фармакопее Российской Федерации XIII издания.

Ключевые слова: фармация; Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания; фармакогнозия; лекарственные растения; лекарственное растительное сырье; биологически активные соединения; фитопрепараты; стандартизация.

Библиографическое описание: Самылина ИА, Куркин ВА, Яковлев ГП. Научные основы разработки и стандартизации лекарственных растительных средств. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 41–44.

ВВЕДЕНИЕ

Фармакогнозия как наука и учебная дисциплина, предметом которой является лекарственное сырье растительного и животного происхождения, является одной из важнейших составляющих, формирующих модель специалиста фармацевтического профиля (провизор, фармацевт) [1–6]. В области фармакогнозии за последние 15–20 лет получены новые данные в плане изучения химического состава лекарственных растений, причем этому способствовало то обстоятельство, что данная наука обогатилась современными спектральными и физико-химическими методами [1–3]. Так, использование ¹H- и ¹³C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии позволило исследователям изучить химическое строение целого ряда биологически активных соединений (БАС), а также открыть новые группы природных соединений (флаволигнаны и др.). Внедрение методов цифровой микроскопии, тонкослойной хроматографии (ТСХ), газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) открыло новые возможности для целей стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, что нашло отражение в вышедшей в свет Государственной фармакопее Российской Федерации XIII издания [7]. В этой связи, не случайно, что среди современных тенденций развития фармакогнозии заметное место занимают исследования, посвященные изучению химического состава

ва ЛРС, совершенствованию химической классификации сырья и методов стандартизации, а также выявлению новых диагностических микроскопических признаков с использованием цифровой микроскопии [4–6].

Цель исследования — научное обоснование новых подходов к стандартизации фармакопейных видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования служили фармакопейные растения, лекарственное растительное сырье, лекарственные растительные препараты, биологически активные соединения (витамины, полисахариды, жирные масла, эфирные масла, иридоиды, монотерпеновые гликозиды, сердечные гликозиды, сапонины, простые фенолы, фенилпропаноиды, флавоноиды, кумарины, ксантоны, хромоны, антрагликозиды, дубильные вещества, алкалоиды), выделенные из ЛРС.

В работе использованы цифровая микроскопия, качественные пробирочные реакции на биологически активные соединения с различными реактивами, тонкослойная хроматография, колоночная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, газо-жидкостная хроматография, спектро-

фотометрия, ^1H -ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, различные химические превращения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На наш взгляд, вышедшая в свет Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания наглядно иллюстрирует актуальность и значимость фармакогнозии как науки и учебной дисциплины. В этом контексте важно подчеркнуть, что в рамках Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания впервые введены в действие такие общие фармакопейные статьи (ОФС), как лекарственное растительное сырье, почки, перекисное число, определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах, определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах, определение коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья. Кроме того, с точки зрения стандартизации ЛРС важное значение имеют также такие новые ОФС, как валидация аналитических методик, электрофорез в полиакриламидном геле, капиллярный электрофорез, масс-спектрометрия, спектрометрия в ближней инфракрасной области. Принимая во внимание то обстоятельство, что появились новые требования (микробиологическая чистота, содержание радионуклидов, тяжелых металлов и остаточных пестицидов) к ЛРС, актуальной является ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Важно подчеркнуть, что впервые в отечественной Государственной фармакопее диагностические микроскопические признаки (раздел «Микроскопические признаки») визуализируются иллюстрациями, полученными с использованием цифровой микроскопии (в Европейской фармакопее приведены лишь схематические изображения микроскопических признаков). При этом важно подчеркнуть, что результаты микроскопических исследований в сочетании с данными фитохимического анализа ЛРС позволяют на качественно новом уровне определять локализацию и природу действующих веществ, имеющих диагностическое значение. Всё это придает особую значимость ОФС «Техника макроскопического и микроскопического исследования лекарственного растительного сырья».

Актуальность фармакогнозии как науки и учебной дисциплины вытекает также из того обстоятельства, что в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания включены ОФС, посвященные анализу эфирных масел, масел жирных растительных, дубильных веществ в ЛРС, определению биологической активности ЛРС и лекарственных растительных препаратов, содержащих сердечные гликозиды, определению подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах, а также характеристике отдельных видов ЛРС (травы, листья, цветки, плоды, семена, коры, почки, корни, корневища, луковичи, клубни, клубнелуковичи). Кроме того, в плане оценки качества лекарственных растительных препаратов особое значение имеют такие ОФС, как эфирное число, число

омыления, йодное число, кислотное число, перекисное число, определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах.

Важно подчеркнуть, что в рамках Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания критически пересмотрены методики количественного определения БАС, а также обоснованы новые числовые показатели, в том числе значения нижнего предела содержания действующих веществ.

Следует отметить, что успешное развитие фармакогнозии способствовало тому обстоятельству, что в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания впервые введены такие виды ЛРС, как гинкго двулопастного листа, аронии черноплодной сухие плоды, тополя почки, донника трава. Отечественными учеными проводятся также исследования по дальнейшему расширению ассортимента фармакопейных видов ЛРС.

На основе более глубокого изучения химического состава сырья лекарственных растений, а также зависимостей физических, физико-химических, спектральных и фармакологических свойств от химической природы выделенных веществ, используемых в качестве критерия подлинности и качества сырья и фитопрепаратов, показано, что биологически активные соединения следует рассматривать как важнейшую модель в формировании методологической базы для научного обоснования химической классификации ЛРС, методов стандартизации и технологических способов получения, а также показаний к применению соответствующих лекарственных растительных препаратов. В фармакогнозию введены такие группы БАС, как фенилпропаноиды, ксантоны, хиноны, иридоиды, монотерпеновые гликозиды, экидистероиды, ферменты [1–3].

Обосновано, что химическая классификация лекарственного растительного сырья имеет фундаментальное значение не только для фармакогнозии, но и актуальна в фармацевтической технологии, фармацевтической химии, фармакологии и фитотерапии, в случае которых химическая природа биологически активных соединений должна рассматриваться как методологическая основа в плане объяснения особенностей фармакотерапевтического действия, прогнозирования фармакологических эффектов, а также поиска путей достижения эффективности и безопасности лечения с использованием препаратов на основе растительного сырья.

На наш взгляд, для успешного решения вопросов фармакогнозии и фармации в целом биологически активные соединения следует рассматривать с точки зрения:

1. диагностики (видовая принадлежность);
2. качественных реакций (определение подлинности сырья);
3. количественного определения содержания уровня БАС;
4. параметров валидации методов фармакопейного анализа;
5. использования государственных стандартных образцов;
6. физико-химических свойств БАС, включая растворимость, возможную термоллабильность, светочувствительность;

7. обоснования способа получения субстанции и лекарственной формы;

8. фармакологических свойств БАС и лекарственной формы;

9. соотношения химического состава лекарственного растительного сырья и фитопрепарата;

10. возможных процессов трансформации БАС в ходе сушки, хранения, переработки лекарственного растительного сырья.

Важно подчеркнуть, что в настоящее время становится актуальной необходимость трактовки в большинстве видов ЛРС вклада в фармакологическую активность нескольких групп БАС: например, в мяте перечной, цветках ромашки аптечной и других видах сырья — это эфирное масло и флавоноиды, в родиоле розовой — фенилпропаноиды и простые фенолы, в расторопше пятнистой — флаволигнаны и жирное масло, в мелиссе лекарственной — эфирное масло и фенилпропаноиды, в эхинацее пурпурной — фенилпропаноиды, полисахариды и алкаламины, в пионе уклоняющемся — монотерпеновые гликозиды, простые фенолы и эфирное масло, а в зверобое продырявленном — четыре группы действующих веществ: флавоноиды, антраценпроизводные, дубильные вещества и флороглюцины (гиперфорин). Это создает научную основу как с точки зрения объяснения фармакологических эффектов, так и в плане обоснования ресурсосберегающих технологий получения лекарственных растительных средств, включая комплексную переработку ЛРС, а также диктует необходимость совершенствования подходов к стандартизации ЛРС, предполагающих гармонизацию фармакопейных методов [8–10], а также качественное и количественное определение не одной, а как правило, двух и более групп действующих веществ, в том числе водорастворимых компонентов (полисахариды, флавоноиды и др.), в случае, когда лекарственной формой является настой или отвар, а также экстрактивных веществ (галеновые лекарственные формы — настойка, экстракты).

Принципиально важным является то обстоятельство, что в частных фармакопейных статьях на ЛРС в разделе «Подлинность» для определения основных биологически активных веществ успешно используются такие методы, как тонкослойная хроматография и высокоэффективная жидкостная хроматография, причем применение ТСХ является обязательным. Кроме того, в Государственной фармакопее Российской

ской Федерации XIII издания (раздел «Количественное определение») более широкое применение получила высокоэффективная жидкостная хроматография, позволяющая на более высоком уровне оценивать качество ЛРС и лекарственных растительных препаратов.

ВЫВОДЫ

Таким образом, только использование всего комплекса фармакогностических, химических, спектральных, физико-химических и биологических методов может обеспечить объективную оценку подлинности и качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. На наш взгляд, издание Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания будет способствовать успешной реализации «Стратегии развития фармацевтического отрасли РФ на период до 2020 года», а также «Стратегии лекарственного обеспечения населения РФ на период до 2025 года».

ЛИТЕРАТУРА

1. Муравьева ДА, Самылина ИА, Яковлев ГП. Фармакогнозия: Учебник. М.: Медицина; 2002.
2. Куркин ВА. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов.). 2-е изд. Самара: Офорт; 2007.
3. Яковлев ГП, Блинова КФ, ред. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: Учебное пособие. СПб: СпецЛит; 2006.
4. Самылина ИА, Аносова ОГ. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие. Т. 1. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
5. Самылина ИА, Аносова ОГ. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие. Т. 2. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
6. Самылина ИА, Ермакова ВА, Бобкова НВ, Аносова ОГ. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие. Т. 3. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания. В 3-х томах. М.; 2015. Available from: http://193.232.7.120/fem/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/#2.
8. Куркин ВА. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений. Фармация 2002; 50(2): 8–16.
9. Самылина ИА. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств. В кн.: Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты. Материалы I Международного научного конгресса. М.: Институт традиционных методов лечения МЗ РФ; 1994. С. 254.
10. Самылина ИА, Баландина ИА. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация. Фармация 2004; 52(2): 39–41.

ОБ АВТОРАХ

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтический факультет. Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4. Самылина Ирина Александровна. Зав. кафедрой фармакогнозии, член-корреспондент РАН, д-р фарм. наук, проф.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтический факультет. Российская Федерация, 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89. Куркин Владимир Александрович. Зав. кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д-р фарм. наук, проф.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтический факультет. Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14. Яковлев Геннадий Павлович. Зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники, доктор биологических наук, проф.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Самылина Ирина Александровна; lazdata@mail.ru

SCIENTIFIC BASIS OF THE DEVELOPMENT AND STANDARDIZATION OF HERBAL MEDICINES

I. A. Samylina¹, V. A. Kurkin², G. P. Yakovlev³

¹ State Budgetary Education Institution «First Moscow State Medical University named I. M. Sechenov» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Russia

² State Budgetary Education Institution «Samara State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 443099, Samara, Russia

³ State Budgetary Education Institution «St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 197376, St. Petersburg, Russia

Abstract: The present paper conceptually considers scientific approaches to standardization of starting materials of herbal origin and herbal medicinal products. It was proved that chemical classification of the starting materials of herbal origin is of fundamental importance for Pharmacognosy and Pharmaceutical science in general. It was shown that the chemical nature of biologically active compounds has to be considered as a methodological basis when developing new approaches to standardization of starting materials of herbal origin and herbal medicinal products. The article also discusses the dependence of physical, physical and chemical, spectral, and pharmacological properties on the chemical nature of biologically active compounds, used as identity and quality criteria for raw materials and phytopreparations. The paper describes current trends in Pharmacognosy, as reflected in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition.

Key words: Pharmaceutical science; State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition; Pharmacognosy; medicinal plants; starting materials of herbal origin; biologically active compounds; phytopharmaceuticals; standardization.

For citation: Samylina IA, Kurkin VA, Yakovlev GP. Scientific basis of the development and standardization of herbal medicines. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 41–44.

REFERENCES

1. Muravieva DA, Samylina IA, Yakovlev GP. Pharmacognosy: Textbook. Moscow: Meditsina; 2002 (in Russian).
2. Kurkin VA. Pharmacognosy: Textbook for students of pharmaceuticals higher education institutions (faculties). 2th ed. Samara: Ofort; 2007 (in Russian).
3. Yakovlev GP, Blinova KF. Medicinal vegetable raw materials. Pharmacognosy: Textbook. St. Petersburg: SpetsLit; 2006 (in Russian).
4. Samylina IA, Anosova OG. Pharmacognosy. Atlas: manual. Vol. 1. Moscow: GEOTAR-Media; 2007 (in Russian).
5. Samylina IA, Anosova OG. Pharmacognosy. Atlas: manual. Vol. 2. Moscow: GEOTAR-Media; 2007 (in Russian).
6. Samylina IA, Ermakova VA, Bobkova NV, Anosova OG. Pharmacognosy. Atlas: manual. Vol. 3. Moscow: GEOTAR-Media; 2009 (in Russian).
7. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. 3 volumes. Moscow; 2015. Available from: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/#2 (in Russian).
8. Kurkin VA. Modern aspects of chemical classification of biologically active compounds of medicinal plants. Farmatsiya 2002; 50(2): 8–16 (in Russian).
9. Samylina IA. Problems of standardization of medicinal plant raw materials and phytopharmaceuticals. In: Traditional medicine and food: theoretical and practical aspects: Materials of the I International scientific congress. Moscow: Institute of traditional methods of treatment of Ministry of Health of the Russian Federation; 1994. P. 254 (in Russian).
10. Samylina IA, Balandina IA. Ways of the use of medicinal plant raw materials and its standardization. Farmatsiya 2004; 52(2): 39–41 (in Russian).

AUTHORS

State Budgetary Education Institution «First Moscow State Medical University named I. M. Sechenov» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Bolshaya Pirogovskaya street, 2, building 4, Moscow, 119991, Russian Federation.
Samylina IA. Head of the Department of Pharmacognosy with Botany. Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

State Budgetary Education Institution «Samara State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chapaevskaya street, 89, Samara, 443099, Russian Federation.

Kurkin VA. Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and basis of Phytotherapy. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

State Budgetary Education Institution «St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Prof. Popov street, 14, St. Petersburg, 197376, Russian Federation.

Yakovlev GP. Head of the Department of Pharmacognosy and Botany. Doctor of Biological Sciences, professor.

Стандартизация пептидного препарата тимоцин

Г. М. Бобизода¹, Н. Д. Бунятян², А. Н. Шахматов³

¹ Академия образования Республики Таджикистан, 734024, Душанбе, Таджикистан

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, 119991, Москва, Россия

³ ООО «Занд», Республика Таджикистан, Душанбе

Статья поступила 13.01.2016 г. Принята к печати 12.02.2016 г.

Резюме: В настоящее время установлено, что некоторые низкомолекулярные пептиды обладают иммуномодулирующей активностью и применяются в качестве пептидных препаратов. Одним из наиболее важных микроэлементов, играющих важную роль в функционировании иммунной системы, является цинк. Проведенные исследования послужили основой для разработки иммуностимулирующего препарата тимоцин, представляющего собой водный раствор координационных соединений цинка с дипептидом изолейцил-триптофан, который был зарегистрирован в Республике Таджикистан в качестве иммуномодулирующего препарата. Проведенные исследования позволили провести стандартизацию и разработать фармакопейную статью на стандартный образец и лекарственную форму иммуномодулирующего препарата тимоцин.

Ключевые слова: тимоцин; фармакопейная статья; стандартный образец.

Библиографическое описание: Бобизода ГМ, Бунятян НД, Шахматов АН. Стандартизация пептидного препарата тимоцин. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 45–49.

В настоящее время установлено, что некоторые низкомолекулярные пептиды обладают иммуномодулирующей активностью и применяются в качестве пептидных препаратов [1]. Также известно, что некоторые микроэлементы играют важную роль в функционировании иммунной системы. Одним из наиболее важных микроэлементов в этом плане является цинк [2]. Как ранее [3] было показано на лекарственных препаратах органического происхождения, комплексообразование с ионами различных металлов приводит к увеличению специфической активности этих препаратов. Было обнаружено появление специфической активности энкефалинов при их комплексообразовании с ионом меди [4]. Было показано, что комплексообразование с ионами железа (II) и цинка приводит к повышению иммуностимулирующей активности у дипептида изолейцил-триптофан [5]. Эти исследования послужили основой для разработки иммуностимулирующего препарата тимоцин, представляющего собой водный раствор координационных соединений цинка с дипептидом изолейцил-триптофан [6], который был зарегистрирован в Республике Таджикистан в качестве иммуномодулирующего препарата. Тимоцин оказался эффективным при лечении различных заболеваний, сопровождающихся возникновением вторичных иммунодефицитных состояний [7, 8].

Целью данного сообщения является стандартизация и разработка фармакопейной статьи на тимоцин.

При создании лекарственной формы выбрано эквивалентное соотношение дипептида и иона металла при концентрации дипептида, как и в случае тимогена и тимогара, 100 мкг/мл. Лекарственная форма тимогена представляет собой 0,0157% водный раствор координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с ионом цинка.

Для стандартизации препарата на первом этапе было необходимо разработать стандартный образец тимогена.

Поскольку в состав тимогена входит дипептид изолейцил-триптофан, обладающий собственным поглощением в УФ-области спектра при 278 ± 2 нм, одним из методов, который можно применить для качественного и количественного определения тимогена, может стать УФ-спектрофотометрия.

В связи с тем, что координационные соединения цинка с дипептидом изолейцил-триптофан образуются в водном растворе (в процессе получения тимогена) без выделения в свободном виде, для разработки стандартного образца тимогена и методов его стандартизации было изучено влияние комплексообразования на интенсивность поглощения дипептида и на хроматографическую подвижность координационных соединений по сравнению с дипептидом.

Результаты спектрофотометрических исследований показали, что взаимодействие дипептида с ионом цинка не влияет на интенсивность поглощения дипептида при длине волны 280 ± 2 нм, используемой для его количественного определения.

Сложность выбора оптимальных условий хроматографирования пептидов обусловлена существованием в растворе катионной, цвиттер-ионной и анионной форм, отличных по времени удерживания — в результате хроматографический пик соединения расширяется, что неприемлемо при анализе препарата. Тимоцин представляет собой раствор координационных соединений дипептида H-Phe-Trp-OH с Zn^{2+} , существующих одновременно в нескольких комплексных формах, обусловленных ступенчатой диссоциацией дипептида [5].

Данных о влиянии соле- и комплексообразования на хроматографические свойства пептидов практически не имеется. Только В. С. Смирнов (2003) сообщал, что мононатриевая соль L-глутамил-L-триптофана по данным ТСХ и ВЭЖХ идентична дипептиду в выбранных условиях хроматографирования.

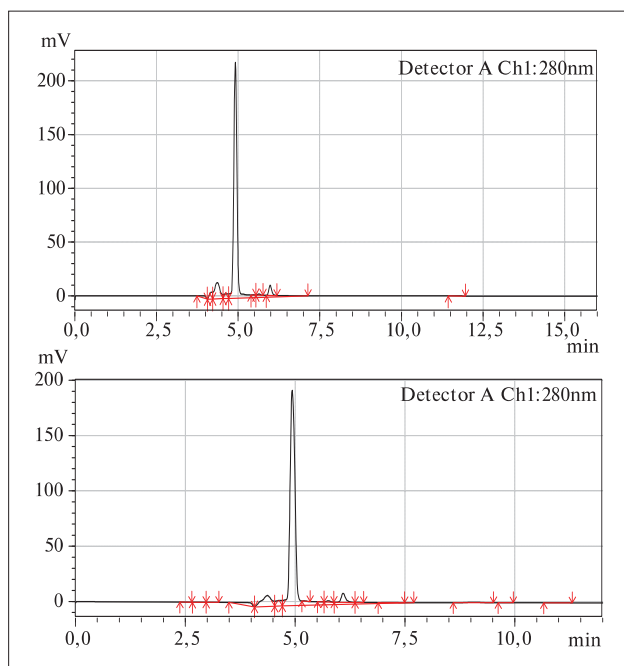


Рис. 1. ВЭЖХ хроматограммы дипептида изолейцил-триптофан (а) и его координационных соединений с цинком (б). Колонка Discovery C18 (25 см × 4,6 мм, размер частиц 5 мкм), подвижная фаза: смесь ацетонитрила и фосфатного буфера (рН 7,4) (40:60), скорость потока составляла 1 мл/мин, детектирование проводили при длинах волн 254 и 280 нм и времени элюирования 30 минут

Первоначально методом ТСХ изучили влияние солеобразования на хроматографические свойства Н-Ие-Трп-ОН. При этом использовали свободный дипептид Н-Ие-Трп-ОН, хлоргидрат, ацетат, трифторацетат, натриевую соль дипептида и его координационные соединения с цинком. Для смещения ионного равновесия дипептида в сторону образования одной ионной формы применили системы растворителей, содержащие как основные (пиридин), так и кислые реагенты (уксусная кислота): н-бутанол-пиридин-CH₃COOH-H₂O (30:20:6:24) (А), CH₃COOH-H₂O-CH₃ОН-CHCl₃ (7:3:1:1) (Б). Значения R_f вышеуказанных соединений в данных системах были одинаковы и равны 0,55 (А) и 0,88 (Б), свидетельствуя о существовании либо анионной (система А), либо катионной (система Б) формы дипептида.

При хроматографировании методом ВЭЖХ, для смещения равновесия в сторону одной ионной формы использовали элюент состава: ацетонитрил — фосфатный буфер с рН 7,4 (40:60). Фосфатный буфер должен обеспечить присутствие пептида в одной ионной форме. Результаты хроматографирования свободного дипептида и его солянокислой, ацетатной и натриевой солей, а также координационных соединений с ионом цинка показали, что в выбранных условиях все ионные формы пептида имели одинаковое время удерживания — 5,21 ± 0,15 минуты. Для примера на рис. 1 приведены ВЭЖХ хроматограммы дипептида Н-Ие-Трп-ОН и его координационных соединений с цинком.

Таким образом, применение кислых и основных систем при хроматографировании пептидов, их солей и координационных соединений методом ТСХ, а также применение фосфатного буфера (рН 7,4) при ис-

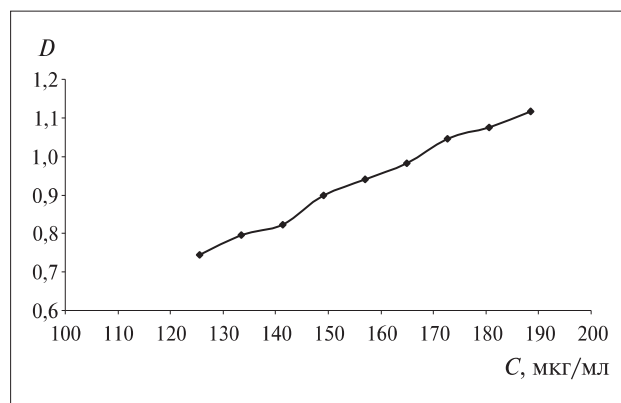


Рис. 2. График линейности метода количественного определения тимогина

пользовании ВЭЖХ позволяют получать хроматограммы исследуемых соединений в одной ионной форме. Проведенные исследования позволили разработать фармакопейные статьи на стандартный образец тимогина и его лекарственную форму. Параметры стандартизации стандартного образца и препарата приведены в таблице 1.

Для определения количественного содержания цинка в тимогине (после его экстракции из препарата) был разработан метод, основанный на образовании окрашенного соединения цинка с дитизоном, интенсивность окраски которого зависит от содержания цинка. Фотометрирование проводили при 538 нм. Содержание цинка определяли по калибровочной кривой.

Методики количественного определения тимогина и содержания цинка в тимогине спектрофотометрическим методом были валидированы по параметрам линейность, повторяемость, воспроизводимость и правильность.

График линейности количественного определения тимогина показан на рис. 2. В этом случае коэффициент корреляции составил 0,999, параметры линейной зависимости $Y_i = bX_i + a$ были равны $b = 0,00607$, $a = -0,0172$.

При изучении повторяемости величина относительного стандартного отклонения не должна превышать 2% и составила в нашем случае 0,58%, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Воспроизводимость методики изучали 2 аналитика в 5 повторностях, критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 10%. Среднее его значение составило 1,14%, что указывает на прецизионность методики в условиях воспроизводимости.

При изучении правильности методики путем измерения количественного содержания тимогина в растворах, полученных путем добавления к исследуемому раствору необходимого количества стандарта с концентрациями 20, 40, 50, 60, 80, 100, 110 мкг/мл до получения окончательной концентрации 157 мкг/мл, средний процент восстановления находится в пределах от -101,08 до +101,72, среднее его значение составляет 100,15%, что соответствует необходимым требованиям.

Таким образом установлено, что методика легко воспроизводима, доступна, занимает минимум рабочего времени, не требует дорогостоящих реактивов. Она позволяет объективно оценивать качество тимопина.

В методику количественного определения цинка в тимопине входит стадия экстракции цинка раствором дитизона в четыреххлористом углероде или хлороформе. Поэтому было необходимо провести валидацию стадии экстракции. Изучение влияния времени экстракции и растворителя на результат определения показало, что оптимальным временем экстракции является 2 мин. Растворитель не оказывает влияния на результат определения.

Затем были проверены остальные характеристики методики: линейность, сходимости и правильность.

График линейности методики количественного определения содержания цинка приведен на рис. 3.



Рис. 3. График линейности метода количественного определения тимопина

Таблица 1

ПАРАМЕТРЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА И ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ – ТИМОЦИН

Стандартный образец		Лекарственная форма	
Параметр	Метод определения и характеристика	Параметр	Метод определения и характеристика
Описание	Белый или слегка желтоватый кристаллический порошок без запаха	Описание	Прозрачный бесцветный водный раствор без запаха
Растворимость (ГФ XII, ОФС 42-0049-07)	Растворим в воде, очень мало растворим в спирте 95%, практически нерастворим в хлороформе	Подлинность	Спектр поглощения препарата имеет максимум при 278 ± 2 нм и плечи при $273-275 \pm 2$ нм и $287-288 \pm 2$ нм
Подлинность Тимопин Ацетат-ион (ГФ XI, вып. 1, стр. 159) Цинк (ГФ XI, вып. 1, стр. 165)	Спектр поглощения имеет максимум при 278 ± 2 нм и плечи при $273-275 \pm 2$ нм и $287-288 \pm 2$ нм Раствор дает качественную реакцию на ацетат-ион Раствор препарата дает качественную реакцию на ион цинка с раствором калия ферроцианида	Прозрачность (ГФ XI, вып. 1, стр. 198)	Препарат должен быть прозрачным
pH (потенциометрически, ГФ XII, ОФС 42-0048-07)	От 5,5 до 6,8 для 0,016924%-ного раствора	Цветность (ГФ XI, вып. 1, стр. 194)	Препарат должен быть бесцветным
Прозрачность раствора (ГФ XII, ОФС 42-0051-07)	Раствор должен быть прозрачным	Посторонние примеси (ТСХ)	На хроматографических пластинках должны появиться только два темно синих пятна с совпадающими R_f
Цветность раствора (ГФ XII, ОФС 42-0050-07)	Раствор должен быть бесцветным	Механические включения	Не должно быть
Посторонние примеси (ВЭЖХ)	Содержание любой единичной примеси не более 0,9%, суммарное содержание примесей не более 2,0%	Стерильность (ГФ XI, вып. 2, стр. 187-193)	Препарат должен быть стерильным
Потеря в массе при высушивании (ГФ XI, вып. 1, с. 176)	Не более 6%	Пирогенность (ГФ XI, вып. 2, стр. 183-185)	Препарат должен быть апирогенным
Удельный показатель поглощения	163,1-176,7	Токсичность (ГФ XI, вып. 2, стр. 182-183)	Препарат должен быть нетоксичным
		Количественное содержание: Тимопин (спектрофотометрия) Цинк (спектрофотометрия)	От 90 до 110% От 90 до 110%

Параметры линейной зависимости $Y_i = bX_i + a$ составляли $b = 0,01$, $a = 0,021$ и коэффициент корреляции составлял 0,999.

При определении сходимости методики величины относительного стандартного отклонения находилась в пределах 0,584–0,869%, что указывает на прецизионность методики в условиях воспроизводимости.

При изучении правильности методики было показано что средний процент восстановления находится в пределах от –101,08 до +101,72, среднее его значение составляет 100,15%.

Проведенные исследования показали, что разработанная методика количественного определения содержания цинка в тимоцине по всем параметрам пригодна для практического применения.

Полученные результаты включены в фармакопейные статьи «Тимоцин. Фармакопейная статья предприятия ФСП 42 Тj-00002–08» (Срок действия установлен с 2013 по 2018 гг.) и «Тимоцин образец стандартный. Фармакопейная статья ФС 42-Тj-0003–08» (Срок действия установлен с 2008 по 2013 гг.).

Таким образом, проведенные исследования позволили провести стандартизацию и разработать фармакопейную статью на стандартный образец и ле-

карственную форму иммуномодулирующего препарата тимоцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морозов ВГ, Хавинсон ВХ, Малинин ВВ. Пептидные тимомиметики. СПб.: Наука; 2000.
2. Кудрин АВ, Громова ОА. Микроэлементы в иммунологии и онкологии. М: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
3. Крисс Е, Волченкова ИИ, Бударин ЛИ. Координационные соединения металлов с лекарствами — новые эффективные терапевтические агенты. Координационная химия 1990; **16**(1): 11–21.
4. Mrabet B, Jouini M, Huet J, Lapluye G. Potentiometric, colorimetric and spectroscopic study of copper (II) complex of leucine — enkephalin and tripeptides, containing tyrosine. J Clin et Phys-chim Biol. 1992; **89**(11–12): 2187–2205.
5. Бобиев ГМ, Бунятян НД, Саядян ХС, Саповский ММ. Иммуноактивные пептиды и их координационные соединения в медицине. М.: Русский врач; 2009.
6. Бобиев ГМ. Способ получения иммуностимулирующего препарата тимоцин. Патент Республики Таджикистан, № TJ 282; 1998.
7. Мансуров ХХ, Мироджов ГК, Мансурова ФХ, Бобиев ГМ, Холназаров БМ. Тимоцин в терапии хронических диффузных заболеваний печени. Проблемы гастроэнтерологии 2010; **1–2**: 40–49.
8. Мирзоева ДС, Бобиев ГМ, Анохина ИВ. Применение тимодина при лечении рака молочной железы. В кн.: VI съезд онкологов и радиологов стран СНГ. Материалы съезда: Душанбе, 1–4 октября 2010 г. Душанбе; 2010.

ОБ АВТОРАХ

Академия образования Республики Таджикистан. Республика Таджикистан, 734024 Душанбе, ул. Айни, 45.
Бобизода Гуломқодир Муқаммалович. Президент, д-р фарм. наук, проф.

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

Бунятян Наталья Дмитриевна. Заведующий кафедрой фармакологии с курсом технологии лекарств
факультета последипломного профессионального образования провизоров, д-р фарм. наук, проф.

ООО «Занд». Республика Таджикистан, 734005, Душанбе, ул. А. Каххарова, 111.
Шахматов Александр Николаевич. Заведующий лабораторией, канд. хим. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Бунятян Наталья Дмитриевна; Bunyatyan@expmed.ru

STANDARDIZATION OF THE PEPTIDE PREPARATION TIMOCIN

G. M. Bobizoda¹, N. D. Bunyatyan², A. N. Shakhmatov³

¹ Education Academy of the Tajikistan Republic, 734024, Dushanbe, Tajikistan

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

³ «Zand Ltd», 734005, Dushanbe, Tajikistan

Abstract: It is currently established that some low molecular weight peptides possess immunomodulating activity and are used as peptide preparations. One of the most important trace elements playing an important role in the functioning of the immune system is zinc. The performed research became the basis for the development of the immunomodulatory preparation timocin, in a form of aqueous solution of zinc coordination compounds with dipeptide isoleucyl-tryptophan, which has been registered in the Republic of Tajikistan as an immunomodulating preparation. The research allowed to perform standardization and develop pharmacopoeia monograph for the reference standard and the finished dosage form of the immunomodulatory preparation timocin.

Key words: pharmacopoeia monograph; reference standard.

For citation: Bobizoda GM, Bunyatyan ND, Shakhmatov AN. Standardization of the peptide preparation timocin. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 45–49.

REFERENCES

1. Morozov VG, Havinson VH, Malinin VV. Peptide Thymomimetics. St. Petersburg, Nauka, 2000 (in Russian).
2. Kudrin AV, Gromova OA. Dietary elements in immunology and oncology. M: GEOTAR Media; 2007 (in Russian).
3. Kriss E, Volchenskova II, Budarin LI. Metal coordination compounds with drugs — new effective therapeutic agents. Koordinatsionnaya himiya 1990; **16**(1): 11–21 (in Russian).
4. Mrabet B, Jouini M, Huet J, Lapluye G. Potentiometric, colorimetric and spectroscopic study of copper (II) complex of leucine — enkeph-

- lin and tripeptides, containing tyrosine. J Clin et Phys–chim Biol. 1992; 89(11–12): 2187–2205.
5. Bobiev GM, Bunyatyan ND, Sayadyan HS, Sapovskiy MM. Immunoactive peptides and their coordination compounds in medicine. Moscow: Russkiy vrach; 2009 (in Russian).
 6. Bobiev GM. A method for producing an immunostimulatory drug Timocin. Patent of the Republic of Tajikistan, № TJ 282; 1998 (in Russian).
 7. Mansurov HH, Mirodzhov GK, Mansurova FH, Bobiev GM, Holnazarov BM. Timocin in the treatment of chronic diffuse liver diseases. Problemy gastroenterologii 2010; 1–2: 40–49 (in Russian).
 8. Mirzoeva DS, Bobiev GM, Anohina IV. Use of Timocin in the treatment of breast cancer. In: VI congress of oncologists and radiologists of CIS. Proceedings of the Congress: Dushanbe, 1–4 October 2010. Dushanbe; 2010 (in Russian).

AUTHORS

Academy of Education of the Republic of Tajikistan, Ayni street, 45, Dushanbe, 734024, the Republic of Tajikistan.

Bobizoda GM. President. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

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

Bunyatyan ND. Head of the Department of Pharmacology with a course of technology of medicines of the Faculty of post-graduate professional education of pharmacists. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

«Zand Ltd», A. Kahharov street, 111, Dushanbe, 734005, the Republic of Tajikistan.

Shahmatov AN. Head of laboratory. Candidate of Chemical Sciences.

Система вторичных стандартных образцов в лабораториях контроля качества лекарственных средств

Д. А. Леонтьев

Государственное предприятие
«Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»,
61085, Харьков, Украина

Статья поступила 29.01.2016 г. Принята к печати 08.02.2016 г.

Резюме: Проведен анализ систем фармацевтических стандартных образцов. Показаны недостатки одноуровневой системы. Для принятия надежного заключения о качестве лекарственных средств необходимо использование двухуровневой системы, важной частью которой является система вторичных стандартных образцов предприятия. Рассматривается опыт разработки и внедрения системы вторичных стандартных образцов в Украине в рамках перехода к двухуровневой системе.

Ключевые слова: стандартные образцы; анализ лекарственных средств; система вторичных стандартных образцов предприятия.

Библиографическое описание: Леонтьев ДА. Система вторичных стандартных образцов в лабораториях контроля качества лекарственных средств. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 50–55.

О качестве лекарственных средств (ЛС) мы судим по результатам анализа — соответствует или нет данное ЛС утвержденным спецификациям. Однако и сам результат анализа должен быть «качественным» — должен обеспечиваться приемлемо низкий риск принятия некорректного заключения о качестве ЛС. Именно с этой целью и используются стандартные образцы (СО). В общем тексте Европейской фармакопеи (PhEur) 5.12 «Стандартные образцы» [1] подчеркивается: «СО используют для достижения необходимого уровня контроля качества ЛС».

В СССР в фармацевтической отрасли существовала система СО, которую можно назвать «одноуровневой». В настоящее время в странах, где действуют правила Надлежащей производственной практики (GMP), действует система СО, которую можно назвать «двухуровневой».

Целью данной статьи является рассмотрение данных систем исходя из потребностей современной фармацевтической отрасли, а также рассмотрение опыта Украины по разработке и внедрению «двухуровневой» системы.

Рассмотрение касается тестов, основанных на химическом анализе. Для биологических методов подходы в общих чертах являются такими же, однако возможна определенная специфика.

Отметим, что вопросы практического применения двухуровневой системы СО очень многогранны, поэтому метрологические аспекты аттестации СО «второго уровня» (вторичных СО) рационально рассматривать в отдельной публикации.

БАЗОВЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Прежде всего необходимо определить виды СО исходя из их иерархии в системе эталонов. Различают [1]:

Первичный СО: СО, для которого продемонстрировано наличие свойств, необходимых для его предполагаемого применения; при этом его пригодность подтверждена без сравнения с другим СО;

Вторичный СО (ВСО): СО, аттестованный путем сравнения (калибровки) с первичным СО.

Также различают СО состава и СО свойств [2]:

СО состава: СО, который воспроизводит значения величин, которые характеризуют содержание определенных компонентов.

СО свойств: СО, который воспроизводит значения величин, которые характеризуют физические, химические, технические и другие свойства вещества, за исключением величин, которые характеризуют состав.

СО составы очень широко используются в фармации, в первую очередь для количественных определений субстанций или их примесей (к количественным определениям можно отнести собственно тест «Количественное определение», а также «Однородность дозирования» и «Растворение». Термин «субстанции» используется потому, что кроме действующих веществ количественно могут определяться вспомогательные вещества). Для таких СО присваивается аттестованное значение содержания (X_{Att}) — равное 100% или отличающееся от 100%. Наличие X_{Att} определяет высокую ответственность того, кто вводит в действие данный СО. Это же подчеркивается в общей статье USP «Результаты анализа — интерпретация и обработка» [3]: «Поскольку присвоение значения содержания для СО является одним из важных факторов, которые влияют на правильность результатов анализа, критическим моментом является корректность этой процедуры». Если не оговорено специально, далее подразумеваются СО состава.

Также СО различают по их статусу. Межгосударственный стандарт ГОСТ 8.315–97 «Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов» [2] различает в частности следующие категории СО:

Государственный СО (ГСО), или национальный СО: признанный национальным органом по стандартизации, метрологии и сертификации, применяемый во всех областях народного хозяйства страны, включая сферы распространения государственного метрологического контроля и надзора.

Отраслевой СО: СО, утвержденный органом, разделенный соответствующими полномочиями от Государственного органа управления или от объединения юридических лиц, применяемый на предприятиях и в организациях отрасли или объединения юридических лиц, утвердивших СО.

СО предприятия (организации): СО, утвержденный руководителем предприятия (организации) и применяемый в соответствии с требованиями нормативных документов предприятия (организации), утвердившего СО.

Отметим, что в странах, где действуют правила GMP, также используются СО статуса отраслевого и предприятия.

КОНЦЕПЦИЯ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ И ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА. ИЕРАРХИЯ СО (ЭТАЛОНОВ)

В настоящий момент общепризнанной научной метрологической базой является концепция неопределенности результатов анализа [4]. Ее применение позволяет оценить варьирование именно для конечного результата анализа (а не для отдельных компонентов аналитической системы), и соотносить его со спецификациями. Это позволяет контролировать риск принятия некорректного решения о качестве.

С концепцией неопределенности неразрывно связана концепция прослеживаемости результатов анализа. Конечный результат анализа обычно является завершающим звеном целой цепочки калибровок. Например, любое взвешивание опирается на международный эталон килограмма. Национальные метрологические органы имеют копию килограмма, снятую с этого эталона. Она используется для калибровки и последующего распространения сертифицированных гирь. По таким гилям проводится проверка всех весов, показания которых используются для получения конечного результата анализа во всех лабораториях. Таким образом, все результаты анализа, в которых используется взвешивание, прослеживаются к единому эталону. Принцип *прослеживаемости* означает, что «результат анализа может быть соотнесен с общепризнанным стандартом, обычно национальным или международным, через неразрывную цепочку измерений (сравнений), для каждого звена которой известна неопределенность» [4]. Важнейшим следствием реализации принципа прослеживаемости является то, что на основании результатов анализа, полученных в разное время, в разных лабораториях, (и даже) разными методами (объективными) должно быть сделано одинаковое заключение о качестве ЛС [5]. Таким образом, принцип прослеживаемости обеспечивает взаимопризнание заключений о качестве, без чего невозможно обращение ЛС, особенно на международном уровне.

Спецификой аналитической химии является то, что результат количественного определения имеет началом цепочки калибровок количество молекул, или количество атомов, или количество функциональных групп именно данного аналита. Т.е. при использовании для анализов сравнительных методов (требующих наличия эталона именно данного аналита), которые получили в настоящее время чрезвычайно широкое распространение, для количественного определения каждой субстанции или ее примеси/примесей требуется наличие ее эталона (частным случаем которого является СО).

Поэтому в аналитической химии широко принята практика, когда для ежедневных калибровок лабораторного оборудования лаборатория сама изготавливает эталон (= аттестует СО) путем калибровки его по эталону, который в цепочке измерений находится ближе к ее началу. Важно, что этот опорный эталон должен быть общепризнанным для всех лабораторий, результаты анализа которых могут сопоставляться. В частности, в ГОСТ ISO 17025 п. 5.6.3.2 «Стандартные образцы» [6] отмечено: «Стандартные образцы, по возможности, должны быть прослеживаемыми к единицам СИ или к аттестованным стандартным образцам. Внутренние стандартные образцы должны проверяться настолько тщательно, насколько это технически и экономически целесообразно».

С другой стороны, в химической отрасли (и в фармацевтической) очень часто непосредственно лаборатория, которая проводит анализ, в состоянии изготовить достаточно чистое вещество, которое потенциально может использоваться в качестве эталона (или воспользоваться достаточно чистым веществом, которое не имеет статуса эталона). В этом случае цепочка измерений для анализа каждый раз начинается именно в той лаборатории, которая выполняет анализ. Поскольку нет единого эталона, на который опираются при выполнении данного вида анализа, такой подход вызывает проблему взаимного признания заключения о качестве.

СПЕЦИФИКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СО В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ

Характерной чертой фармации является широкая номенклатура ЛС, производимых и потребляемых фармацевтическим предприятием (фармацевтические субстанции рассматриваются также как лекарственные средства). Так, фармацевтическое предприятие «Тева» использовало в 2012 г. порядка 500 субстанций и 300 вспомогательных веществ [7].

Другой характерной чертой фармации является широкое использование сравнительных методов, которые требуют применения СО. Без СО невозможно выявить фальсификат — т.е. проконтролировать подлинность препарата; оценить его безопасность — проконтролировать примеси; оценить его эффективность — для твердых дозированных препаратов оценить динамику высвобождения действующего вещества и т.д. Поэтому для достижения современного уровня контроля качества практически для каждого препарата требуется использование одного или даже нескольких различных СО. Отметим, что та же «Тева» использовала порядка 2000 различных СО [6] — т.е. гораздо больше, чем номенклатура субстанций.

Фармакопейные СО (ФСО), которые являются официальными СО для фармацевтической отрасли, часто фасуются в количестве, достаточном для выполнения одной серии анализа. Не рекомендуется хранить вскрытые упаковки ФСО и их растворы [1]. Это приводит к огромному расходу упаковок СО, в первую очередь, при посерийном контроле качества препаратов на производстве (так называемый «рутинный контроль качества» — «routine quality control»).

Отметим, что внедрение системы GMP приводит к обязательному выполнению всех документов, принятых предприятием. По опыту Украины, после введения в действие системы GMP потребление ФСО Государственной фармакопеей Украины (ГФУ) возросло примерно в 20 раз. Такую динамику можно

объяснить тем, что ранее, несмотря на то, что в регистрационном досье фигурировали ФСО, зачастую для выполнения рутинного анализа ФСО не использовались.

Использование только ФСО для рутинных анализов очень затратно для фармацевтических предприятий. С другой стороны, можно утверждать, что фармакопей, чьи ФСО используют производители ЛС, просто не имеют запасов соответствующих ФСО для обеспечения рутинного анализа. Таким образом, для фармацевтической отрасли остро стоит проблема оптимизации использования официальных СО — ФСО.

Система фармацевтических СО, принятая в СССР («одноуровневая» система)

Использовались СО следующего статуса [8]:

Государственный СО (ГСО): СО, аттестованный, введенный в действие и распространяемый фармакопейным органом, предназначенный для контроля качества (КК) ЛС. Предполагалось, что вместо ГСО не может использоваться вещество любого другого статуса [9].

Рабочий СО (РСО): первичный СО, аттестованный лабораторией. Принятой практикой было использовать в качестве аттестованного значения РСО результат количественного определения для субстанции, полученный методом, не требующим использования СО данного вещества — т.е. титрованием.

СО образца свидетеля (СОВС): СО для определения содержания примесей. Обычно аттестованное значение принималось равным 100%, т.к. метрологические требования для результата определения примесей существенно ниже, чем для результата количественного определения субстанций.

Двухуровневая система СО, принятая в странах, где действует GMP

Используются следующие СО:

Фармакопейный СО (ФСО): СО, аттестованный, введенный в действие и распространяемый фармакопейным органом для контроля качества ЛС (т.е. по процедуре как для отраслевого СО) [1, 10]. ФСО используется для проведения арбитражных анализов и для калибровки вторичных СО предприятия (ВСО). ФСО формально признается как первичный СО [11], который стоит в начале цепочки измерений.

Вторичный СО предприятия (ВСО): используется для проведения рутинных анализов, обязательно должен быть откалиброван по ФСО (т.е. это обязательно вторичный СО). ВСО имеет статус СО предприятия.

Обсуждение различных систем фармацевтических СО. Вызывает вопрос статуса ГСО для ФСО ГФ СССР. ФСО могут использоваться только для контроля качества лекарственных средств, т.е. только в фармацевтической отрасли. Вводились в действие они также как отраслевые — не национальным метрологическим органом. Можно утверждать, что статус ГСО для ФСО создает проблемы их введения в действие, распространения и обращения. Поэтому при создании системы ФСО Государственной фармакопеи Украины (ГФУ) для них изначально был принят статус отраслевых СО. В настоящее время номенклатура ФСО ГФУ насчитывает порядка 650 наименований и интенсивно расширяется.

Использование для контроля качества готовых ЛС (ГЛС) РСО, т.е. первичных СО лаборатории, при-

водит принципиально к возникновению проблемы взаимопризнания заключения о качестве, а также к целому каскаду других проблем. Аттестация СО и контроль качества ЛС принципиально различаются. Для подтверждения качества ЛС результат анализа с достаточной надежностью должен находиться в пределах спецификаций, при этом неважно, какой именно результат получен (т.е. результат 102% от номинального содержания не является лучшим, чем результат 103%, любое из этих ГЛС качественное). Для СО присваивается конкретное аттестованное значение, ошибка в присвоении которого будет искажать все последующие результаты анализа.

Результатов количественного определения субстанции принципиально недостаточно для аттестации первичного СО. Помимо того, что к неопределенности аттестованного значения CO_{Att} (которое в какой-то мере аналогично результату количественного определения) предъявляются в 3 раза более высокие метрологические требования, выполнение которых требует специальной организации анализа, для СО необходимо изучать однородность и присваивать свой срок годности [5].

Титрование, которое используют для количественного определения при аттестации РСО, является неспецифическим по отношению к родственным примесям субстанции. Поэтому фармакопей присваивают аттестованное значение ФСО методом вычитания найденного содержания примесей из 100%. Титрование при аттестации ФСО используется только для подтверждения аттестованного значения, причем обязательно с коррекцией на найденное содержание примесей, которые титруются.

Определение содержания примесей в субстанциях имеет целью подтвердить безопасность данного ЛС, а при аттестации СО — получить корректный материальный баланс с содержанием основного вещества. Поэтому аналитическая документация на субстанции принципиально недостаточна для корректной аттестации СО и методом вычитания примесей. Аттестация первичного СО — это очень ответственная процедура, требующая дополнительных исследований и другого метрологического контроля. Поэтому в настоящее время принято, что первичные СО аттестуют только инноваторы (когда ФСО для соответствующего воспроизведенного препарата отсутствует) и фармакопей, фактически по одинаковой процедуре.

Поэтому ведущие фармакопей во всех количественных определениях в ГЛС для сравнительных методов используют соответствующие СО, независимо от того, насколько чистой является субстанция.

Корректно аттестованные первичные СО являются дорогими для рутинного контроля даже для фармацевтических компаний, которые сами аттестуют их для инновационных препаратов. Крупные фармацевтические предприятия (например, «Тева», «Санофи Авентис», «Ратифарм») создают специализированные центры, предназначением которых являются аттестация первичных СО для оригинальных препаратов и калибровка по ним ВСО для обеспечения рутинных анализов. Затем данные ВСО централизованно распространяются во все лаборатории, выполняющие рутинный контроль качества.

Отметим, что производитель инновационного препарата на этапе фармразработки доказывает корректность определения чистоты субстанции (с использованием дополнительных методов анализа, которые не включаются в аналитическую документа-

цию), что также необходимо при аттестации первичного СО. Также он имеет возможность дочистить субстанцию и использовать ее в качестве материала для аттестации первичного СО. Производитель воспроизведенных ГЛС, который использует готовую субстанцию, просто не имеет таких технических возможностей. Можно утверждать, что аттестация первичных СО не может являться задачей для лаборатории, которая проводит только рутинный контроль качества ЛС.

В двухуровневой системе ВСО аттестуют в условиях методики, в которой используется соответствующий первичный СО/ФСО. Поэтому методологически аттестовать ВСО просто. Калибровка ВСО по общепризнанному СО автоматически обеспечивает прослеживаемость результатов анализа и таким образом взаимопризнание заключения о качестве. Критическим моментом корректного использования ВСО является контроль лабораторией неопределенности результата анализа, и в том числе ее частной составляющей, вносимой ВСО.

Отметим, что в двухуровневой системе ВСО могут использоваться вместо *любого* ФСО при соблюдении указанных выше условий. Предназначение такой «двухуровневой» системы — уменьшить расход дорогих ФСО в рутинных анализах. Отметим, что в СССР существовала проблема обеспечения ФСО для рутинных анализов. Однако она воспринималась как «временная трудность», а не как проблема системы.

Таким образом, одноуровневая система приводит к проблеме невозможности использования только ФСО для рутинного анализа, и фактически вынуждает предприятия работать с нарушением утвержденной документации. Это в свою очередь приводит к конфликту при введении GMP, которое строго контролирует работу предприятия в соответствии с данной документацией.

Аттестация РСО в соответствии с одноуровневой системой в общем случае некорректна. Это приводит к проблеме взаимопризнания заключений о качестве, т.е. использование РСО может быть причиной блокирования международного обращения данного ЛС.

Двухуровневая система решает все эти проблемы и обеспечивает современные потребности фармацевтической отрасли.

НОРМАТИВНО-ПРАВОВАЯ БАЗА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВСО В ФАРМАЦИИ

Таким образом, в соответствии с проведенным выше анализом, использование ВСО предприятия для рутинных анализов не противоречит системе СО, принятой в странах бывшего СССР, а также современной практике в аналитической химии.

Право использовать ВСО признают за лабораторией и органы GMP, и фармакопей. Так, в общем тексте Европейской фармакопеи (PhEur) 5.12 «Стандартные образцы» [1] указано: «Вторичные стандартные образцы могут быть использованы для рутинного контроля качества во всех случаях, как указано выше для первичных стандартных образцов, если вторичные стандартные образцы откалиброваны по первичным стандартным образцам».

Вторичные стандартные образцы утверждают и используют, чтобы уменьшить объем использования первичных стандартных образцов, для утверждения которых необходимо большее количество испытаний и которые доступны в ограниченном количестве. Вторичный стандартный образец используют исклю-

чительно с такой же целью, что и первичный, с обязательным указанием, для какого предназначения вторичный стандартный образец был утвержден».

Фармакопея США также говорит о возможности использования ВСО предприятий в общей статье Analytical Data — Interpretation and Treatment «...пользователи USP и NF используют ряд стратегий и практик ... в том числе использование вторичных СО, прослеживаемых к USP RS» [3].

В последней редакции EU GMP добавлено специальное пояснение (п. 6.20), что недопустимо использовать первичный СО предприятия, если имеется соответствующий ФСО [12].

В соответствии с CTD форматом регистрационного досье [13] во втором разделе «Качество» для субстанций и для ГЛС предусмотрены разделы «Стандартные образцы» (3.2.S.5 и 3.2.P.6 соответственно). В данных разделах приводится подробная информация о том, как были охарактеризованы первичные СО предприятия для инновационных препаратов. В случае использования ФСО, на них приводится просто ссылка. Система ВСО предприятия является одной из принятых лабораторных практик, которая контролируется GMP, но не является компетенцией регистрирующих органов. Так, в докладе Dr. Jean-Louis Robert, сделанном от лица регистрирующего органа ЕС на Международном симпозиуме «Фармацевтические СО» [14], ВСО вообще не упоминаются. Вопросы использования ВСО предприятий детально рассматривались в докладах, сделанных от лица инспекций GMP [15, 16].

По запросу ГП «Фармакопейный центр» из офиса FDA получено более детальное разъяснение: «Информация об используемых ВСО должна быть включена в регистрационное досье и/или должна приводиться во внутренней документации системы качества (CPM). С точки зрения соответствия требованиям cGMP, от фирмы ожидается, что она должна иметь письменные процедуры, которые демонстрируют валидность рабочих стандартных образцов, и должна вести записи, которые демонстрируют, что фирма следует этим письменным процедурам по отношению к рабочим стандартным образцам». То есть информация об используемых ВСО может вообще не включаться в регистрационное досье. Включение информации о ВСО в регистрационное досье с одной стороны «подстраховывает» предприятие. Но с другой стороны для перехода на систему ВСО такой подход требует актуализации досье, что долго и дорого.

ИТОГИ ВНЕДРЕНИЯ СИСТЕМЫ ВСО ПРЕДПРИЯТИЙ В УКРАИНЕ

На постсоветской территории двухуровневая система фармацевтических СО никогда не существовала (не была узаконена на нормативном уровне). Такая система впервые была введена в практику в Украине. Поэтому опыт ее практического использования не был накоплен ни у предприятий, ни у регуляторных органов.

Внедрение системы ВСО в Украине произошло раньше, чем введение GMP в качестве обязательных требований. Это связано с тем, что передовые предприятия были нацелены на высокое качество производимых ЛС. Кроме того, эти предприятия были нацелены на регистрацию их ЛС в странах, где уже действовали правила GMP.

В Украине у предприятий-«первопроходцев» были опасения, будут ли данную систему признавать

регуляторные органы. В связи с этим ГП «Фармакопейный центр» подготовил запрос в Укрмедбиопрот, на который был получен официальный положительный ответ. Начиная с 1999 г, система ВСО внедрена специалистами отдела валидации и СО ГП «Фармакопейный центр» более чем на 20 фармацевтических предприятиях, получивших сертификат GMP, и показала свою высокую эффективность.

Ответственностью лаборатории, которая применяет ВСО, является доказательство соответствия используемых ВСО их предполагаемому применению. Для этого были разработаны соответствующие процедуры аттестации ВСО и научно обоснованные критерии [5]. Такими процедурами являются:

- присвоение сертифицированного значения X_{Att} (для количественных определений);
- изучение однородности;
- присвоение срока годности.

В нормативных документах по данному вопросу изложена только «декларация о намерениях» («ВСО должны соответствовать своему назначению»), но нет никаких конкретных «руководств к действию». В то же время Инспектором GMP на 11-м Международном симпозиуме по фармацевтическим стандартам образцам [16] было заявлено, что на практике 99% вопросов по системе PCO связаны с доказательством корректности их аттестации.

Были разработаны:

- требования к максимально допустимой неопределенности для сертифицированного значения X_{Att} (Δ_{Att}), для характеристики неоднородности ВСО (Δ_{Unif}) и для характеристики стабильности ВСО (Δ_{Stab});
- соответствующие процедуры аттестации;
- документация, описывающая требования к аттестуемым PCO исходя из их предполагаемого применения (требования к методике аттестации и оценка результатов, требования к измерительным приборам и используемой мерной посуде); организация работы по аттестации PCO на предприятии (мероприятия и документация); организация работы при использовании PCO на предприятии (мероприятия и документация); другие вопросы, необходимые для полноценного функционирования системы ВСО.

Требования к неопределенности результатов для аттестации ВСО более жесткие, чем для анализа лекарственных средств. В связи с этим при аттестации используются специальные приемы работы (поскольку фактически требования к результатам анализа близки к предельным возможностям метода анализа). Отметим, что для получения корректных результатов необходимо специальное обучение персонала.

В связи с высокими метрологическими требованиями к аттестации ВСО для контроля качества результатов аттестации используется интенсивный метрологический контроль. Поэтому для аттестации ВСО разработано Программное обеспечение, позволяющее автоматизировать все расчеты и генерировать готовый отчет об аттестации. Данное программное обеспечение валидировано в соответствии с требованиями GMP.

При внедрении системы ВСО проводятся следующие работы:

1. Заказчик определяет потребность в аттестации ВСО для трех препаратов, в которых ВСО используются для выполнения анализа различными методами (например, СФ, ЖХ, ГХ).

2. Исполнитель готовит пакет документов, включающий проекты всех документов, необходимых для аттестации данных ВСО.

3. На базе Заказчика проводится аттестация заявленных ВСО и соответствующее обучение (в том числе и работе с программным обеспечением).

4. По результатам аттестации оформляется полный комплект документов на аттестованные PCO.

Поскольку разработанная система ВСО опирается на концепцию неопределенности и научно обоснованные критерии [17], данная система ВСО обеспечивает высокую надежность принятия корректного решения о качестве ЛС, что является конечной ответственностью предприятия-производителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. 5.12. Reference standards. European Pharmacopoeia 8th edition. P. 699–702. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Council of Europe - 7 allée Kastner. CS 30026, F-67081 Strasbourg, France. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep802/>.
2. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Межгосударственный стандарт. ГОСТ 8.315–97. Межгосударственный Совет по Стандартизации, метрологии и сертификации. Минск; 1997.
3. Analytical Data — Interpretation and Treatment. The United States Pharmacopeia. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, Inc. USP 36–NF 31. Online Edition.
4. International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology. ISO, Geneva; 1993.
5. Леонтьев ДА. Фармацевтические стандартные образцы. В кн.: Георгиевский ВП, ред. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. Т. 3. Харьков: HTMT; 2012. С. 1064–1118.
6. ISO. 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: ISO; 2005.
7. Wolf B, Ermer J. Use of Reference Standards and Quality Control: experiences and unmet needs. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
8. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1. М.: Медицина; 1987.
9. Арзамасцев АП, Дорофеев ВЛ, Садчикова НП. Государственные стандартные образцы лекарственных веществ (проект общей фармакопейной статьи). Ведомости Научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств 2000; (3): 24–26.
10. Reference Standards. The United State Pharmacopeia. Rockville: The United State Pharmacopeial Convention, Inc. USP 37–NF 32. P. 46–48. Online Edition.
11. GMP PIC/S. Available from: <http://www.picscheme.org/publication.php>.
12. EU GMP. Available from: <http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index.en.htm>.
13. Common technical document for the registration of pharmaceuticals for human use quality overall summary of module 2 and module 3: quality (CPMP/ICH/2887/99 — Quality), July 2003. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002725.pdf.
14. Jean-Louis Robert. Assessors viewpoint: expectations and findings in dossiers. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
15. Clark J. Pharmaceutical Reference Standards at US FDA: Review and cGMP. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
16. Hecker T. Inspector's viewpoint: expectations and findings in GMP inspections. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 Sep-

- tember 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
17. Leontiev D. Development of the National System of Medicine Reference Substances in Ukraine. Pharmaceutical Reference Stan-

dards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.

ОБ АВТОРАХ

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств».

Украина, 61085, Харьков, ул. Астрономическая, 33.

Леонтьев Дмитрий Анатольевич. Заместитель директора по научной работе, начальник отдела валидации и стандартных образцов, канд. фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Леонтьев Дмитрий Анатольевич; leontievd@yahoo.com

THE SYSTEM OF SECONDARY REFERENCE STANDARDS IN DRUG QUALITY CONTROL LABORATORIES

D. A. Leontiev

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», 61085, Kharkov, Ukraine

Abstract: Pharmaceutical reference standards systems have been analyzed. The imperfections of a one-level system have been demonstrated. It has been shown that for making a reliable decision on the quality of medicines one needs to use a two-level system, an important part of which is the system of secondary reference standards (SRS) of a facility. The article describes the experience in the development and implementation of the SRS system in Ukraine within the transition to a two-level system.

Key words: reference standards; quality control of medicines; the system of secondary reference standards of a facility.

For citation: Leontiev DA. The system of secondary reference standards in drug quality control laboratories. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 50–55.

REFERENCES

1. 5.12. Reference standards. European Pharmacopoeia 8th edition. P. 699–702. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Council of Europe — 7 allée Kastner. CS 30026, F-67081 Strasbourg, France. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep802/>.
2. Standard samples of structure and properties of substances and materials. Interstate standards. GOST 8.315–97. Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification. Minsk; 1997 (in Russian).
3. Analytical Data — Interpretation and Treatment. The United States Pharmacopoeia. Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention, Inc. USP 36–NF 31. Online Edition.
4. International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology. ISO, Geneva; 1993.
5. Leontiev DA. Pharmaceutical standard samples. In: Georgievskiy VP, ed. Analytical chemistry in the creation, standardization and quality control of medicines. V. 3. Kharkov: NTMT; 2012. P. 1064–1118 (in Russian).
6. ISO. 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: ISO; 2005.
7. Wolf B, Ermer J. Use of Reference Standards and Quality Control: experiences and unmet needs. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
8. State Pharmacopoeia of the USSR. 11th ed. Vol. 1. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian).
9. Arzamastsev AP, Dorofeev VL, Sadchikova NP. State standard drug samples (project of general pharmacopoeia article). Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy i gosudarstvennogo kontrolya lekarstvennyh sredstv 2000; (3): 24–26 (in Russian).
10. Reference Standards. The United State Pharmacopoeia. Rockville: The United State Pharmacopoeial Convention, Inc. USP 37–NF 32. P. 46–48. Online Edition.
11. GMP PIC/S. Available from: <http://www.picscheme.org/publication.php>.
12. EU GMP. Available from: <http://ec.europa.eu/health/documents/eud-ralext/vol-4/index.en.htm>.
13. Common technical document for the registration of pharmaceuticals for human use quality overall summary of module 2 and module 3: quality (CPMP/ICH/2887/99 - Quality), July 2003. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002725.pdf.
14. Jean-Louis Robert. Assessors viewpoint: expectations and findings in dossiers. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
15. Clark J. Pharmaceutical Reference Standards at US FDA: Review and cGMP. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
16. Hecker T. Inspector's viewpoint: expectations and findings in GMP inspections. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.
17. Leontiev D. Development of the National System of Medicine Reference Substances in Ukraine. Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), Council of Europe. 3–4 September 2012, Strasbourg, France. Available from: <http://www.edqm.eu/en/EDQM-Downloads-527.html#966>.

AUTHORS

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Astronomicheskaya street, 33, Kharkov, 61085, Ukraine.

Leontiev DA. Deputy Director for Science, Head of Validation and standard samples department. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Генетическое тестирование в прогнозировании и течении хронической сердечной недостаточности на фоне артериальной гипертензии

А. Л. Хохлов, Ю. В. Рыбачкова

ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 150000, Ярославль, Россия

Статья поступила 08.02.2016 г. Принята к печати 12.02.2016 г.

Резюме: Прослежено влияние генетического тестирования на течение хронической сердечной недостаточности у больных с артериальной гипертензией. Оценена клиническая значимость частоты полиморфизмов генов у больных с хронической сердечной недостаточностью в зависимости от успешности лечения. У всех больных уточнялись факторы риска, были выполнены общеклинические методы, электрокардиография, суточное мониторирование электрокардиографии, эхокардиография, фармакогенетическое тестирование, проведен анализ фармакотерапии на амбулаторном этапе за 1 год и 5 лет. Использование генетического тестирования позволяет определить течение хронической сердечной недостаточности, ее прогноз и своевременно с учетом персонализированного подхода провести коррекцию фармакотерапии в соответствии с существующими клиническими рекомендациями и стандартами.

Ключевые слова: генетическое тестирование; полиморфизм генов; хроническая сердечная недостаточность; прогнозирование.

Библиографическое описание: Хохлов АЛ, Рыбачкова ЮВ. Генетическое тестирование в прогнозировании и течении хронической сердечной недостаточности на фоне артериальной гипертензии. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 56–60.

Современные подходы к лекарственной терапии должны опираться не только на эффективность, но и на всестороннюю оценку безопасности лекарственных препаратов [3, 4]. В качестве одного из прогностических критериев высокой эффективности и безопасности фармакотерапии при хронической сердечной недостаточности (ХСН) рассматриваются генетические особенности пациента. Фармакогенетическое тестирование позволяет оценить эффективность и безопасность терапии, своевременно выбрать наиболее эффективное лекарство в качестве первоочередного терапевтического средства и выявить значимые генетические критерии в прогнозировании течения хронической сердечной недостаточности на фоне артериальной гипертензии.

Неуклонный рост сердечно-сосудистых заболеваний, и ХСН в частности, свидетельствует об актуальности данной тематики [1, 9, 8]. По данным отдельных исследований, распространенность ХСН составляет около 2% и с каждым годом неуклонно возрастает. Согласно отечественным исследованиям [7] в старших возрастных группах частота ХСН составляет около 10%.

В настоящее время достижения в клинической генетике связывают с выделением аллелей (вариантов) различных генов, оценкой их частоты и обнаружением связей определенных аллелей с фенотипическими проявлениями, с попыткой выявления прогностических признаков. Получены данные о полиморфизме генов ряда факторов, играющих роль в патогенезе сердечной недостаточности (СН) [2, 11, 12]. Прежде всего, это полиморфизм генов факторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Роль РААС в развитии сердечно-сосудистого ремоделирования хорошо известна [5, 10].

Определение генетических маркеров в кардиологии подвергается интенсивному изучению и исследованию с целью выявления генетического риска и на

основе этого прогнозирования осложнений заболевания до появления клинических проявлений [14, 16, 17]. Однако, имеющиеся в литературе данные клинических исследований о полиморфных вариантах генов, ответственных за развитие сердечно-сосудистых заболеваний, противоречивы [6, 12, 15]. Не изучена прогностическая ценность выявленных полиморфных маркеров генов структурных белков у больных артериальной гипертензией (АГ), отягощенной ХСН. Все это свидетельствует о том, что исследования в данной области являются весьма актуальными и перспективными.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить значимость генетических критериев в прогнозировании течения и повышения эффективности фармакотерапии хронической сердечной недостаточности на фоне артериальной гипертензии с учетом персонализированного подхода на основе комплексного фармакогенетического анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведены генетические исследования у 212 больных с АГ. В соответствии с поставленными задачами все больные были разделены на 2 группы. 1 группу составили 111 больных с ХСН, 2 группу — 101 больной без ХСН. Основным критерием для выделения 2-й группы больных явилось то, что АГ является одной из ведущих причин развития ХСН. Данная группа выступала в качестве группы контроля.

При сборе анамнеза уточнялись факторы риска (ФР): отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям, курение, рассчитывался индекс массы тела (ИМТ), уровень общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой и низкой плотности, триглицеридов, креатинина и глюкозы. Всем больным были выполнены общекли-

нические методы, электрокардиография (ЭКГ), суточное мониторирование ЭКГ, эхокардиография, фармакогенетическое тестирование, проведен анализ фармакотерапии на амбулаторном этапе за 1 год и 5 лет. В сыворотке крови были определены полиморфизмов генов, отвечающих за активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) — AGT: 704, AGT: 521, AGTR1: 1166, AGTR2: 1675, а также полиморфизм гена альфа-аддуктина ADD1: 378 (отражает эффективность проводимой гипотензивной терапии диуретиками в виде снижения риска развития инсульта и инфаркта миокарда), полиморфизм гена цитохром P450 CYP11B2: -344 как маркера солезависимой гипертензии, раннего острого инфаркта миокарда (ОИМ); полиморфизм гена GNB3: 825 (предрасполагает к развитию гипертрофии левого желудочка и артериальной гипертензии); полиморфизм гена NOS3: -786 (как фактора риска стенокардии), и полиморфизм гена NOS3: 894 (повышает риск преэклампсии, сердечно-сосудистых заболеваний). Распределение частот встречаемости генотипов изучаемых полиморфизмов генов при ХСН и в группе контроля соответствовало ожидаемому по равновесию Харди–Вайнберга.

Группы с генетическими исследованиями различались по возрастным критериям, но были сопоставимы по половой принадлежности. Средний возраст больных в группе с ХСН составил $63,5 \pm 11,6$ лет, в группе без ХСН — $55,1 \pm 2,8$ лет. В группе с ХСН средняя длительность АГ составила $15,1 \pm 9,7$ лет, в группе контроля $4,5 \pm 3,9$ лет.

Средняя длительность ХСН составила $10,5 \pm 6,3$ лет. В группе с ХСН 1 стадия отмечалась у 40 (36%) больных, 2А стадия у 47 (42,3%), 2Б стадия у 24 (21,6%) больных. В зависимости от функциональных классов (ФК) 1 ФК имел место в 34,2%, 2 ФК в 22,5% и 3–4 ФК в 43,2% случаев. Что касается распределения АГ, то в группе с ХСН все пациенты имели АГ 3 стадии, 1 степень встречалась у 34 (30,6%), 2 степень — у 31 (28%), 3 степень — у 46 больных (41,4%). В группе контроля АГ 1 стадии наблюдалась у 19 (18,8%), 2 стадии — у 82 (81,2%), 1 степени — у 63 (62,4%), 2 степени — у 36 (35,6%), 3 степени — у 2 больных (2%). Распределение АГ в группах представлено в табл. 1.

Основной причиной ХСН у 90 (81,1%) больных была ишемическая болезнь сердца (стенокардия напряжения и постинфарктный кардиосклероз (ПИКС)) в сочетании с АГ. Среди других ассоциированных клинических ситуаций выявлены фибрилляция предсердий у 36 (32,4%) больных, сахарный диабет II типа у 21 (18,9%) и перенесенное в анамнезе острое нарушение мозгового кровообращения в 9 (8,1%) случаях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным эхокардиографии в группе с ХСН более существенные изменения в сторону ухудшения прослеживались со стороны конечного систолического размера (КСР), размера левого предсердия (ЛП), фракции выброса (ФВ) левого желудочка, толщины межжелудочковой перегородки (ТМЖП) и локальной сократимости (Е/А). С нарастанием тяжести ХСН конечный диастолический размер (КДР) увеличился на 6%, КСР — на 16%, ЛП — на 21%, толщина задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ) — на 4%, ТМЖП — на 8% на фоне уменьшения ФВ на 13,2% и показателя Е/А на 13%.

При проведении генетического тестирования частота встречаемости полиморфизмов генов у больных с ХСН по сравнению с группой контроля (больные с АГ без ХСН) отличалась. Согласно полученным данным, группа контроля с АГ была более отягощена по генетическим полиморфизмам. Это проявлялось увеличением частоты встречаемости полиморфизмов генов ADD1: 1378 на 12,2%, AGTR1: 1166 на 12,9% и CYP11B2: -344 на 13,3%. Во всех случаях изменения наблюдались со стороны гетерозиготы, а при ADD1: 1378 еще и при сочетании мутации-гомозиготы и гетерозиготы ($p < 0,05$). В группе контроля имеется общая направленность со стороны гетерозиготы в сторону увеличения полиморфизма гена AGT: 521. При ХСН выявлено повышение частоты встречаемости полиморфизма гена AGT: 704 на 8,9%, данная тенденция сохраняется отдельно для мутации-гомозиготы и гетерозиготы. Но статистически значимой разницы при данном показателе не было получено. Можно предположить, что данные результаты по частоте полиморфизмов генов в группах, по-видимому, требуют дальнейшего изучения. Возможно, при ХСН и ее течении имеет значение совокупность генетических полиморфизмов с внешними факторами, а также одновременное сочетание комбинации полиморфизмов генов.

Эффективность лечения больных с ХСН оценивалась на основании клинических рекомендаций по диагностике и лечению ХСН (третий пересмотр, 2010). Оценка соответствия стандарту проводилась с использованием шкалы, разработанной в клинике (А. Л. Хохлов, 2003). Данная шкала учитывала такие критерии как количество применяемых препаратов, дозировку, длительность и своевременность начала фармакотерапии с учетом персонализированного подхода.

Для более углубленной оценки клинической значимости частоты полиморфизмов генов все больные с ХСН были разделены на целевые группы с благоприятным и неблагоприятным течением. Выделение групп было основано на статистическом анализе собственных исследований. Данный анализ был проведен на протяжении амбулаторного этапа за 1 год до госпитализации. Критериями благоприятного течения ХСН явились: отсутствие нарастания симптомов и признаков ХСН и отсутствие госпитализации в течение 1 года, неблагоприятного течения — прогрессирование течения ХСН, увеличение стадии или функционального класса (ФК) ХСН, наличие госпитализации в течение 1 года. Среди представленных критериев для оценки успешности лечения отправ-

Таблица 1

СТРУКТУРА АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ В ГРУППАХ

Характеристика АГ	Группа с ХСН, $n = 111$	Группа без ХСН, $n = 101$	Всего, $n = 212$
1 стадия	—	19 (18,8%)*	19 (9%)
2 стадия	—	82 (81,2%)*	82 (38,7%)
3 стадия	111 (100%)*	—	111 (52,3%)
1 степень	34 (30,6%)	63 (62,4%)*	97 (45,8%)
2 степень	31 (28%)	36 (35,6%)	67 (31,6%)
3 степень	46 (41,4%)*	2 (2%)	48 (22,6%)

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении групп

Таблица 2

**ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ПРИ ХСН
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСПЕШНОСТИ ТЕРАПИИ ПРИ СОБЛЮДЕНИИ СТАНДАРТОВ ЛЕЧЕНИЯ (БОЛЕЕ 80%)
НА АМБУЛАТОРНОМ ЭТАПЕ ЗА 1 ГОД (N = 72)**

Наименование гена	Наличие госпитализации n = 21 (29,2%)	Отсутствие госпитализации, n = 51 (70,8%)	p
ADD1: 1378	5 (23,8%)	14 (27,5%)	0,75
– мутация-гомозигота	1 (4,8%)	—	0,51
– гетерозигота	4 (19%)	14 (27,5%)	0,45
AGT: 704	18 (85,7%)	38 (74,5%)	0,29
– мутация-гомозигота	8 (38,1%)	11 (21,6%)	0,14
– гетерозигота	10 (47,6%)	27 (52,9%)	0,68
AGT: 521	7 (33,3%)	14 (27,5%)	0,61
– мутация-гомозигота	2 (9,5%)	2 (3,9%)	0,34
– гетерозигота	5 (23,8%)	12 (23,5%)	0,97
AGTR1: 1166	9 (42,9%)	12 (23,5%)	0,10
– мутация-гомозигота	1 (4,8%)	—	0,51
– гетерозигота	8 (38,1%)	12 (23,5%)	0,20
AGTR2: 1675	15 (71,4%)	20 (39,2%)	0,01
– мутация-гомозигота	6 (28,6%)	14 (27,5%)	0,92
– гетерозигота	9 (42,9%)	6 (11,8%)	0,003
CYP11B2: -344	14 (66,7%)	35 (68,6%)	0,87
– мутация-гомозигота	3 (14,3%)	12 (23,5%)	0,38
– гетерозигота	11 (52,4%)	23 (45,1%)	0,57
GNB3: 825	12 (57,1%)	20 (39,2%)	0,16
– мутация-гомозигота	1 (4,8%)	7 (13,7%)	0,27
– гетерозигота	11 (52,4%)	13 (25,5%)	0,02
NOS3: -786	19 (90,5%)	42 (82,4%)	0,38
– мутация-гомозигота	11 (52,4%)	15 (29,4%)	0,06
– гетерозигота	8 (38,1%)	27 (52,9%)	0,25
NOS3: 894	6 (28,6%)	24 (47,1%)	0,14
– мутация-гомозигота	—	5 (9,8%)	0,48
– гетерозигота	6 (28,6%)	19 (37,3%)	0,48

ным критерием явилось наличие или отсутствие госпитализации в течение 1 года. Как уже было отмечено выше, этот критерий отражает степень адекватности фармакотерапии и при необходимости ее коррекции (табл. 2).

Как свидетельствуют представленные данные, наличие госпитализации ассоциировано с повышением частоты встречаемости полиморфизма гена AGTR2: 1675 в виде сочетания мутации-гомозиготы и гетерозиготы на 32,2%, а отдельно для гетерозиготы на 31,1% ($p < 0,05$). Аналогичная направленность прослеживалась со стороны гетерозиготы полиморфизма гена GNB3: 825 на 26,9%. Полученные резуль-

таты дают основание считать, что выявленные генетические изменения ассоциируются с недостаточной успешностью фармакотерапии. Выявленные критерии в данной клинической ситуации следует учитывать при коррекции лечения.

Как известно, показателем благоприятного течения ХСН является успешность фармакотерапии ХСН в зависимости от ФК с учетом степени соответствия стандарту. Полученные данные представлены в табл. 3.

Представленные данные свидетельствуют, что успешность лечения не отражает соответствия стандарту фармакотерапии ХСН. С учетом проведенных генетических исследований можно предположить, что подобная динамика ассоциирована с полиморфизмами генов AGTR2: 1675 и GNB3: 825. По-видимому, отмеченные изменения являются определяющими в отсутствии госпитализаций (в 87,5% случаев) при несоответствии стандарту лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно полученным в исследовании данным, у больных с ХСН прогрессирование заболевания сопряжено с повышением частоты встречаемости полиморфизмов генов AGTR2: 1675, CYP11B2: -344, NOS3: -786, AGT: 704, GNB3: 825 и их гетерозигот. Степень успешности фармакотерапии на амбулаторном этапе ассоциируется с повышением на 32,2% частоты полиморфизма гена AGTR2: 1675 в виде сочетания мутации-гомозиготы и гетерозиготы, на 26,9% — полиморфизма GNB3: 825 со стороны гетерозиготы. Выявленные генетические изменения ас-

Таблица 3

**СТЕПЕНЬ УСПЕШНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ
НА АМБУЛАТОРНОМ ЭТАПЕ ЗА 1 ГОД
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СООТВЕТСТВИЯ СТАНДАРТУ
ЛЕЧЕНИЯ (ПО КОЛИЧЕСТВУ ГОСПИТАЛИЗАЦИЙ)
ПРИ ФК ХСН**

ФК ХСН	Соответствие стандарту (>80%)		Несоответствие стандарту (<80%)	
	n	% успешности	n	% успешности
1 ФК ХСН	0/24	100%	0/0	100%
2 ФК ХСН	1/22	95,5%	0/2	100%
3 ФК ХСН	18/24	25%	3/20	83%
4 ФК ХСН	2/2	0%	0/2	100%

Примечание: числитель — количество госпитализаций, знаменатель — количество больных

социруются, по-видимому, с недостаточной успешностью фармакотерапии, что необходимо учитывать при коррекции лечения.

Таким образом, использование генетического тестирования позволяет определить течение хронической сердечной недостаточности, ее прогноз и своевременно с учетом персонализированного подхода провести коррекцию фармакотерапии в соответствии с существующими клиническими рекомендациями и стандартами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атрощенко ЕС. Пациент с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной систолической функцией левого желудочка. Сердечная недостаточность 2007; 8(6): 297–300.
2. Бойцов СА, Кириченко ПЮ, Кузнецов АЕ. и др. Исследование I/D полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента и A/C полиморфизма гена рецепторов I типа ангиотензина II у больных с хронической сердечной недостаточностью различных функциональных классов, развившейся на фоне ИБС. Сердечная недостаточность 2006; 4(2): 98–102.
3. Хохлов АЛ, Яворский АН, Игнатъев ВС, Синицина ОА, Степанов ИО, Воронина ЕА, Мельникова ЮЕ. Культура безопасности лекарственной терапии. Ярославль; 2011.
4. Стародубов ВИ, Каграманян ИН, ред. Оценка медицинских технологий. Международный опыт. М.; 2012.
5. Горбунов ВВ, Кузьмин АГ, Горяинова ЕВ, Кузьмина ОВ. Постинфарктное ремоделирование левого желудочка и дефицит полиненасыщенных жирных кислот. Сердечная недостаточность 2011; 12(4): 212–217.
6. Палова ТВ, Поляков ВП, Дупляков ДВ. и др. Распределение полиморфизмов генов некоторых компонентов системы гемостаза у больных ишемической болезнью сердца. Кардиология 2009; 4(4): 9–13.
7. Агеев ФТ, Беленков ЮН, Фомин ИВ. и др. Распространенность хронической сердечной недостаточности в Европейской части Российской Федерации — данные ЭПОХА-СН. Сердечная недостаточность 2006; 7(1): 112–115.
8. Агеев ФТ, Арутюнов ГП, Беленков ЮН. Хроническая сердечная недостаточность. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
9. Терещенко СН, Ускач ТМ, Акимова ОС, Кочетов АГ. Хроническая сердечная недостаточность в реальной клинической практике. Сердечная недостаточность 2004; 5(1): 9–11.
10. Шляхто ЕВ, Ситникова МО. Современные методы прогноза при сердечной недостаточности. Сердечная недостаточность 2009; 10(6): 322–334.
11. McNamara DM, Tarn SW, Sabolinski ML, et al. Aldosterone synthase promoter polymorphism predicts outcome in African Americans with heart failure: results from the A-HeFT Trial. J Am Coll Cardiol. 2006; 48: 1277–1282.
12. Goldbergova M, Spinarova L, Spinar J, et al. Association of two angiotensinogen gene polymorphisms, M235T and G(-6)A, with chronic heart failure. Int J Cardiol. 2003; 89(2–3): 267–272.
13. Gasas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. Am J Epidemiol. 2006; 164(10): 921–935.
14. Fiuzat M, Bristow MR. Pharmacogenetics in heart failure trials. Heart Fail Clin. 2011; 7(4): 553–559.
15. Holmen OL, Romundstad S, Melien O. Association between the G protein $\beta 3$ subunit C825T polymorphism and the occurrence of cardiovascular disease in hypertensives: The Nord-Trøndelag Health Study (HUNT). Am J Hypertens. 2010; 23(10): 1121–1127.
16. Parsa A, Chang YP, Kelly RJ, Corretti MC, et al. Hypertrophy-associated polymorphisms ascertained in a founder cohort applied to heart failure risk and mortality. Clin Transl Sci. 2011; 4(1): 17–23.
17. Mant J, Doust J, Roalfe A, et al. Systematic review and individual patient data meta-analysis of diagnosis of heart failure, with modelling of implications of different diagnostic strategies in primary care. Health Technol Assess. 2009; 13(32): 1–207.

ОБ АВТОРАХ

ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5.

Хохлов Александр Леонидович. Заведующий кафедрой клинической фармакологии, д-р мед. наук, проф.

Рыбачкова Юлия Владимировна. Ассистент кафедры клинической фармакологии, канд. мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Хохлов Александр Леонидович; alekskhokhlov@yandex.ru

GENETIC TESTING FOR FORECASTING AND COURSE OF THE CHRONIC HEART FAILURE AGAINST THE BACKGROUND ARTERIAL HYPERTENSION

A. L. Khokhlov, Yu. V. Rybachkova

«Yaroslavl State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 150000, Yaroslavl, Russia

Abstract: Traced the impact of genetic testing on the course of chronic heart failure in patients with arterial hypertension. Evaluated the clinical significance of the frequency of gene polymorphisms in patients with the chronic heart failure, depending on the success of treatment. All patients were refined risk factors were performed general clinical methods, electrocardiography (ECG), ECG monitoring, echocardiography, pharmacogenetic testing, analysis of outpatient pharmacotherapy for 1 year and 5 years. The use of genetic testing to determine the course of chronic heart failure, its prognosis and timely in view of the personalized approach to carry out the correction of pharmacotherapy in accordance with existing clinical guidelines and standards.

Key words: genetic testing; polymorphisms of genes; the chronic heart failure; prediction.

For citation: Khokhlov AL, Rybachkova YuV. Genetic testing for forecasting and course of the chronic heart failure against the background arterial hypertension. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 56–60.

REFERENCES

1. Atroschenko ES. Patients with chronic heart failure and preserved left ventricular systolic function. Serdechnaya nedostatochnost 2007; 8(6): 297–300 (in Russian).
2. Boytsov SA, Kirichenko PYu, Kuznetsov AE, et al. Study ID polymorphism of the angiotensin-converting enzyme A/C gene polymorphism in type I receptors of angiotensin II in patients with chronic heart failure of various functional classes, developed on

- the background of coronary artery disease. *Serdechnaya nedostatochnost* 2006; 4(2): 98–102 (in Russian).
3. Khokhlov AA, Yavorsky AN, Ignatiev VS, Sinitsyna OA, Stepanov IO, Voronina EA, Melnikova YuE. Culture of medication safety. Yaroslavl; 2011 (in Russian).
 4. Starodubov VI, Kagramanyan IN, eds. *Health Technology Assessment. International experience*. Moscow; 2012 (in Russian).
 5. Gorbunov VV, Kuzmin AG, Gorbunov EB, Kuzmina OM. Postinfarction remodeling of the left ventricle and the lack of polyunsaturated fatty acids. *Serdechnaya nedostatochnost* 2011; 12(4): 212–217 (in Russian).
 6. Palova TV, Polyakov VP, Duplyakov DV, et al. Distribution of polymorphisms of genes of some components of the hemostatic system in patients with coronary heart disease. *Kardiologiya* 2009; (4): 9–13 (in Russian).
 7. Ageev FT, Belenkov YuN, Fomin IV, et al. Prevalence of chronic heart failure in the European part of the Russian Federation — Data of EPOHA-SN. *Serdechnaya nedostatochnost* 2006; 7(1): 112–115 (in Russian).
 8. Ageev FT, Arutyunov GP, Belenkov YuN. *Chronic heart failure*. Moscow: GEOTAR Media; 2010 (in Russian).
 9. Tereschenko SN, Uskach TM, Akimova OS, Kochetov AG. Chronic heart failure in clinical practice. *Serdechnaya nedostatochnost* 2004; 5(1): 9–11 (in Russian).
 10. Shlyakhto EV, Sitnikova MYu. Modern methods of prognosis in heart failure. *Serdechnaya nedostatochnost* 2009; 10(6): 322–334 (in Russian).
 11. McNamara DM, Tarn SW, Sabolinski ML, et al. Aldosterone synthase promoter polymorphism predicts outcome in African Americans with heart failure: results from the A-HeFT Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48: 1277–1282.
 12. Goldbergova M, Spinarova L, Spinar J, et al. Association of two angiotensinogen gene polymorphisms, M235T and G(-6)A, with chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2003; 89(2–3): 267–272.
 13. Gasas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2006; 164(10): 921–935.
 14. Fiuzat M, Bristow MR. Pharmacogenetics in heart failure trials. *Heart Fail Clin*. 2011; 7(4): 553–559.
 15. Holmen OL, Romundstad S, Melien O. Association between the G protein $\beta 3$ subunit C825T polymorphism and the occurrence of cardiovascular disease in hypertensives: The Nord-Trøndelag Health Study (HUNT). *Am J Hypertens*. 2010; 23(10): 1121–1127.
 16. Parsa A, Chang YP, Kelly RJ, Corretti MC, et al. Hypertrophy-associated polymorphisms ascertained in a founder cohort applied to heart failure risk and mortality. *Clin Transl Sci*. 2011; 4(1): 17–23.
 17. Mant J, Doust J, Roalfe A, et al. Systematic review and individual patient data meta-analysis of diagnosis of heart failure, with modelling of implications of different diagnostic strategies in primary care. *Health Technol Assess*. 2009; 13(32): 1–207.

AUTHORS

«Yaroslavl State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Revolutsionnaya street, 5, Yaroslavl, Russian Federation.
Khokhlov AL. Head of the Department of clinical pharmacology. Doctor of Medical Sciences, professor.
Rybachkova YuV. Assistant of the Department of clinical pharmacology. Candidate of Medical Sciences.

Патентно-информационный поиск при подготовке проектов фармакопейных статей на лекарственные средства

А. А. Елапов, Т. М. Каргина, В. А. Меркулов

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

Статья поступила 23.12.2015 г. Принята к печати 08.02.2016 г.

Резюме: Статья посвящена вопросам применения технологий патентно-информационного поиска с целью подготовки проектов фармакопейных статей на иммунобиологические лекарственные средства. Рассмотрены возможности автоматизированного поиска в массивах базы данных Роспатента или Всемирной организации интеллектуальной собственности. Определены критерии отбора опубликованных патентных документов для включения в выборку документов для определения действующих патентов на изобретения, существенные признаки которых были использованы для подготовки проектов фармакопейных статей. По результатам исследования был сделан вывод о необходимости проведения патентно-информационного поиска и учета его результатов при подготовке проектов фармакопейных статей на иммунобиологические лекарственные препараты, что позволит своевременно получать согласие патентообладателя на публикацию сведений о запатентованных иммунобиологических лекарственных средствах в Государственной фармакопее Российской Федерации.

Ключевые слова: патентно-информационный поиск; фармакопейная статья; иммунобиологические лекарственные препараты.

Библиографическое описание: Елапов АА, Каргина ТМ, Меркулов ВА. Патентно-информационный поиск при подготовке проектов фармакопейных статей на лекарственные средства. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 61–63.

Разработка проекта фармакопейной статьи проводится в соответствии с установленным порядком подготовки и утверждения фармакопейных статей (ФС) и включения их в государственную фармакопею [1].

В соответствии с положениями федерального законодательства в сфере обращения лекарственных средств и подзаконных актов, при подготовке проекта фармакопейной статьи на лекарственное средство, которая будет размещена в Государственной фармакопее, необходима патентная «чистота» информации, указанной в тексте ФС. Существующий порядок разработки ФС устанавливает необходимость своевременного получения согласия владельца исключительного права на объект интеллектуальной собственности на оригинальное лекарственное средство (ЛС) в течение срока действия охранного документа (Приложение к [1]).

Поскольку в XIII издание Государственной фармакопеи впервые вводятся около пятидесяти наименований ФС на иммунобиологические лекарственные препараты (ИЛП) [2], возникла необходимость проверки сведений, включенных в состав проектов ФС, на отсутствие указанных сведений в установленных патентных документах Российской Федерации на оригинальные ИЛП. В связи с этим, возникла необходимость проведения патентно-информационного поиска по выявлению действующих на территории России патентных документов.

При формировании задания на проведение патентно-информационного поиска необходимо наименование ЛС или ИЛП и наименование компаний производителей данного ЛС или ИЛП. По наименованию ЛС проводится их классификация с присвоением индексов действующей редакции Международной патентной классификации (МПК), по которым

определяется область поиска. Для сокращения объема выдачи результатов поиска в поисковой системе необходимо использовать наименование компании-разработчика ЛС. Глубина поиска обычно не превышает 20 лет (срок действия патента на изобретение, в соответствии с положениями части 4 Гражданского кодекса Российской Федерации, составляет 20 лет), однако для продуктов фармацевтических производств возможно продление срока действия патента, но не более чем на 5 лет, что связано с длительной процедурой регистрации ЛС.

Основными объектами патентной охраны для ЛС или ИЛП являются [3]:

- 1) новое химическое соединение, обладающее определенной биологической активностью и являющееся активным началом ЛС;
- 2) способ получения нового химического биологически активного соединения;
- 3) фармацевтическая композиция;
- 4) фармацевтическая комбинация двух и более активных компонентов;
- 5) лекарственное средство в виде определенной лекарственной формы (препарат);
- 6) способ лечения с использованием нового химического биологически активного соединения или композиции на его основе;
- 7) лекарственное средство на основе растительного или животного сырья;
- 8) биологически активные добавки;
- 9) применение веществ, у которых впервые выявлена фармакологическая активность, либо известных лекарственных средств, у которых выявлено новое фармакологическое назначение.

Критерием для включения опубликованного патентного документа в выборку документов, на основе которой будет сформулировано заключение о нали-

ции патентованных средств или методов в тексте проекта фармакопейной статьи на ЛС или ИЛП, является наличие в полном тексте патентного документа сведений, раскрывающих информацию о способе получения ЛС в целом или его активного компонента, составе фармацевтической композиции или препарата, а также о способах определения каких-либо параметров компонентов фармацевтической композиции (качественный и количественный состав компонентов ЛС, их физико-химические свойства).

Таким образом, для получения полной информации о наличии действующего патента на оригинальные ЛС или ИЛП необходимо своевременно выявлять действующие на территории России патентные документы на ЛС или ИЛП. По результатам поиска необходимо своевременно информировать владельца исключительного права на ЛС или ИЛП о включении сведений о патентованном ЛС или ИЛП в официальное издание, а также запрашивать его решение о возможности открытой публикации сведений о патентованном ЛС или ИЛП.

При построении выборки патентных документов принимается во внимание дата первой публикации, в которой описываются все признаки ЛС, изложенные в тексте проекта фармакопейной статьи.

Для проведения автоматизированного патентно-информационного поиска на русском языке по массиву патентных документов Российской Федерации с 1993 года (включительно) можно использовать возможности нескольких патентно-информационных поисковых систем, таких как поисковая система на электронном ресурсе Федерального института промышленной собственности (ФИПС), поисковая система на портале Европейской патентной организации (ЕПО, *EPO*), а также поисковая система на портале Всемирной организации интеллектуальной собственности (ВОИС, *WIPO*). Каждая из указанных патентно-информационных поисковых систем обладает своими специфическими особенностями. Поиск на русском языке поддерживают поисковые системы ФИПС и ВОИС, проводят поиск только по массивам реферативных материалов (библиография и реферат, без учета полного текста) поисковые системы ФИПС (бесплатный гостевой вход) и ЕПО, минимальные возможности проведения автоматизированного анализа найденных патентных документов (представление результатов анализа в табличном или графическом вариантах исполнения) поддерживает поисковая система ВОИС.

Таким образом, процесс осуществления патентно-информационного поиска включает следующие этапы: формулирование задания на проведение поиска; определение предмета поиска (наименование ЛС или ИЛП с учетом назначения); определение области поиска (рубрики международной патентной классификации, отражающие состав, назначение, способы получения ЛС или ИЛП, способы исследования состава или свойств); формирование выборки опубликованных патентных документов из массива найденных документов; анализ полученной выборки, с учетом информации о составе ЛС или ИЛП, способе его получения, а также о владельце исключительного права

на ЛС или ИЛП, и подготовка отчета о проведенном патентно-информационном поиске.

По результатам проведенного поиска всем владельцам действующих патентных документов должны быть направлены письменные сообщения о выявленных патентованных ЛС или ИЛП, сведения о которых необходимо включить в проект ФС на лекарственное средство или иммунобиологический лекарственный препарат. Также в письменные сообщения необходимо включать запрос решения патентообладателя (разработчика) на размещение таких сведений в текстах ФС, размещенных в Государственном фармакопее.

На основании вышеизложенного был проведен патентно-информационный поиск по 48 проектам ФС, подлежащим включению в XIII издание Государственной фармакопеи. Глубина поиска составляла 20 лет (учитывались документы, имеющие дату публикации с 1995 года включительно). По результатам патентного поиска было выявлено 40 действующих патентных документов, в которых описывались ИЛП, способы их производства и определения параметров всей композиции ИЛП, или определения параметров какой-либо части композиции ЛС или ИЛП, а также сведения о подтверждении их терапевтической эффективности.

Полученные результаты можно разделить на две группы:

1. В 25 проектах ФС были использованы сведения, защищенные действующими патентами Российской Федерации.
2. В 23 проектах ФС были использованы сведения о ЛС, патенты на которые прекратили свое действие на территории России.

ВЫВОДЫ

При разработке проектов ФС предварительно необходимо проведение патентно-информационного поиска.

Результаты патентно-информационного поиска необходимо учитывать перед разработкой проекта ФС и своевременно получать согласие патентообладателя на публикацию в Государственной фармакопее Российской Федерации сведений о запатентованных ИЛП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26.08.2010 г. № 756н «Об утверждении порядка разработки общих фармакопейных статей и фармакопейных статей и включения их в государственную фармакопею, а также размещения на официальном сайте в сети «интернет» данных о государственной фармакопее». Available from: <http://www.rg.ru/2010/09/06/poryadok2-dok.html>.
2. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29.10.2015 г. № 771 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей». Available from: <http://static-3.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/028/294/original/%D0%9F%D1%80771.pdf?1446805504>.
3. Семенов ВИ, Лысков НБ. Патентование лекарственных средств в России. Разработка и регистрация лекарственных средств 2014; (6): 144–148.

ОБ АВТОРАХ

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

Елапов Александр Александрович. Заместитель начальника отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности Центра планирования и координации НИР.

Каргина Татьяна Михайловна. Ведущий научный сотрудник Центра фармакопей и международного сотрудничества, канд. биол. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д-р мед. наук, проф.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Каргина Татьяна Михайловна; Kargina@expmed.ru

PATENT INFORMATION RETRIEVAL IN THE PREPARATION OF PHARMACOPEIA ARTICLES ON DRUGS PROJECTS

A. A. Elapov, T. M. Kargina, 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 covers the issues of patent information retrieval technologies for the elaboration of draft pharmacopoeia monographs on immunobiologicals. It describes the opportunities of automated search in the databases of the Russian Federal Agency for Intellectual Property, Patents and Trademarks or the World Intellectual Property Organization. The article defines selection criteria for published patent documents in order to determine current invention patents, the essential features of which were used for the elaboration of draft pharmacopoeia monographs. The results of the study showed the need for patent information retrieval and result recording in the elaboration of draft pharmacopoeia monographs on immunobiologicals, which will allow to timely obtain an agreement of a patent holder for publishing information about the patented immunobiological medicines in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Key words: patent information retrieval; pharmacopoeia monograph; immunobiologicals.

For citation: Elapov AA, Kargina TM, Merkulov VA. Patent information retrieval in the preparation of pharmacopoeia articles on drugs projects. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2016; (1): 61–63.

REFERENCES

1. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 756n, 26.08.2010 «On approval of the development of common pharmacopoeia articles and pharmacopoeia articles and their inclusion in the State Pharmacopoeia, as well as posting on the official site in the «Internet» data about the State Pharmacopoeia». Available from: <http://www.rg.ru/2010/09/06/poryadok2-dok.html> (in Russian).
2. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 771, 29.10.2015 «On approval of common pharmacopoeia articles and pharmacopoeia articles». Available from: <http://static-3.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/028/294/original/%D0%9F%D1%80771.pdf?1446805504> (in Russian).
3. Semenov VI, Lyskov NB. Семенов ВИ, Лысков НБ. Patenting of medicines in Russia. Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv 2014; (6): 144–148 (in Russian).

AUTHORS

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

Elapov AA. Deputy Head of Department of publishing activity and intellectual property protection of Center for the planning and coordination of scientific research.

Kargina TM. Leading researcher of Center for pharmacopoeia and international cooperation. Candidate of Biological Sciences.

Merkulov VA. Deputy Director General for the expertise of drugs. Doctor of Medical Sciences, professor.

ВЛАДИМИР КОНСТАНТИНОВИЧ ЛЕПАХИН (к 75-летию со дня рождения)

Владимир Константинович Лепяхин — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, академик Международной академии наук высшей школы, почетный член Королевского колледжа врачей (Лондон).

Закончил 1-й Московский медицинский институт им. И. М. Сеченова в 1964 году. Ассистент кафедры фармакологии 1-го ММИ с 1968 по 1972 год.

С 1972 года начал работу в Фармакологическом комитете Минздрава СССР в качестве ученого секретаря, затем заместителя председателя, а с 1983 по 1995 год — председателя Комитета.

В 1980 году защитил докторскую диссертацию на тему «Фармакокинетические исследования и экспертиза лекарственных средств», в которой обосновал необходимость создания государственного экспертного учреждения.

В 1990 году по его инициативе был организован Всесоюзный научный центр экспертизы лекарственных средств (в 1992 году переименован в Российский государственный центр экспертизы лекарств), первым директором которого он был назначен.

С 1989 по 1992 год работал в Минздраве СССР в должности заместителя министра — начальника Главного управления науки и медицинских технологий. В 1997 году по его инициативе в России был организован Федеральный центр по контролю безопасности лекарств, и В. К. Лепяхин стал его директором.

С 1998 по 2006 год работал в штаб-квартире Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в качестве заместителя и специального советника Генерального директора ВОЗ и руководил кластером «Лекарственные средства и медицинские технологии». С 2006 по 2007 год являлся специальным представителем Генерального директора ВОЗ в Российской Федерации. С сентября 2007 по 2010 год руководил Федеральным центром мониторинга безопасности лекарств.

С 1985 года по настоящее время руководит кафедрой общей и клинической фармакологии Российского университета дружбы народов.

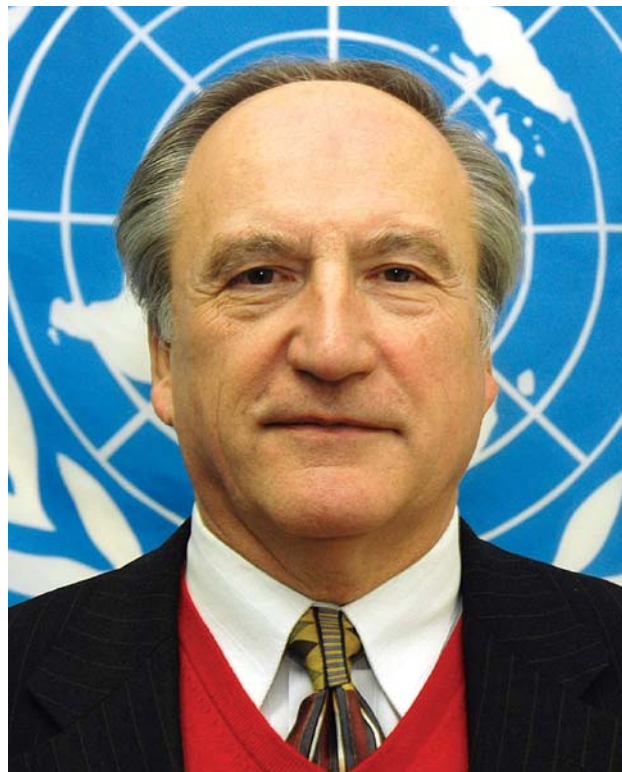
В. К. Лепяхин внес значительный вклад в отечественное и международное здравоохранение.

Труды В. К. Лепяхина посвящены исследованиям новых отечественных и зарубежных фармакологических средств, а также разработке методов и принципов экспериментальных и клинических испытаний.

В 1974 году он в качестве эксперта Всемирной организации здравоохранения принимал участие в разработке и явился одним из основоположников международных стандартов по оценке лекарственных средств (Good Laboratory Practice, Good Clinical Practice). В. К. Лепяхин разработал и внедрил в практику в России современную, отвечающую мировым стандартам, систему испытаний новых лекарственных средств.

В 1997 году им была создана в нашей стране система фармаконадзора, состоящая из Федерального и региональных центров по изучению неблагоприятных побочных реакций на лекарственные средства. Эта система получила высокую оценку ВОЗ, и Россия была официально принята в Программу ВОЗ по международному мониторингу лекарств.

Работая во Всемирной организации здравоохранения, В. К. Лепяхин внес большой вклад в развитие национальных и международных систем контроля



качества и безопасности лекарственных средств во многих странах и регионах мира. Он принимал активное участие в разработке основополагающих документов ВОЗ в этой области («Основные лекарственные средства», «Национальная политика в области лекарственных средств», «Рациональное использование лекарственных средств» и др.).

Большое внимание В. К. Лепяхин уделяет подготовке квалифицированных профессиональных кадров. Он является соавтором первых в нашей стране учебника по клинической фармакологии для студентов (1988) и Руководства по клинической фармакологии для врачей (1994). Под его руководством подготовлено и защищено 6 докторских и 20 кандидатских диссертаций.

Научно-исследовательскую, организационную и педагогическую деятельность он всегда сочетает с активной общественной работой.

В. К. Лепяхин принимал активное участие в работе Президиума АМН СССР, Межведомственного совета по лекарственным средствам, экспертного совета ВАК, ученых советов различных высших учебных заведений и научно-исследовательских институтов, Исполкома ВОЗ, экспертного совета ВОЗ по оценке лекарственных средств. В настоящее время является членом редколлегий различных отечественных и зарубежных журналов, главным редактором журнала «Безопасность и риск фармакотерапии».

Уважаемый Владимир Константинович!

Редакция журнала от имени руководства нашего учреждения и всего трудового коллектива поздравляет Вас с Юбилеем и желает крепкого здоровья и успехов в жизни и трудовой деятельности.

