

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

СОДЕРЖАНИЕ

№1 2013

А.Н. Миронов К читателям	3
-----------------------------------	---

ЭКСПЕРТИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

А.С. Осипов, Е.Б. Нечаева, О.А. Победин Применение ион-парной хроматографии для анализа органических и неорганических примесей в препаратах нитратов изосорбида	4
О.В. Гунар, Г.М. Булгакова, А.С. Колбикова Результаты лабораторной экспертизы качества лекарственных средств по микробиологическим показателям	7
Г.Н. Енгальчева, Р.Д. Сюбаев, А.Н. Васильев, А.А. Снегирева, О.Л. Верстакова Оценка фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях	10
В.П. Бондарев, В.Д. Мосягин, Ю.И. Обухов, В.А. Шевцов, В.Б. Иванов Экспертиза иммунобиологических лекарственных препаратов: совре- менное состояние и проблемы	14

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

А.Н. Васильев, В.В. Писарев, М.М. Уляшова, А.С. Насонов, Т.А. Посредникова Актуальные аспекты планирования дизайна исследований биоэквива- лентности препаратов алендроновой кислоты.	17
Д.П. Ромодановский, Д.В. Горячев Актуальные аспекты планирования дизайна исследований биоэквива- лентности препаратов аторвастатина	22

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

Н.В. Шалунова, В.А. Меркулов, А.В. Комратов, Е.М. Петручук, И.С. Семе- нова, А.Р. Волгин, Г.А. Трусов Требования к клеточным культурам, используемым для производства и контроля качества иммунобиологических лекарственных препаратов	28
А.Н. Васильев, Е.В. Гавришина, Р.Р. Ниязов Критерии оценки возможности перевода лекарственных препаратов в безрецептурный отпуск	33
И.А. Лупанова, Л.Б. Стрелкова, Е.В. Ферубко, В.К. Колхир Биотестирование в экспериментальной фармакологии: применение специфических ферментных биотест-систем <i>in vitro</i>	37
М.В. Супотницкий Формула изобретения	41

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАКОПЕЯ

И.В. Сакаева, Е.И. Саканян, Т.Н. Боковой, Л.И. Шишова, Л.А. Стронова К вопросу о разработке проекта ОФС «Отбор проб (выборки) лекар- ственных средств»	45
--	----

ФАРМАКОЭКОНОМИКА

Л.Б. Васькова, Н.В. Романцева Фармакоэкономика – методологическая основа оптимизации управ- ления качеством лекарственной помощи в стационаре	50
И.С. Крысанов, Н.Д. Бунятян Основные принципы моделирования «перехода состояний» в клинико- экономическом анализе.	54

РАЗНОЕ

Международное рабочее совещание ЕМА по вопросам прозрачно- сти клинических исследований	57
Надлежащая фармакопейная практика: современные аспекты развития	60
К сведению авторов	63

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

Главный редактор
А.Н. Миронов

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

Ответственный
секретарь
А.Н. Яворский

Редакторы:
Н.В. Коробов
Л.В. Корсун

Редакционная коллегия:

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

Редакционный совет:

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

Свидетельство о регистрации средства массовой
информации: ПИ № ФС77-44681 от 21 апреля 2011 г.
© Ведомости НЦЭСМП
Адрес: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8
Телефоны: +7 (495) 234-61-04, доб. 3218 (редакция);
625-43-50 (факс); +7 (495) 625-43-42 (секретариат)
E-mail: vedomosti@regmed.ru
http://www.regmed.ru

Подписано в печать 26.03.2013 г.
Формат 60×90/8. Печ. л. 8,0
Бумага мелованная. Печать офсетная
Заказ № 79. Тираж 500 экз.
Отпечатано в ЗАО «Гриф и К»
300062, г. Тула, ул. Октябрьская, 81-а
Тел.: +7 (4872) 47-08-71, тел./факс: +7 (4872) 49-76-96
grif-tula@mail.ru, www.grif-tula.ru



Editor in chief

A.N. Mironov

Deputy chief editors:

N.D. Bunyatyan

V.A. Merkulov

Executive editor

A.N. Yavorskiy

Editors:

N.V. Korobov

L.V. Korsun

Editorial staff:

T.N. Bokovikova

V.P. Bondarev

I.V. Borisevich

V.M. Bulaev

A.N. Vasilyev

A.R. Volgin

M.A. Gorbunov

O.V. Gunar

M.V. Zhuravleva

E.L. Kovaleva

V.G. Kukes

V.K. Lepakhin

N.V. Medunitzyn

A.A. Movsesyan

B.K. Romanov

I.V. Sakaeva

E.I. Sakanyan

R.I. Yagudina

Editorial board:

A.L. Ginzburg (*Moscow*)

I.N. Denisov (*Moscow*)

A.D. Durnev (*Moscow*)

E.E. Zvartau

(*Saint-Petersburg*)

V.V. Zverev (*Moscow*)

I.G. Kozlov (*Moscow*)

A.G. Mulyar (*Moscow*)

V.I. Petrov (*Volgograd*)

V.G. Savchenko (*Moscow*)

H.S. Sayadyan (*Moscow*)

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

R.M. Khaitov (*Moscow*)

V.P. Chekhonin (*Moscow*)

A.N. Mironov

A word to the Reader 3

EXPERT EVALUATION OF MEDICINES

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

Ion-pair chromatography in the analysis of organic and inorganic impurities
in isosorbide nitrates preparations 4

O.V. Gunar, G.M. Bulgakova, A.S. Kolbikova

The results of drug microbiological quality expert evaluation in laboratory 7

G.N. Yengalycheva, R.D. Syubaev, A.N. Vasiliev, A.A. Snegireva, O.L. Verstakova

Drug pharmacological safety evaluation in preclinical studies 10

V.P. Bondarev, V. D. Mosiagin, Y. I. Obukhov, V.A. Shevtsov, V.B. Ivanov

Expert evaluation of immunobiological preparations: current status and
challenges 14

CLINICAL PHARMACOLOGY

A.N. Vasiliev, V.V. Pisarev, M.M. Ulyashova, A.S. Nasonov, T.A. Posrednikova

Current aspects of planning bioequivalence studies design for alendronic
acid preparations 17

D.P. Romodanovsky, D.V. Goryachev

Current aspects of planning bioequivalence studies design for atorvastatin
preparations 22

GENERAL AND TOPICAL ARTICLES

N.V. Shalunova, V.A. Merkulov, A.V. Komratov, E.M. Petruchuk, I.S. Semenova,

A.R. Volgin, G.A. Trousov

Requirements for cell cultures, used for manufacture and quality control of
immunobiological medicines 28

A.N. Vasiliev, E.V. Gavrishina, R.R. Niyazov

Criteria for assessing the possibility of changing drug status from prescription
to over-the-counter 33

I.A. Loupanova, L.B. Strelkova, E.V. Feroubko, V.K. Kolhir

Biotesting in experimental pharmacology: applying specific enzymatic
biotest systems *in vitro* 37

M.V. Supotnitsky

Summary of the invention 41

STATE PHARMACOPOEIA

I.V. Sakaeva, E.I. Sakanyan, T.N. Bokovikova, L.I. Shishova, L.A. Stronova

On the question of elaborating draft General Pharmacopoeia Monograph
«Drug sampling (sample collection)» 45

PHARMACOECONOMICS

L.B. Vas'kova, N.V. Romantseva

Pharmacoeconomics as a methodological basis for optimizing drug
assurance quality management in hospitals 50

I.S. Krysanov, N.D. Bunyatyan

Basic «state-transition» modeling principles in clinical and economical analysis 54

OTHER

EMA international workshop on clinical-trial data and transparency 57

Good Pharmacopoeial Practice: modern aspects of development 60

To Our Authors 63



К ЧИТАТЕЛЯМ

Исходя из прогноза глобальных вызовов XXI века, Россия взяла стратегический курс на ускорение социально-экономического развития. Важным элементом ресурсного обеспечения развития страны является охрана здоровья граждан. В последнее время на высшем уровне государственного управления был принят ряд важнейших документов, определяющих стратегию развития этой сферы: Указ Президента Российской Федерации от 07.05.2012 № 598 «О совершенствовании государственной политики в сфере здравоохранения», Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ, «Стратегия развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года», «Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года», государственная программа Российской Федерации «Развитие здравоохранения».

Учитывая, что адекватное лекарственное обеспечение критически важно для достижения необходимых целей системы здравоохранения — сохранения и укрепления здоровья населения как главной социально-экономической ценности государства, в феврале 2013 года ранее принятый пакет программных документов органов государственной власти был дополнен «Стратегией лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года».

В качестве приоритета государственной политики Российской Федерации Стратегией определено, что «Государственное регулирование обращения лекарственных средств направлено на обеспечение системы здравоохранения только теми лекарственными средствами, которые соответствуют стандартам качества, эффективности и безопасности».

Важное место в системе государственного регулирования обращения лекарственных средств принадлежит ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

Выполняя, в соответствии со статьей 15 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» № 61-ФЗ, роль федерального государственного экспертного бюджетного учреждения по проведению экспертизы лекарственных средств, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России вносит свой вклад в охрану здоровья населения нашей страны:

- путем обеспечения научной экспертизы качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, в том числе биологических лекарственных препаратов, предназначенных для человека;
- путем содействия скорейшему внедрению инноваций, которые делают новые лекарства более эффективными, безопасными и доступными для населения;
- путем представления обществу точной, научно обоснованной информации, необходимой для рационального использования лекарственных средств.

В плане экспертизы качества ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России оценивает фармакопейное качество всех заявленных для государственной регистрации новых лекарственных средств, а также сертифицирует образцы более 1000 зарегистрированных иммунобиологических лекарственных препаратов до начала их медицинского применения, чтобы убедиться, что промышленные серии препаратов по-прежнему отвечают самым высоким стандартам. Этой тематике посвящены статьи по применению хроматографического анализа и микробиологического исследования лекарственных средств.

В плане экспертизы безопасности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России на основе общепризнанной в международном экспертном сообществе концепции эффективно-го управления рисками продолжает развивать программу оценки безопасности лекарственных средств в двух на-

правлениях. В рамках предрегистрационной экспертизы проводится анализ материалов регистрационного досье и выдается заключение о безопасности лекарственного средства. В рамках пострегистрационной экспертизы проводится анализ результатов применения лекарственных средств в широкой медицинской практике и выдается заключение о безопасности лекарственного средства для пациентов и потребителей. Этой тематике посвящены статьи по критериям оценки фармакологической безопасности и разработке научно-обоснованных подходов для перевода лекарственных препаратов в безрецептурный отпуск.

В плане содействия внедрению инноваций ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России предпринимает ряд инициатив для устранения барьеров на пути инновационного развития в области разработки лекарственных средств и содействия модернизации отечественного производства лекарственных средств. В этом направлении активно проводятся исследования по созданию методических и организационных подходов к проведению оценки качества, безопасности и эффективности инновационных лекарственных средств, которые являются результатом использования самых сложных биомедицинских и генно-инженерных технологий. Этой тематике посвящены статьи, обобщающие опыт экспертизы иммунобиологических препаратов, требования к клеточным культурам и разработку формулы изобретения.

Параллельно с концентрацией усилий на инновационных лекарственных средствах продолжается совершенствование методических и организационных подходов к оценке воспроизведенных лекарственных средств. Этой тематике посвящены статьи по особенностям проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов различных групп и по биотестированию в экспериментальной фармакологии.

В плане информации для рационального применения лекарственных средств следует отметить, что она позволяет, с одной стороны, обеспечить сохранение и улучшение здоровья граждан, с другой, обеспечить экономное расходование финансовых средств системы здравоохранения. Этой тематике посвящены статьи по методологическим основам и практическому применению фармакоэкономического анализа в здравоохранении, подготовленные в сотрудничестве с учеными ведущего учебного учреждения нашей страны — Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

В целом, настоящий номер журнала дает читателям возможность расширить представления о многогранной деятельности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, направленной на выполнение задач развития государственной системы контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных препаратов, определенных «Стратегией лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года».



*Главный редактор,
профессор А.Н. Миронов*

ПРИМЕНЕНИЕ ИОН-ПАРНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ОРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ В ПРЕПАРАТАХ НИТРАТОВ ИЗОСОРБИДА

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

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
Osipov@regmed.ru

Резюме: Показана принципиальная возможность использования подвижных фаз, содержащих тетрагексиламмония гидрогенсульфат для разделения нитрит- и нитрат-ионов, в условиях позволяющих использовать нитроэтан для оценки пригодности хроматографической системы при определении органических примесей в препаратах изосорбида мононитрата и изосорбида динитрата. На хроматографической колонке Hypersil ODS было достигнуто лучшее разрешение пиков компонентов анализируемой смеси.

Ключевые слова: ВЭЖХ, изосорбида мононитрат, изосорбида динитрат.

ION-PAIR CHROMATOGRAPHY IN THE ANALYSIS OF ORGANIC AND INORGANIC IMPURITIES IN ISOSORBIDE NITRATES PREPARATIONS

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

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

Abstract: The article substantiates the possibility of using mobile phases containing tetrahexylammonium hydrogensulfate for separating nitrite and nitrate ions, under the conditions that allow to use nitroethane for assessing chromatographic system suitability when detecting organic impurities in isosorbide mononitrate and isosorbide dinitrate. Best results in test mixture components peak resolution were achieved by using Hypersil ODS chromatography column.

Key words: HPLC, isosorbide mononitrate, isosorbide dinitrate.

Лекарственные средства, содержащие изосорбида мононитрат (ИСМН) и изосорбида динитрат (ИСДН), применяются в медицинской практике для лечения сердечной недостаточности. Действующим веществом ИСМН является 5-нитроизомер. Содержание примеси 2-нитроизомера ИСМН, а также ИСДН контролируется в субстанции и лекарственных препаратах ИСМН. При определении примесей в лекарственных препаратах необходимой частью исследования является проверка пригодности хроматографической системы, т.е. подтверждение способности используемой в анализе колонки разделять пики ближайшей примеси и действующего вещества. В соответствующих монографиях ведущих зарубежных Фармакопей на препараты ИСМН и ИСДН для этих целей обычно применяют стандартный образец 2-изомера ИСМН. Следует отметить, что 2-изомер ИСМН мало доступен. Кроме того, является взрывчатым веществом. В отличие от соответствующих эфиров азотной кислоты, нитроалканы невзрывоопасны при обычных условиях и без существенных ограничений поставляются многими фирмами-изготовителями. Ранее было показано, что среди протестированных соединений только нитроэтан наиболее подходит для цели проверки пригодности хромато-

графической системы при анализе препаратов, содержащих ИСМН и ИСДН [1, 3].

В монографиях Европейской и Британской фармакопей контролируется содержание примесей неорганических нитратов в субстанциях и лекарственных формах ИСМН и ИСДН. Содержание неорганических нитратов контролируется также в субстанциях нитроглицерина и пентаэритритила тетранитрата. В отличие от этого, в соответствующих статьях Фармакопеи США содержание примесей неорганических нитратов не контролируется ни в субстанциях, ни в лекарственных формах препаратов из группы органических нитратов. В нормативных документах подавляющее большинство зарегистрированных в Российской Федерации лекарственных препаратов ИСМН и ИСДН контролируется содержание неорганических нитратов. При этом используется методика ТСХ, описанная в Европейской и Британской фармакопеях. Хроматографирование осуществляется на пластинах с силикагелем, подвижная фаза: уксусная кислота — ацетон — толуол (15:30:60). Проявление хроматограмм посредством опрыскивания пластин раствором калия иодида и крахмала с последующей экспозицией в течение 15 мин в ультрафиолетовом свете при 254 нм и регистрацией хроматограмм при видимом свете. Ме-

тодика обладает сравнительно невысокой чувствительностью и, кроме того, не позволяет полностью разделять нитрат- и нитрит-ионы.

Необходимо отметить, что данные ионы обладают значительным поглощением в области 200–210 нм и поэтому могут обнаруживаться УФ-детекторами ВЭЖХ. Собственно сама возможность детектирования органических нитратов обусловлена присутствием в молекулах этих соединений нитрогрупп. Для разделения нитрат- и нитрит-ионов, а также органических нитратов может быть использована ион-парная хроматография с тетраалкиламинами на обращенно-фазовых колонках [4, 5]. Следует отметить, что наиболее рационально было бы использовать одно хроматографическое разделение для анализа примесей органической и неорганической природы в лекарственных препаратах этой группы. Целью данной работы является исследование возможности применения тетрагексиламмония гидрогенсульфата (ТГА) в подвижной фазе для анализа примесей в препаратах органических нитратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для хроматографирования использовали стандартные образцы органических нитратов Европейской фармакопеи. Содержание действующих веществ в стандартах: изосорбида 5-моонитрата – 88,9%, изосорбида 2-моонитрата – 90% изосорбида динитрата – 40%. Работа проводилась с использованием хроматографа «Agilent», серия 1100 (*Agilent Technologies*, США). Хроматографическое разделение проводили на колонках Диасфер-110-С18 150 × 4,6 мм; 5 мкм

(*БиохимМак*, Россия) и Hypersil ODS C18 150 × 4,6 мм; 5 мкм (*Agilent Technologies*, США). Условия хроматографирования: скорость потока – 1 мл/мин, детектирование осуществляли при 215 нм, температура колонок 25 °С. Объем ввода пробы – 20 мкл. В работе использовали нитроэтан и тетрагексиламмоний гидрогенсульфат (*Fluka*, США, Швейцария).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных ранее исследований было показано, что применение подвижных фаз, состоящих из смеси метанола, ацетонитрила и воды, позволяет использовать нитроэтан для оценки пригодности хроматографической системы при определении органических примесей в препаратах ИСМН и ИСДН [1]. На основании этого в данном исследовании применили подвижную фазу следующего состава: 5 мМ ТГА, 10 мМ K_2HPO_4 (рН 6,5) в воде – метанол – ацетонитрил (80:15:5).

При разделении анализируемой смеси на колонке Диасфер-110-С18 времена удерживания соединений составили: 2-изомер ИСМН – 2,50 мин, нитроэтан – 2,85 мин, 5-изомер ИСМН – 3,77 мин, нитрит-ион – 7,35 мин, ИСДН – 16,26 мин, нитрат ион – 18,52 мин. Для колонки Hypersil ODS величины времен удерживания соответственно: 2-изомер ИСМН – 2,67 мин, нитроэтан – 3,06 мин, 5-изомер ИСМН – 4,14 мин, нитрит-ион – 9,11 мин, ИСДН – 19,40 мин, нитрат-ион – 25,03 мин. Величины коэффициента разрешения между близко расположенными пиками приведены в таблице 1. На колонке Hypersil ODS было достигнуто лучшее разрешение (Рис. 1), чем на колонке Диасфер-110-С18.

Таблица 1

РАЗРЕШЕНИЕ МЕЖДУ ПИКАМИ АНАЛИЗИРУЕМЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Наименование хроматографической колонки	Разрешение между пиками нитроэтана и 2-изомера ИСМН	Разрешение между пиками нитроэтана и 5-изомера ИСМН	Разрешение между пиками ИСДН и нитрат иона
Диасфер-110-С18 150 × 4,6 мм; 5 мкм	1,41	3,01	1,43
Hypersil ODS C18 150 × 4,6 мм; 5 мкм	1,70	3,82	3,41

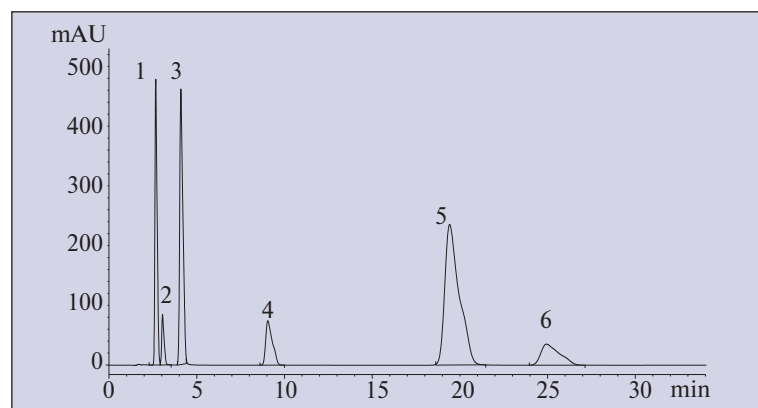


Рис. 1. Хроматограмма разделения смеси органических и неорганических нитратов. Условия анализа: колонка – Hypersil ODS C18 150 × 4,6 мм; 5 мкм.; скорость потока – 1,0 мл/мин; подвижная фаза: 5 мМ ТГА, 10 мМ K_2HPO_4 (рН 6,5) в воде – метанол – ацетонитрил (80:15:5); детектирование при 215 нм. 1 – 2-изомер изосорбида моонитрата; 2 – нитроэтан; 3 – 5-изомер изосорбида моонитрата; 4 – нитрит-ион; 5 – изосорбида динитрат; 6 – нитрат-ион.

ВЫВОДЫ

Показана принципиальная возможность использования подвижных фаз, содержащих ТГА, для разделения нитрит и нитрат-ионов в условиях,

позволяющих использовать нитроэтан для оценки пригодности хроматографической системы при определении органических примесей в препаратах ИСМН и ИСДН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Осипов А.С., Нечаева Е.Б., Дёмина Н.Б. Применение нитроалканов для анализа препаратов нитратов изосорбида // Сборник научных трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». Вып. 64. Пятигорск. 2009. С. 316–318.
2. Осипов А.С., Нечаева Е.А., Орлов Е.Н. Оптимизация условий анализа при определении примесей в препаратах нитратов изосорбида методом ВЭЖХ // Сборник научных трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». Вып. 65. Пятигорск. 2010. С. 363–366.
3. Осипов А.С., Орлов Е.Н. Применение нитроалканов для анализа примесей в лекарственных препаратах нитратов изосорбида методом ВЭЖХ // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2010. № 11. С. 28–32.
4. Осипов А.С., Нечаева Е.Б., Дёмина Н.Б. Применение ион-парной хроматографии для анализа примесей в препаратах органических нитратов // Сборник научных трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». Вып. 63. Пятигорск. 2008. С. 313–316.
5. Осипов А.С., Нечаева Е.Б., Дёмина Н.Б. Применение солей тетраалкиламмониевых соединений для анализа примесей в препаратах органических нитратов методом ВЭЖХ // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2010. № 3. С. 21–24.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

О.В. Гунар, Г.М. Булгакова, А.С. Колбикова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
gunar@regmed.ru

Резюме: В представленной статье авторами показано значение микробиологических испытаний лекарственных средств, обоснована необходимость совершенствования микробиологических методик испытания качества лекарственных средств с учетом современных тенденций их развития. Обсуждаются основные требования к качеству микробиологических исследований.

Ключевые слова: лекарственные средства, стерильность, микробиологическая чистота.

THE RESULTS OF DRUG MICROBIOLOGICAL QUALITY EXPERT EVALUATION IN LABORATORY

O.V. Gunar, G.M. Bulgakova, A.S. Kolbikova

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

Abstract: The article describes the importance of microbiological testing of medicines. It substantiates the necessity to improve the quality of microbiological testing methods in accordance with modern development trends. It also describes basic requirements for microbiological research quality.

Key words: medicines, sterility, microbiological purity.

Одним из аспектов работ при фармацевтической экспертизе качества лекарственных средств (ЛС) являются экспериментальные исследования лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций по таким показателям качества, как «стерильность» и «микробиологическая чистота». Микробиологические показатели являются весьма специализированными, затратными и сложными.

Следует учитывать главную особенность микробиологических анализов: специфику объекта исследования — живого, обладающего индивидуальными свойствам микроорганизма, возможно присутствующего в испытуемых образцах. Кроме того, высокая изменчивость микроорганизмов вынуждает исследователей быть предельно внимательными и аккуратными, ибо цена ошибки — здоровье и жизнь пациента, качество и безопасность выпускаемого препарата или фармацевтической субстанции.

С середины 60-х годов XX столетия после того, как микроорганизмы были обнаружены в ЛС [1, 2], во многих развитых странах разносторонне изучались вопросы микробиологической чистоты лекарственных препаратов (ЛП). Клиницистами того времени доказано, что «лекарственная инфекция», связанная с контаминацией препаратов бактериями и грибами, чрезвычайно опасна, в особенности для новорожденных, ослабленных пациентов, для больных пожилого возраста, с хроническими заболеваниями, а также в результате применения ЛС.

Среди описанных случаев лекарственной инфекции выделяется заражение грибами новорожденных в одном из родов Япони, приведшее к летальному исходу в результате использования контаминированной детской присыпки. Имеются описания кожных заболеваний, вызванных применением медицинского крема, загрязненного патогенным дрожжеподобным грибом *C. albicans* и синегнойной палочкой *P. aeruginosa* [3]. В клинической микробиологии уделялось большое внимание микрофлоре глазных капель, мазей, гелей, контактных линз и растворов для их промывания [4, 5, 6, 7]. Были изучены и доказаны мутагенные, тератогенные и канцерогенные свойства метаболитов разнообразных микроорганизмов, в том числе плесневых грибов.

В связи с актуальностью проблемы микробной загрязненности нестерильных лекарственных средств (НЛС) в 1972 г. были опубликованы рекомендации Всемирной Организации Здравоохранения и Международной Федерации Фармацевтов, содержащие общие принципы к установлению норм, лимитирующих допустимый уровень количественного и качественного состава микрофлоры в ЛС. Во второй половине 20-го века допустимые пределы микробиологической чистоты ЛС и методы количественного и качественного определения микроорганизмов были разработаны и вошли в официальные нормативные документы, в первую очередь в фармакопеи. Сравнительный анализ структуры современных зарубежных фармакопей [8, 9] и действующего издания отечественной фармакопеи [10] показал, что по

**КОЛИЧЕСТВО ИСПЫТАННЫХ СЕРИЙ ЛС
ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ
за 2010–2012 годы**

Таблица 1

Период год	Показатель «Микробиологическая чистота»	Показатель «Стерильность»	Итого	Выявленный брак (%)
2010	1348	749	2097	0,3
2011	1876	340	2216	0,7
2012 (8мес.)	794	302	1096	0,7
Всего	4018	1391	5409	0,6

своей сущности, имеющиеся в ГФ РФ XII изд. ОФС 42-0067-07 «Микробиологическая чистота» и ОФС 42-0066-07 «Стерильность» аналогичны монографиям Европейской и Американской фармакопей. Однако перспективы к гармонизации открыты, а в некоторых случаях необходимы и своевременны. Поэтому сотрудники лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества ЛС (ИЦЭКЛС) и специалисты Испытательного центра экспертизы качества МИБП (ИЦЭК-МИБП) в настоящее время занимаются совершенствованием, научным подтверждением с помощью валидационных процедур, обоснованием вносимых изменений и дополнений в рамках пересмотра и доработки указанных статей.

Необходимо отметить, что проблема качества ЛС по микробиологическим показателям во всем мире долгое время решалась с позиции совершенствования качества отдельных готовых лекарственных средств и технологических процессов производства конкретных препаратов. Однако постоянно растущее разнообразие лекарственных препаратов, появление новых препаратов и лекарственных форм ранее применявшихся лекарственных веществ (трансдермальных терапевтических систем, пленок, аэрозолей и др.), а также выявление разнообразных микроорганизмов-контаминантов ЛС заставляет более детально относиться к методам контроля и более внимательно анализировать результаты испытания, чтобы гарантировать их достоверность, воспроизводимость и доказывать приемлемость используемых методик.

Таким образом, на сегодняшний день качество ЛС по микробиологическим показателям — это часть так называемой фармацевтической системы качества, которая работает в странах ЕС с 2008 года в соответствии с материалами международной конференции по гармонизации требований к регистрации лекарственных средств для человека — ICH Q10.

В нашей стране экспертизу по определению стерильности (за исключением иммунобиологических лекарственных средств) и микробиологической чистоты ЛС с целью их регистрации (перерегистрации) осуществляет ИЦЭКЛС ФГБУ «НЦЭСМП».

В таблице 1 приведены данные, касающиеся количества испытанных серий отечественных и импортных ЛП, за исключением антибиотиков, по показателю «микробиологическая чистота» и «стерильность» в период с августа 2010 года по август 2012 года в лаборатории микробиологии ИЦЭКЛС.

Согласно материалам таблицы, из общего количества 5409 серий, прошедших экспериментальную экспертизу в лаборатории микробиологии за последние 2 года, 74% (4018 серий) ЛС относятся к нестерильным лекарственным средствам (НЛС).

Количество препаратов, не удовлетворяющих требованиям ГФ РФ XII изд., часть 1 и нормативных документов, в среднем не превышает 1%. При этом выявленный процент брака (0,3% в 2010 г. и по 0,7% — в 2011 и 2012 гг.) характеризует качество фармацевтической продукции исключительно по показателю «микробиологическая чистота». По показателю «стерильность» за анализируемый период из 1391 серий не соответствовали требованиям, то есть были нестерильными, 3 серии, что составляет 0,2% за весь период.

Несомненная опасность контаминации доказывает значимость данных показателей и обосновывает особое внимание, предъявляемое к микробиологическому качеству ЛС.

В рамках представленной работы был проведен анализ изученных стерильных лекарственных форм. В таблице 2 приведены данные по различным лекарственным формам препаратов, испытанным по показателю «стерильность».

Материалы таблицы 2 показывают, что за последние два года по показателю «стерильность» анализировали препараты более 1000 серий 16 видов разнообразных лекарственных форм. При этом число поступивших на лабораторную экспертизу по показателю «стерильность» традиционных растворов для инъекций и инфузий составляло 55% и 66% в 2010 и 2011 годах соответственно. В 2011 году несколько сократилось количество суспензий для инъекций, лиофилизатов с растворителем для приготовления раствора для инъекций, концентратов для приготовления инфузий, капель, мазей глазных, субстанций стерильных. В то же время, появились новые лекарственные формы: раствор для перитонеального диализа, раствор гемоконсерванта, имплантат и др.

Все вышесказанное обосновывает необходимость расширения, углубления, а в случаях новых лекарственных форм — детализации подходов к данному виду микробиологического анализа при условии гармонизации используемых методов с ведущими мировыми фармакопеями. Особое внимание необходимо обратить на правила и способы отбора образцов для анализа и условия пробоподготовки мазей, капель, аэрозолей, имплантатов, субстанций.

Таблица 2

**АНАЛИЗ КАЧЕСТВА РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ПРЕПАРАТОВ
ПО ПОКАЗАТЕЛЮ «СТЕРИЛЬНОСТЬ» за 2010–2011 годы**

Лекарственная форма	Количество испытанных серий					
	Отечественные ЛС		Импортные ЛС		Итого	
	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.	серий	%
1. Растворы для инъекции	146	80	205	72	503	46,2
2. Суспензии для инъекций	11	2	18	6	37	3,4
3. Лиофилизат для приготовления раствора для инъекций	41	22	68	15	146	13,4
4. Растворитель для лиофилизата и концентрата	11	6	23	11	51	4,7
5. Раствор для инфузий	35	51	29	21	136	12,5
6. Концентрат для приготовления инфузий	10	9	35	—	54	5,0
7. Капли назальные	6	3	—	2	11	1,0
8. Капли, мази глазные	33	8	21	13	75	6,9
9. Аэрозоли, спреи назальные	—	2	7	3	12	1,1
10. Порошок для приготовления раствора	6	1	—	—	7	0,6
11. Раствор для перитониального диализа	—	—	2	—	2	0,2
12. Раствор гемоконсерванта	—	2	—	—	2	0,2
13. Мазь для местного применения	—	1	—	—	1	0,1
14. Раствор для внутримышечного, наружного применения	3	—	—	1	4	0,3
15. Имплантат	—	—	—	2	2	0,2
16. Субстанции стерильные	17	3	22	4	46	4,2
Всего	319 (43%)	190 (56%)	430 (57%)	150 (44%)	1089	100

Наряду с существующими высокими современными нормативами, определяющими качество лекарственных средств по микробиологическим показателям, в настоящее время продолжают расти требования к качеству самих микробиологических исследований. Получить достоверный результат быстрее, информативнее, надежнее — вот желание производителей, контролеров, экспертов и веление времени. Несомненно, это должно быть отражено в современной фармакопейной документации.

В свете требований ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий», который работает в РФ в качестве национального стандарта с 01.01.2012 г., наи-

более важным аспектом работы является поддержание документации в актуализированном состоянии.

В связи с этим экспертами лаборатории микробиологии ИЦЭКЛС ФГБУ «НЦЭСМП» была проведена работа по актуализации и усовершенствованию ОФС 42-0066-07 «Стерильность» и ОФС 42-0067-07 «Микробиологическая чистота» Государственной Фармакопеи Российской Федерации XII изд. [8]. Полученные экспериментальные данные, включая результаты валидационных процедур, представлены в пояснительных записках к проектам статей «Стерильность» и «Микробиологическая чистота» и представлены на рассмотрение в Центр фармакопеи и международного сотрудничества в установленном порядке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kailings L.O., Ernerfeldt F., Silverstolpe L. Reports to the National Board of Health. Microbiological contamination of medical preparations. Stockholm. 1966.
2. Kailings L.O. Contamination in the manufacture of pharmaceutical products. Secretariat of the European Free Trade Association. Geneva, Switzerland. 1973. P.17–23.
3. Bruck K.A., Nash S., Fooley F.D. et al. Arch. Surg. № 102. 1972. P. 476–482.
4. Butrus S., Klotz S. Curr. Eyes. 1986. № 5(10). P. 745–748.
5. Pitsigavdaki E., Spiropoulou M. Acta microbiologica Hellenica. 1990. № 35. P. 341–348.
6. Pinna A. Ophthalmology. 2001. № 108. P. 1830–1834.
7. Purohit S.S., Saluja A.K., Kakrany H.N. Pharmaceutical Microbiology. Jodpur, Agrobios. 2003.
8. European Pharmacopoeia, 7th ed. European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe. Strasbourg, France. 2010.
9. United States Pharmacopoeia (USP 34–NF 29). Rockville. 2011.
10. Государственная Фармакопея РФ XII изд. Ч. 1. «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». 2008. 704 с.

ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Г.Н. Енгальчева, Р.Д. Сюбаев, А.Н. Васильев, А.А. Снегирева, О.Л. Верстакова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
subaev@regmed.ru

Резюме: Проанализированы международные гармонизированные рекомендации по изучению фармакологической безопасности. Обоснованы принципы формирования системы критериев доклинической оценки безопасности лекарственных средств, учитывающие специфические факторы риска, связанные с влиянием на функцию жизненно важных систем организма.

Ключевые слова: безопасность лекарственных средств, фармакологические исследования, экспертные критерии, фармакологическая безопасность.

DRUG PHARMACOLOGICAL SAFETY EVALUATION IN PRECLINICAL STUDIES

G.N. Yengalycheva, R.D. Syubaev, A.N. Vasiliev, A.A. Snegireva, O.L. Verstakova

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

Abstract: The present article describes the results of analyzing international harmonized guidelines for pharmacological safety studies. It substantiates the principles of formulating drug safety preclinical assessment criteria, considering specific risks, associated with the influence on body systems vital functions.

Key words: drug safety, pharmacological studies, expert criteria, pharmacological safety.

Своим появлением термин «фармакологическая безопасность» обязан клинической практике, которая выявила недооценку фармакологических механизмов в доклинической характеристике безопасности лекарственного средства (ЛС), полученной в рутинных токсикологических исследованиях. Поскольку фармакологические исследования направлены преимущественно на подтверждение специфической фармакологической активности, то есть основного терапевтического эффекта ЛС, исследованиям его фармакологического действия на функциональное состояние организма нередко уделяется меньшее внимание. В то же время, отсутствие достаточной регламентации этого вида исследований в программе доклинического изучения ЛС приводит к редуцированной оценке важных функциональных параметров. Специальные исследования фармакологической безопасности имеют принципиальное значение для прогнозирования риска критичных изменений физиологических функций организма также в связи с тем, что дизайн фармакологического эксперимента предполагает изучение характера и/или механизма нежелательных системных эффектов ЛС в терапевтическом диапазоне доз.

Нежелательные эффекты новых фармакологических веществ у животных и человека могут быть связаны с изменением структурного, биохимического или физиологического статуса организма. Токсикологические исследования традиционно нацелены на выявление структурных и биохимических нарушений, и основное внимание направлено на оценку клинической патологии и гистопатологических изменений внутренних ор-

ганов. Изучение характера и механизма влияния препарата на физиологические функции и функциональное состояние организма при этом может оказаться за рамками исследований безопасности.

В 1990-х регуляторные органы Европы и США признали важность доклинического изучения влияния лекарственных средств на физиологические показатели, что было инициировано клиническими случаями развития жизнеугрожающих эффектов, таких как нарушение функции сердечно-сосудистой системы [18].

Термин «фармакологическая безопасность» (*Safety Pharmacology*) впервые упоминается в проекте руководства *ICH M3* [10] и *ICH S6* [11]. В 2000 году было утверждено Руководство *ICH S7A*, посвященное общим принципам проведения исследований фармакологической безопасности, а в 2005 году — руководство *ICH S7B*, посвященное изучению потенциальных кардиотоксических эффектов ЛС [12, 13]. Согласно вышеуказанным документам, под исследованиями фармакологической безопасности подразумеваются исследования, направленные на изучение потенциальных нежелательных фармакодинамических эффектов нового фармакологического вещества на физиологические функции организма в дозах терапевтического диапазона и выше.

Согласно международным требованиям, исследования фармакологической безопасности проводятся с целью:

- выявления нежелательных фармакодинамических эффектов, которые могут иметь значение для безопасного применения препарата при проведении клинических исследований;

- оценки неблагоприятных эффектов, выявленных в токсикологических или клинических исследованиях;
- изучения механизма развития неблагоприятных эффектов как наблюдавшихся, так и подозреваемых.

Изучение фармакологической безопасности подразделяется на обязательные и дополнительные исследования (таблица 1).

В первую очередь необходимо изучить влияние препарата на жизненно важные системы организма: сердечно-сосудистую, дыхательную и центральную нервную [12, 13, 15]. Это — так называемая основная батарея тестов, которая, согласно международным требованиям, должна быть изучена до первого применения препарата у человека.

Влияние препарата на органы и системы, функция которых может быть временно нарушена без причинения непоправимого вреда организму, является предметом дополнительных исследований. Необходимо отметить, что при рассмотрении конкретных программ клинических исследований изучение влияния ЛС на какую-либо систему может оказаться чрезвычайно важным и потребовать первоочередной оценки (например, влияние на пищеварительный тракт при болезни Крона, функция почек при первичной почечной гипертензии, функция иммунной системы при иммунных патологиях).

Дополнительные исследования фармакологической безопасности проводят в тех случаях, когда:

- препарат принадлежит к определенному химическому классу или фармакотерапевтической группе, для которых известна способность вызывать нежелательные реакции;
- имеются сведения, важные для безопасности применения препарата у человека, полученные:
 - из базового фармакологического исследования;
 - при проведении клинических исследований;
 - из источников фармаконадзора;
 - из источников литературы и пр.

Изучение фармакологической безопасности необходимо проводить для инновационных препаратов, полученных как химическим синтезом, так и биотехно-

логическим путем [12]. Для ЛС, которые разрешены для медицинского применения, необходимость проведения данного вида исследований возникает в случае выявления нежелательных эффектов, или если предполагается применять препарат у новой популяции пациентов, либо изменяется путь введения.

Опыт экспертной работы показывает, что крупные зарубежные фирмы для рассмотрения вопроса о возможности проведения в России клинического исследования в обязательном порядке предоставляют сведения об изучении фармакологической безопасности, которые содержатся в самостоятельном разделе Брошюры исследователя.

Отечественная фармакологическая и токсикологическая школа имеет давние традиции по изучению новых лекарственных препаратов [1, 3, 4, 7]. Ранее для инновационных препаратов в рамках обязательного изучения «общего фармакологического действия» проводили исследования влияния на центральную нервную, дыхательную, сердечно-сосудистую системы. Таким образом, требования о предоставлении сведений об изучении фармакологической безопасности не являются для России принципиально новыми. Однако в последнее время отечественные разработчики зачастую не уделяют должного внимания оценке влияния нового препарата на функцию жизненно важных систем. Это может быть связано с отсутствием отечественных методических документов, регламентирующих проведение исследований фармакологической безопасности [2]. В настоящее время ситуация меняется: новое «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» 2012 г. содержит «Методические рекомендации по разработке плана доклинических исследований лекарственных средств», которые указывают на необходимость при изучении фармакодинамических свойств лекарственного препарата оценивать не только его эффекты, связанные и не связанные с заявленным показанием к применению, но также влияние на сердечно-сосудистую, центральную нервную, дыхательную систему, желудочно-кишечный тракт [6], что соответствует Приказу Минздравсоцразвития России № 750н от 26 августа 2010 г. [5].

Специальные исследования влияния препарата на функцию жизненно важных систем организма («основная батарея тестов») за рубежом проводятся уже давно, и имеется богатая методическая и методологическая база [8, 9, 12–17, 19]. Российские методические документы в настоящее время не содержат указаний о принципах изучения фармакологической безопасности. Отечественные экспериментаторы могут проводить эти исследования в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [6]. В таблице 2 представлен сравнительный анализ используемых методических приемов. Согласно международным требованиям, эти виды исследований являются, как правило, обязательными [12].

Так, согласно международным рекомендациям, эксперименты *in vitro* и *in vivo* по оценке аритмогенного

Таблица 1

ВИДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Исследования	Задачи
Обязательные (основная батарея тестов)	Влияние на жизненно важные системы: <i>сердечно-сосудистую</i> <i>дыхательную</i> <i>центральную нервную</i>
Дополнительные	Углубленное изучение выявленных эффектов Влияние на органы и системы, функции которых могут быть временно нарушены: <i>выделительная</i> <i>желудочно-кишечный тракт</i> <i>прочие</i>

риска фармакологически активной субстанции рассматриваются как взаимодополняющие друг друга требуют обязательного проведения. В отечественной экспериментальной практике данный вид исследований *in vitro* проводят обычно только при скрининге кардиотропных препаратов в рамках первичной оценки их фармакологических свойств. Влияние препарата на артериальное давление и показатели ЭКГ, как правило, являются предметом исследования общетоксического действия и изучаются практически всегда. Однако специальные исследования фармакологической безопасности в условиях телеметрии в России не проводят. Аналогичная ситуация наблюдается в отношении изучения влияния на дыхательную систему: при изучении общетоксического действия оценивают только частоту дыхания. Наиболее приближено к международным стандартам изучение влияния фармакологического вещества на ЦНС. Данный вид исследований также проводится в рамках изучения общетоксического действия, но по используемым тестам соответствует зарубежной практике. Таким образом, отечественные разработчики специальные исследования фармакологической безопасности не проводят. В связи с этим, весьма актуальным является создание отечественных методических документов, содержащих рекомендации по планированию, проведению и оценке исследований фармакологической безопасности.

В соответствии с регламентом экспертизы ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России проводятся оценка безопасности клинических исследований и оценка ожидаемой пользы и возможного риска для медицинского применения лекарственных средств.

При проведении экспертизы [5] необходимо дать оценку адекватности программы и результатов доклинических исследований безопасности, а также представленной заявителем интерпретации результатов исследования.

При оценке научной обоснованности программы доклинических исследований лекарственного препарата необходимо учитывать, что изучение фармакологической безопасности представляет собой самостоятельное исследование, однако в некоторых случаях является частью дизайна:

- токсикологических исследований;
- изучения кинетики препарата;
- клинических исследований др.

При планировании исследований разработчик должен тщательно проанализировать все имеющиеся данные, полученные при изучении как при вторичных фармакодинамических эффектов и в ходе токсикологических исследований, так и клинического применения препарата (если таковое было) и на этом основании оценить риск возникновения неблагоприятных эффектов у человека. Однако на ранних этапах разработки возможен дефицит подобной информации (например, отсутствуют сведения об изучении сравнительного метаболизма). В этих случаях международные руководства рекомендуют использовать более общие подходы.

Исследования фармакологической безопасности включают в себя исследования как *in vitro*, так и *in vivo*. Экспериментальные тест-системы должны быть достаточно чувствительными, обеспечивать адекватность и воспроизводимость полученных результатов. При использовании животных необходимо обосновать также пол, возраст, фармакодинамический ответ, фармакокинетические параметры.

Размер выборки должен быть достаточным для научной интерпретации полученных данных. Рекомендуется использовать путь введения препарата, соответствующий его клиническому применению. Международные документы рекомендуют при изучении фармакологической безопасности обеспечивать экспозицию препарата не ниже, чем при клиническом введении.

Таблица 2

ОСНОВНЫЕ ВИДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ВЛИЯНИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА НА ФУНКЦИЮ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА

Система	Международная практика	Отечественные исследователи
Сердечно-сосудистая	<i>In vitro</i> . Влияние на Нерг-каналы, волокна Пуркинье, изолированные препараты сердца	<i>In vitro</i> . Изолированные препараты сердца
	Обязательный вид исследования	Проводят только при поиске кардиотропных препаратов
	<i>In vivo</i> . АД, ЭКГ на наркотизированных и ненаркотизированных животных (в том числе в условиях телеметрии)	<i>In vivo</i> . АД, ЭКГ
	Обязательный вид исследования	Как правило, оценивают в рамках изучения общетоксического действия
Дыхательная	Частота дыхания, дыхательный объем, насыщение крови кислородом с использованием количественных методик (в том числе в условиях телеметрии)*	Частота дыхания
	Обязательный вид исследования	Как правило, оценивают в рамках изучения общетоксического действия
ЦНС	Двигательная и исследовательская активность, координация движений, рефлексы, температура тела	Двигательная и исследовательская активность, координация движений, рефлексы, температура тела
	Обязательный вид исследования	Оценивают в рамках изучения общетоксического действия

* состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем в телеметрических исследованиях, как правило, проводят одновременно

Требования к диапазону доз следующие. Исследуемый диапазон доз/концентраций должен:

- позволить определить зависимость эффекта от дозы/концентрации;
- обеспечить вероятность обнаружения эффекта изучаемого вещества (при отсутствии эффекта необходимо обоснование выбранных доз).

Дозы, вызывающие нежелательные эффекты, необходимо сравнить с дозами, вызывающими первичные фармакодинамические эффекты.

При отсутствии неблагоприятных эффектов, целесообразно использовать в качестве максимальной ту дозу, которая вызывала нежелательные эффекты в других исследованиях (при соответствующих — пути и длительности введения).

При изучении фармакологической безопасности, как правило, используют однократное введение препарата. Разработчик должен представить обоснование длительности введения, если фармакодинамические эффекты развиваются в результате определенной продолжительности терапии, или если результаты введения повторных доз в доклинических или клинических исследованиях вызывают сомнение в безопасности препарата. Очень важно изучить временной интервал неблагоприятного эффекта — его начало и продолжительность.

Объем выполненных доклинических исследований лекарственного препарата должен быть достаточным для установления его фармакодинамических эффектов, механизма действия и потенциальных побочных действий.

Таблица 3 иллюстрирует международные рекомендации о необходимом объеме изучения фармакологической безопасности в зависимости от стадии клинической разработки препарата.

ВЫВОДЫ

Предлагаемые методологические подходы к изучению фармакологической безопасности позволяют повысить объективность экспериментальной и экспертной оценки безопасности новых лекарственных средств. Необходимость регламентации доклинической оценки фармакологической безопасности обусловлена клинической значимостью и прогностической ценностью этих исследований и, кроме того, отвечает целям гармонизации отечественных и зарубежных требований к безопасности лекарственных средств.

Таблица 3

НЕОБХОДИМЫЙ ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ КЛИНИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ

Стадия разработки	Необходимый объем исследований
До первого применения препарата у человека	Исследования «основной батареи тестов». Влияние на: <i>ЦНС</i> <i>сердечно-сосудистую систему</i> <i>дыхательную систему</i> Дополнительные исследования, если имеются данные о неблагоприятном влиянии на прочие системы и органы
В процессе клинических исследований	Дополнительные исследования фармакологической безопасности проводят для уточнения или объяснения выявленных или подозреваемых неблагоприятных эффектов
Для разрешения медицинского применения	Исследования фармакологической безопасности должны быть проведены в полном объеме Отсутствие каких-либо видов исследований должно быть обосновано

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.И., Машковский М.Д. Фармакологическое исследование нового отечественного антидепрессанта инказана // Фармакол. и токсикол. 1980. № 2. С. 133–137.
2. Енгальцева Г.Н. Сюбаев Р.Д., Верстакова О.Л. «Международные требования к проведению исследований фармакологической безопасности лекарственных средств» // Тезисы XIX РНК «Человек и лекарство», 23–27 апреля 2012. М. С. 501.
3. Каминка М.Э. Рощина Л.Ф., Машковский М.Д. Влияние противогистаминного препарата фенкарола на центральную нервную систему // Фармакол. и токсикол. 1980. № 2. С. 148–153.
4. Машковский М.Д. Современные принципы поисков лекарственных веществ // Журн. Всесоюз. хим. общества, 1070. № 2. С. 132–144.
5. Приказ Минздравсоцразвития России № 750н от 26 августа 2010 г. «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и форм заключения комиссии экспертов по результатам экспертизы лекарственных средств».
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К. 2012. С. 944.
7. Шварц Г.Я. Пармидин – новый антисклеротический и противовоспалительный препарат. Хим.-фарм. журнал. 1977. № 11. С. 139–144.
8. De Ponti F., Poluzzi E., Montanaro N., Organizing evidence on QT prolongation and occurrence of torsades de pointes with non-antiarrhythmic drugs: A call for consensus. 2001. Eur. J. of Clin. Pharmacol. 57 P. 185–209.
9. Haggerty G.C. Strategies for and experience with neurotoxicity testing of new pharmaceuticals. J. Am. Coll. Toxicol. 10:677–687 (1991).
10. ICH M3: Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals, July. 1997.
11. ICH S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (S6), July. 1997.
12. ICH S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals. 2000.
13. ICH S7B: The Non-Clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals. 2005.
14. Irwin S.: Comprehensive observational assessment: 1a. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. Psychopharmacologia (Berl.) 13, 222–257(1968).
15. Mattsson J.L., Spencer P.J. and Albee R.R.: A performance standard for clinical and Functional Observational Battery examinations of rats. J. Am. Coll. Toxicol. 15. 239 (1996).
16. Murphy D.J. Assessments of respiratory function in safety pharmacology. Fundamental and Clinical Pharmacology. 2002. 16. P. 183–196.
17. Porsolt R.D., Lemaire N., Roux S. New perspectives in CNS safety pharmacology. 2002. Fundamental and Clinical Pharmacology. 16. P. 197–207.
18. Vogel H.G. Drug Discovery and Evaluation: Safety And Pharmacokinetic Assays. Springer. 2006. P. 17.
19. Zbienen G. Pharmacological methods in toxicology. Pergamon Press Elmsford. 1979. P. 613.

ЭКСПЕРТИЗА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ

В.П. Бондарев, В.Д. Мосягин, Ю.И. Обухов, В.А. Шевцов, В.Б. Иванов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
mosiagin@expmed.ru

Резюме: Приведено современное состояние и проблемы экспертизы иммунобиологических лекарственных препаратов в Российской Федерации по результатам экспертной работы центра экспертизы и контроля МИБП в 2012 году.

Ключевые слова: центр экспертизы и контроля, экспертиза, ИЛП, МИБП, контроль качества.

EXPERT EVALUATION OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS: CURRENT STATUS AND CHALLENGES

V.P. Bondarev, V.D. Mosiagin, Y.I. Obukhov, V.A. Shevtsov, V.B. Ivanov

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

Abstract: The present article describes current status and challenges of immunobiological preparations expert evaluation in the Russian Federation, according to the results of the Centre for Expert Evaluation and Control of Medical Immunobiological Preparations expert activities in 2012.

Key words: Centre for Expert Evaluation and Control, expert evaluation, Immunobiological Preparations, Medical Immunobiological Preparations, quality control.

Экспертиза качества, эффективности и безопасности большинства иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) осуществляется в Центре экспертизы и контроля МИБП (ЦЭК МИБП) ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (НЦЭСМП). Часть препаратов моноклональных антител, иммуноглобулинов и цитокинов проходит экспертизу в других подразделениях НЦЭСМП.

В штате ЦЭК МИБП, с учетом особенностей оценки качества, эффективности и безопасности различных групп ИЛП (вакцины, анатоксины, интерфероны, аллергены, моноклональные антитела, иммуноглобулины, гетеро- и гомологичные сыворотки, бактериофаги, пробиотики и др.), имеются 3 экспертных управления: экспертизы противобактериальных МИБП, экспертизы противовирусных МИБП, экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов. Оценка качества образцов ИЛП осуществляется в 10 профильных лабораториях испытательного центра экспертизы качества МИБП (испытательный центр).

В целях сокращения сроков экспертизы, повышения ее качества, «прозрачности» работы экспертов, обеспечения взаимодействия с другими структурными подразделениями

ЦЭК МИБП включен в действующую в НЦЭСМП автоматизированную систему документооборота.

В 2012 году в ЦЭК МИБП при участии экспертов других структурных подразделений НЦЭСМП проведена экспертиза по 329 заданиям Минздрава России.

Анализ динамики поступления заданий Минздрава России в ЦЭК МИБП (Рис. 1) свидетельствует о неравномерном поступлении заданий в течение календарного года.

Наибольшее количество обращений приходится на апрель-май, при этом основной дисбаланс приходится на заявителей препаратов-аллергенов, цито-

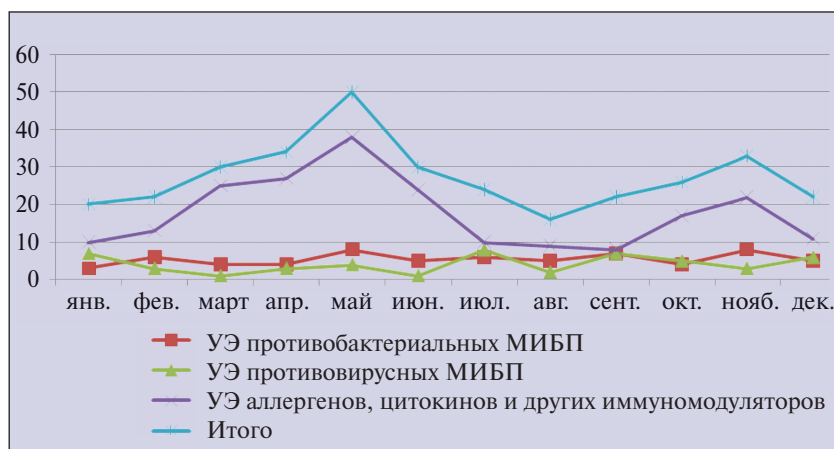


Рис. 1. Динамика поступления заданий Минздрава России в ЦЭК МИБП в 2012 году, абс. ч.

кинов и других иммуномодуляторов. Указанные обстоятельства создают определенные сложности в планировании других видов работы экспертов (научной, методической и др.) и равномерной их загрузки заданиями.

Анализ работ по видам экспертиз показал, что основная часть экспертиз приходится на задания, представленные в целях внесения изменений в документы, содержащиеся в регистрационном досье на зарегистрированный ИЛП (суммарно 53%), рассмотрение материалов по проведению клинических исследований (31%) (Рис. 2).

В структуре видов ИЛП, представленных на экспертизу в рамках заданий Минздрава России в 2012 году, преобладали интерфероны, другие цитокины и моноклональные антитела (МА) — 42%, вакцины бактериальные и вирусные — 24%, иммуноглобулины и препараты крови — 14%.

Структура заданий по группам ИЛП представлена на рисунке 3.

По заданиям Минздрава России в ЦЭК МИБП для проведения лабораторной фармацевтической экспертизы в 2012 году поступили образцы 320 серий ИЛП. Не соответствовали требованиям проекта НД 10 представленных на экспертизу образцов (Табл. 1).

Наибольший процент несоответствий требованиям НД зарегистрирован среди образцов вакцин, не входящих в Национальный календарь прививок (42%) [1].

В вопросах экспертизы ИЛП на сегодняшний день остается ряд проблем, требующих неотложного решения.

Нормативно-правовая база, регламентирующая экспертизу ИЛП в Российской Федерации (Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; Постановления Правительства Российской Федерации; приказы и другие нормативные документы Минздрава России [2–4]; Государственная Фармакопея XI, XII [5, 6], ОФС, ФС), к сожалению, не в полной мере отражает специфику ИЛП. Перечень существующих подзаконных нормативных актов по вопросам разработки и регистрации лекарственных средств (ЛС) весьма ограничен (для примера: только в ЕС более 60 директив по данным вопросам). Прежде всего это относится к вопросам проведения клинических испытаний (ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» [7] не конкретен). Отсутствуют унифицированные нор-

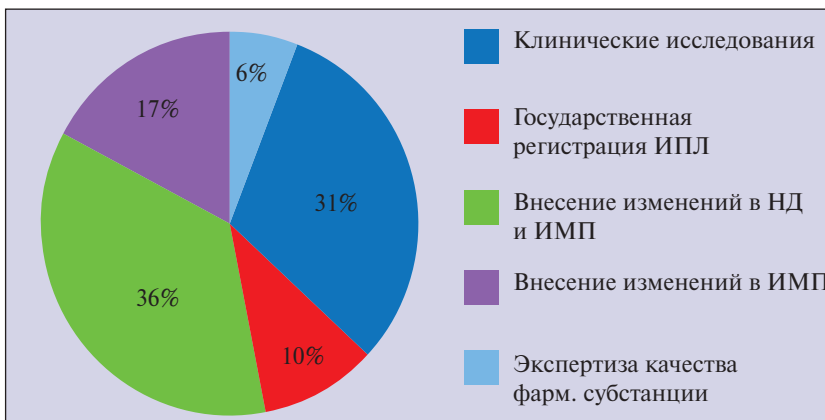


Рис. 2. Виды экспертиз по заданиям Минздрава России в 2012 году

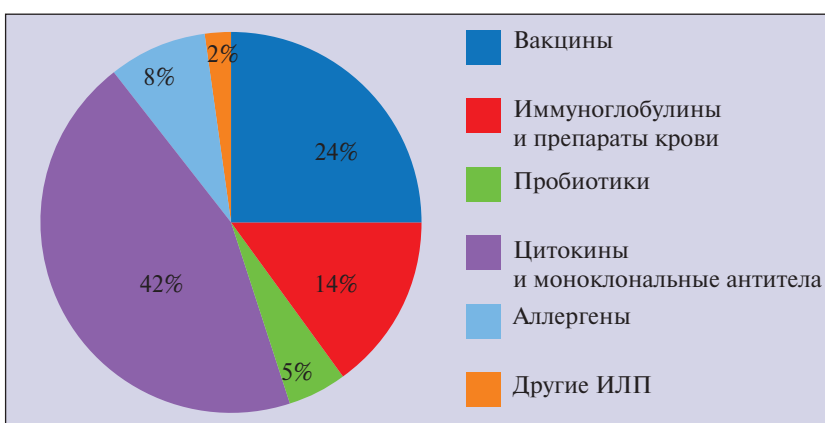


Рис. 3. Виды экспертиз по группам ИЛП

мативные документы, определяющие требования к оформлению и содержанию ФСП и НД.

В связи с этим в деятельности специалистов ЦЭК МИБП существенное место занимает разработка методических документов по проблемам экспертизы ИЛП (руководства, методические рекомендации, инструкции и другие документы).

Так, в 2012 г. НЦЭСМП изданы 2 актуальных для научно-методического обеспечения экспертизы ИЛП руководства [8, 9]. Руководства предназначены для специалистов организаций, которые занимаются доклиническими и клиническими исследованиями эффективности и безопасности ИЛП вне зависимости от их ведомственной принадлежности, юридического статуса и форм собственности. В их создании приняли участие ведущие специалисты, работающие в разных областях теоретической и практической медицины. Вместе с тем, данные документы носят рекомендательный характер.

В настоящее время Минздравом России завершается подготовка проекта изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Такая инициатива была вызвана анализом практики применения действующего закона. Специалисты

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ ОБРАЗЦОВ ИЛП, ПОСТУПИВШИХ В ЦЭК МИБП ПО ЗАДАНИЯМ МИНЗДРАВА РОССИИ в 2012 году

Группы ИЛП	Кол-во испытанных серий, абс.ч.	Кол-во серий, соответствующих требованиям проекта НД, %	Кол-во серий, не соответствующих требованиям проекта НД, %
Вакцины Национального календаря прививок	20	100	-
Другие вакцины	55	58	42
Интерфероны	33	94	6
Аллергены	35	97	3
Иммуноглобулины	59	100	-
Моноклональные антитела	39	95	5
Пробиотики	33	88	12
Бактериофаги	15	100	-
Сыворотки	12	100	-
Анатоксины	16	100	-
Прочие препараты	3	100	-
Итого	320	90	10

ЦЭК МИБП приняли в этом активное участие. Опираясь на более чем 90-летний опыт работы с ИЛП, были предложены:

- изменения в существующие определения — ЛС, ИЛП, воспроизведенное ЛС, эффективность лекарственного препарата, обращение ЛС, международное многоцентровое клиническое исследование, побочное действие ЛС;
- новые понятия — биологические лекарственные препараты, препарат сравнения, биологическое подобное ЛС;
- новые функции Федерального государственного надзора в сфере обращения лекарственных средств;

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 31.01.2011 г. № 51н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».
2. Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
3. Приказ Минздравсоцразвития России от 26.08.2010 г. № 750н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов».
4. Приказ Минздравсоцразвития России от 23.11.2011 г. № 1413н «Об утверждении Методических рекомендаций по содержанию и оформлению необходимых документов, из которых формируется регистрационное досье на лекарственный препарат для медицинского применения в целях его государственной регистрации».
5. Государственная Фармакопея Российской Федерации XII изд. Ч.1. перераб. и доп. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. 704 с.
6. Государственная Фармакопея СССР XI изд. вып.1, 2. М.: Медицина, 1987, 1989.
7. ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика».
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2. М., 2012. 536 с.
9. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2. М., 2012. 212 с.

- мероприятия по оптимизации клинических исследований и государственной регистрации ИЛП;
- уточнения в разделы по производству, приостановлению применения, маркировке, продаже, передаче, хранению, уничтожению ИЛП.

Другими нерешенными вопросами в области экспертизы ИЛП остаются:

- отсутствие четкого механизма сбора и анализа информации о побочных действиях и нежелательных явлениях ИЛП;
- не до конца отработанный механизм проведения дополнительной экспертизы: отсутствие «стоп-клока» проведения экспертизы на период представления заявителем дополнительных материалов, касающихся экспертизы НД; не определено количество возможных запросов экспертов на дополнительные материалы, т.к. в ряде случаев дополнительные материалы представляются не в полном объеме, либо представленная информация не соответствует сути запроса или дублирует ранее представленные материалы; не определен конкретный срок предоставления ответов на запрос экспертов на дополнительные материалы;
- нерешенность вопросов гармонизации требований Российской Федерации по экспертизе ИЛП с требованиями ЕС и США, отсутствие приоритета отечественных нормативных документов, что позволяет, например, отдельным отечественным производителям указывать в своих нормативных документах параметры Европейской фармакопеи, которые в отдельных случаях ниже требований отечественной фармакопеи;
- отсутствие официальных переводов Европейской фармакопеи и Директив ЕС;
- отсутствие четкого определения понятий «отечественное ЛС» и «импортное (зарубежное) ЛС».

Решение указанных проблем позволит повысить качество экспертной работы НЦЭСМП и улучшить лекарственное обеспечение граждан Российской Федерации.

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПЛАНИРОВАНИЯ ДИЗАЙНА ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ПРЕПАРАТОВ АЛЕНДРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

А.Н. Васильев¹, В.В. Писарев², М.М. Уляшова², А.С. Насонов¹, Т.А. Посредникова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
Vasilev@expmed.ru

Резюме: Ранее в исследованиях препаратов алендроновой кислоты для оценки биоэквивалентности использовались данные концентраций алендроната в моче, поскольку из-за низких концентраций алендроната в крови после однократного приема препаратов на тот момент была невозможна точная оценка профиля «концентрация в плазме крови в зависимости от времени». В статье представлен разработанный высокочувствительный и высокоселективный метод ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием для определения алендроната в плазме крови человека, позволивший впервые в России успешно провести исследование биоэквивалентности первого отечественного генерического препарата алендроновой кислоты с использованием в качестве матрицы плазмы крови. Предел количественного определения разработанного метода порядка 0,1 нг/мл обеспечивает точное и достоверное определение в плазме крови добровольцев концентраций алендроната, необходимых для оценки фармакокинетических профилей сравниваемых препаратов алендроновой кислоты после приема их в дозе 70 мг натощак.

Ключевые слова: остеопороз, алендроновая кислота, биоэквивалентность, моча, плазма.

CURRENT ASPECTS OF PLANNING BIOEQUIVALENCE STUDIES DESIGN FOR ALENDRONIC ACID PREPARATIONS

A.N. Vasilev¹, V.V. Pisarev², M.M. Ulyashova², A.S. Nasonov¹, T.A. Posrednikova¹

¹Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

²Lomonosov Moscow State University, Moscow

Abstract: Alendronate concentrations in urine used to be included in alendronic acid studies for bioequivalence assessment, as long as due to low concentrations of alendronate in the blood after single dose administration it was impossible at the time to assess the exact profile «plasma concentration against the time». The present article describes the developed highly sensitive and highly selective HPLC method with mass spectrometric detection for alendronate identification and assay in human plasma, which allowed to successfully conduct the first domestic alendronate generic drug bioequivalence study for the first time in Russia, using blood plasma as a template. The assay limit for the developed method is about 0.1 ng/ml, which provides precise and reliable alendronate plasma concentrations measurements in volunteers, necessary to evaluate the pharmacokinetic profiles of the compared alendronic acid preparations after administration of 70 mg fastin.

Key words: osteoporosis, alendronic acid, bioequivalence, urine, plasma.

Бисфосфонаты широко используются в медицинской практике для профилактики и лечения постменопаузального остеопороза у женщин, тяжелого остеопороза у мужчин и остеопороза, вызванного глюкокортикостероидными препаратами у мужчин и женщин.

Бисфосфонаты представляют собой синтетические аналоги пирофосфатов костного матрикса, устойчивые к действию гидролитических ферментов желудочно-кишечного тракта, и отличаются от них тем, что центральный атом кислорода заменен атомом углерода (P—C—P- вместо P—O—P-связи). В структуру бисфосфонатов входят две боковые цепи, одна из которых содержит ОН-группу, увеличивающую физико-химическое связывание бисфосфонатов с гидроксипатитом кости, а другая определяет биологическое действие данных препаратов на костные клетки [1].

Основным фармакологическим эффектом бисфосфонатов является снижение костного ремоделирования

с более выраженным угнетением костной резорбции, чем костеобразования, а также снижение частоты активации ремоделирования. С одной стороны, за счет этого прочного связывания с минеральным веществом кости бисфосфонаты препятствуют разрушению кристаллов гидроксипатита, придающих прочность кости. Другой аспект действия бисфосфонатов связан с подавлением активности остеокластов — клеток, вызывающих резорбцию костной ткани [2, 3]. Кроме того, бисфосфонаты способствуют увеличению количества остеобластов в губчатой и кортикальной кости, а также снижению секреции остеобластами остеокласт-стимулирующего фактора [4]. Все это способствует восстановлению объема костной ткани, повышению ее прочности и приводит к снижению риска переломов.

Применение данной группы препаратов началось с использования бисфосфонатов I поколения — клодронат, этидронат. В конце 80-х годов стали

применять бисфосфонаты нового поколения, содержащие один атом азота в своей химической структуре, такие, как памидронат, алендронат, ибандронат. Эти азотсодержащие бисфосфонаты оказались более активными ингибиторами костной резорбции, в сравнении с бисфосфонатами первого поколения. Это обусловлено особенностью метаболизма препаратов. В случае не содержащих аминокислот препараты после захвата остеокластами происходит их включение в молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) за счет реакции, осуществляющейся при участии фермента аминокислот-трансферРНК-синтетазы. Внутриклеточное накопление этих негидролизуемых аналогов АТФ оказывает цитотоксическое действие на остеокласты, т.к. они ингибируют ряд АТФ-зависимых биохимических реакций в клетке, что ведет к апоптозу остеокластов. Аминобисфосфонаты имеют принципиально иной механизм действия: проникая в остеобласты, они связываются с ферментом фarnезилпирофосфат синтетазой и подавляют его активность. Данный фермент играет ключевую регулирующую роль в каскаде мевалоновой кислоты, конечным продуктом которого является биосинтез холестерина, а также других стеролов и липидов изопrenoидного ряда. Торможение активности фarnезилпирофосфат синтетазы под влиянием аминобисфосфонатов ведет к нарушению посттрансляционной модификации белков, играющих центральную роль в основных функциях остеокластов, тем самым приводя их к апоптозу [5].

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА АЛЕНДРОНАТА

Одним из наиболее эффективных, широко и длительно применяющихся для лечения остеопороза аминобисфосфонатов является алендроновая кислота (алендронат). Он был разработан компанией «МеркШарп и Доум» (США) и внедрен в клиническую практику в 1993 году под торговым названием Фосамакс.

Абсорбция алендроната в желудочно-кишечном тракте составляет 25%. В доклинических исследованиях на крысах было показано, что адсорбция препарата происходит преимущественно в верхних отделах тонкого кишечника [6].

Как и все другие бисфосфонаты, алендронат характеризуется низкой биодоступностью как у животных, так и человека. При приеме внутрь натощак в диапазоне доз от 5 до 70 мг непосредственно за 2 ч до завтрака биодоступность алендроновой кислоты составляет около 0,7%. Низкая биодоступность бисфосфонатов объясняется очень высокой гидрофильностью их молекул, что препятствует их прохождению через эпителиальный барьер [2, 7].

В доклинических исследованиях на крысах было показано, что адсорбция алендроната при приеме внутрь натощак в 4–5 раз выше, чем после приема

пищи [6]. Влияние пищи на биодоступность алендроната была показана и у здоровых добровольцев [2]. В исследовании у 49 женщин в постменопаузе было показано, что при приеме 10 мг алендроната биодоступность снижается примерно на 40%, если препарат принимали за 0,5–1 ч до завтрака (по сравнению со значениями биодоступности за 2 ч до еды). Одновременный прием алендроната с кофе или с апельсиновым соком приводит к снижению биодоступности примерно на 60%. Прием препарата через 2 ч после еды на биодоступность не влияет [8].

Как было показано в доклинических исследованиях на самцах крыс, после в/в введения в дозе 1 мг/кг алендронат распределяется в мягкие ткани, затем быстро перераспределяется в костную ткань, где происходит его фиксация, либо он выводится с мочой [9]. Концентрация алендроната в плазме крови после однократного приема препарата внутрь в дозе 70 мг достигается через 0,5–2 ч и составляет около 30 нг/мл [10, 11]. У человека объем распределения в равновесном состоянии составляет 28 л.

Алендронат при физиологических pH (7.4) находится в полностью ионизированном состоянии, поэтому он хорошо связывается с белками плазмы крови, связывание составляет около 78%. Основным белком, связывающим алендронат, является сывороточный альбумин.

Алендронат не подвергается в организме человека и животных метаболизму и обнаруживается в моче в неизмененном виде. Процесс выведения характеризуется быстрым снижением концентрации алендроновой кислоты в плазме крови (период полувыведения 1–2 ч) и крайне медленным высвобождением из костей. Поступивший в костную ткань препарат прочно связывается с гидроксипатитом, что определяет его длительное, в течение нескольких лет нахождение в скелете (конечный $T_{1/2}$ превышает 3 года у собак [12] и 10 лет у человека [3, 7]).

БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ ВОСПРОИЗВЕДЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ АЛЕНДРОНАТА

Появление на фармацевтическом рынке многих стран мира, в том числе и Российской Федерации, дженериков (воспроизведенных лекарственных препаратов) алендроната обусловлено несколькими причинами. Во-первых, алендронат является наиболее изученным препаратом для лечения первичного остеопороза у женщин и мужчин, а также вторичного глюкокортикоид-индуцированного остеопороза [13, 14]. Во-вторых, он хорошо переносится пациентами, даже при длительном применении [15]. В-третьих, в 2008 г. истек срок действия патента на оригинальный алендронат (Фосамакс) у фирмы-разработчика. Поэтому в настоящий момент актуальным является оценка качества воспроизведенных препаратов алендроната.

При проведении медико-биологического контроля воспроизведенных лекарственных препаратов основным критерием качества, принятым во всем мире, является их биоэквивалентность оригинальным препаратам. Биоэквивалентность, или фармакокинетическая эквивалентность, определяется как идентичность двух фармацевтически эквивалентных лекарственных средств по основным фармакокинетическим параметрам — максимальной концентрации лекарственного вещества в плазме или сыворотке крови ($C_{\max}$) и площади под фармакокинетической кривой «концентрация—время» (AUC), определяющей биодоступность препарата.

Однако особенности структуры и фармакокинетики алендроната затрудняют определение вещества в биологических жидкостях, особенно в плазме крови. Алендронат, как и все другие бисфосфонаты, чрезвычайно гидрофилен и структурно похож на многие эндогенные фосфорилированные соединения, что делает его селективное извлечение из сыворотки крови очень сложным. Из-за низкой биодоступности препарата, его концентрация в кровотоке очень низкая и после однократного приема в дозе 70 мг не превышает 30 нг/мл. Кроме того, есть и ряд аналитических трудностей. Алендронат является сильно полярным соединением, которое не очень хорошо удерживается на колонках для обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [16]. Алендронат не является летучим соединением, что делает невозможным его определение с использованием газовой хроматографии. Также в его структуре нет сильных хромофоров для высокочувствительного определения с использованием ультрафиолетовой (УФ) или флуоресцентной детекции. Методы ион-парной хроматографии и ионообменной хроматографии были разработаны только для прямого количественного алендроната в фармацевтических препаратах [17-18] и не могут быть использованы для биологических образцов в связи с низкой чувствительностью. Кроме того, молекулы алендроната могут связываться с некоторыми ионами металлов с образованием аддуктов и многократно заряженных комплексов, которые препятствуют определению алендроната с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Согласно рекомендациям Европейского агентства лекарственных средств (EMA) «Guideline on the investigation of bioequivalence» (2010), в качестве замены плазменной концентрации возможно использование данных об экскреции с мочой: при этом в качестве критериев биоэквивалентности применяются показатель A_e (общая экскреция вещества с мочой) и максимальная скорость выведения ($R_{\max}$), однако эта замена должна быть обоснованной. Ранее в исследованиях препаратов алендроната [19] для оценки биоэквивалентности использовались именно данные

концентраций алендроната в моче, поскольку из-за низких концентраций алендроната в крови после однократного приема препаратов на тот момент была невозможна точная оценка профиля «концентрация в плазме/крови — время». Для определения алендроната в моче были разработаны ряд методов ВЭЖХ с УФ или флуоресцентной детекцией. Предварительная дериватизация молекул аналита ортофталевым альдегидом [20], нафталин-2,3-дикарбоксиальдегидом [21] или 9-флуоренилметилхлороформиадом [19, 22] позволили определять алендронат в моче с пределом обнаружения 3–5 нг/мл.

Однако использование параметров выведения препарата с мочой для оценки биоэквивалентности не всегда надежно и имеет ряд недостатков по сравнению с классикой по плазме:

- высокая степень изменчивости, связанная с кумулятивным содержанием выделяемого вещества с мочой, что приводит к необходимости участия в сравнительном исследовании биоэквивалентности большого количества здоровых добровольцев;
- данные по экскреции вещества с мочой нужно собирать как минимум +5 периодов полувыведения, для того чтобы собрать как минимум 97% вещества от введенной однократной дозы;
- данные по моче будут валидными только в том случае, если выделение вещества почками напрямую зависит от его биодоступности.

На сегодняшний день удалось разработать несколько высокочувствительных методов ВЭЖХ для определения алендроната в плазме крови человека. В 2006 г. Yun с соавт. [23], а позже и Ванс соавт. [24] разработали методы ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием, позволяющие определять алендронат в плазме крови человека с пределом обнаружения 1–2 нг/мл. Данные методы успешно использовались для определения фармакокинетических параметров алендроната в плазме крови и оценки биоэквивалентности после перорального приема препаратов в дозе 70 мг. К сожалению, эти методы включают в себя сложные и трудоемкие процедуры подготовки для удаления избытка реагентов для дериватизации или побочных продуктов и имеют низкую селективность.

Tamim с соавт. [25] разработали высокочувствительный и высокоселективный метод ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС) для определения алендроната в плазме крови человека с пределом обнаружения 50,0 пг/мл. Однако никаких подробностей метода в литературе не приводится. Lu с соавт. [26] разработали метод ВЭЖХ-МС для определения алендроната в плазме крови крыс с предварительной дериватизацией аналита триметилсилилдиазетаном. При этом линейный диапазон калибровочной кривой составил только 0,500–100 мкг/мл, что не при-

менимо для определения концентраций алендроната в плазме крови человека для фармакокинетических исследований.

В данной статье мы представляем высокочувствительный метод ВЭЖХ-МС с предварительной твердофазной экстракцией и дериватизацией аналита диазометаном, позволяющий определять алендронат в плазме крови человека с пределом обнаружения 0,1 нг/мл. Подробная методика и ее валидационные характеристики представлены ниже.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЕНДРОНАТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Твердофазная экстракция алендроната из образцов плазмы крови и последующая дериватизация

Для выделения алендроната из плазмы крови использовали анионообменные картриджи для твердофазной экстракции AccuBondSAX, 100 мг, 1 мл (США). Картридж предварительно промывали 1 мл метанола и 2 мл воды. 1 мл плазмы перемешивали на вихревой мешалке vortex, центрифугировали 5 мин при 13000 об/мин и супернатант переносили в картридж. Картридж промывали 1 мл воды и 1 мл метанола, затем наносили на картридж 0,5 мл раствора диазометана в диэтиловом эфире и выдерживали в течение 2 минут. Элюцию проводили 1 мл метанола. Полученный элюат упаривали досуха под вакуумом при 60 °С. Сухой остаток растворяли в 100 мкл раствора ацетонитрил—вода (50:50) и 50 мкл полученного раствора вводили в хроматограф.

Хроматографический анализ

Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» (США) с масс-спектрометрическим детектором (электроспрей). Колонка Luna C18 (2), 5 мкм, 4,6 × 150 мм (США). Температура разделения 400 °С. Скорость потока 0,7 мл/мин. Объем пробы 50 мкл. Подвижная фаза: смесь А и В в соотношении 20% : 80%, где А — ацетонитрил-0,1 М ацетат аммония (90 : 10), В — 0,01 М ацетат аммония. Детектирование проводилось по протонированному молекулярному иону гептаметилпроизводного алендроновой кислоты с m/z 348,1. Фрагментор 30 В, напряжение капилляра 3500 В, температура азота 3500 °С, скорость газа 10,0 л/мин, давление небулайзера 35 psig.

Использовалось автоматическое интегрирование хроматограмм с помощью программного обеспечения Chemstation фирмы «Agilent». Типичные хроматограммы бланковой плазмы крови и плазмы, содержащей алендронат, приводятся на рисунках 1–2.

Количественное определение алендроната

Количественное определение алендроната в образце проводили методом абсолютной калибровки с

использованием программного обеспечения фирмы «Agilent».

Калибровочную кривую получали в результате анализа следующих калибровочных стандартов: 0,10; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 10,00; 25,00 и 50,00 нг/мл. Калибровочные стандарты были приготовлены путем добавки 100 мкл рабочего раствора, содержащего известное количество стандарта алендроната натрия, к 900 мкл бланковой плазмы, не содержащей аналит, до общего объема 1,00 мл. Пробоподготовка и последующая дериватизация калибровочных стандартов проводилась по методике, описанной выше.

Калибровочная зависимость носила линейный характер в диапазоне концентраций 0,10–50,00 нг/мл. График описывался линейным уравнением $Y = mx + b$, где $m = 6,09 \times 10^4$, $b = 1,01 \times 10^3$, коэффициент корреляции составил 0,99991 (Рис. 3).

Аналитические характеристики метода

Воспроизводимость, точность и достоверность результатов анализа количественного определения алендроната в плазме крови человека достигались в диапазоне концентраций 0,10–50,00 нг/мл. Предел обнаружения методики составил 0,10 нг/мл. Степень извлечения алендроната из плазмы крови человека составила $90,6 \pm 3,88 \%$.

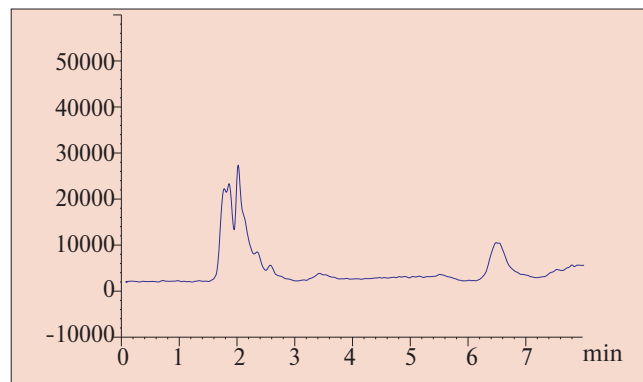


Рис. 1. Типичная хроматограмма бланковой плазмы крови

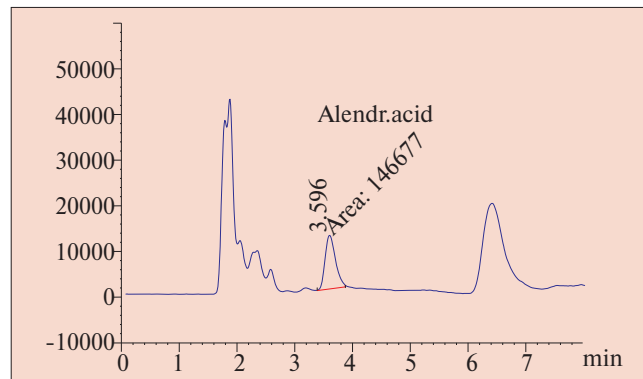


Рис. 2. Хроматограмма плазмы крови, содержащей 4,30 нг/мл алендроната

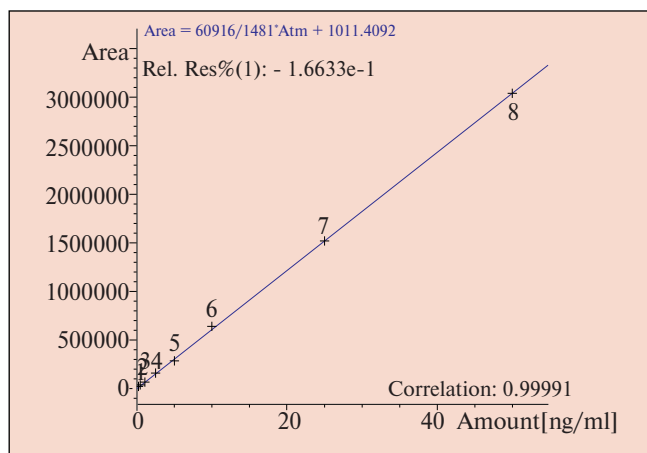


Рис. 3. График калибровочной кривой

ВЫВОДЫ

В статье представлен высокочувствительный и высокоселективный метод ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием для определения алендроната в плазме крови человека, позволивший впервые в России успешно провести исследование биоэквивалентности первого отечественного воспроизведенного препарата алендроновой кислоты с использованием в качестве матрицы плазму крови. Предел количественного определения метода 0,10 нг/мл обеспечивает точное и достоверное определение в плазме крови добровольцев концентраций алендроната, необходимых для оценки фармакокинетических профилей сравниваемых препаратов алендроновой кислоты после приема их в дозе 70 мг.

ЛИТЕРАТУРА

- Шварц Г.Я. Фармакотерапия остеопороза. М.: Медицинское информационное агентство. 2002.
- Lin J.H. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties // Bone. 1996. № 18(2). P. 75–85.
- Gertz B.J., Holland S.D., Kline W.F., Matuszewski B.K., Porras A.G. Clinical pharmacology of alendronate sodium // Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA. 1993. № 3. Suppl 3. P. 13–16.
- Hughes D.E., Wright K.R., Uy H.L., Sasaki A., Yoneda T., Roodman G.D., Mundy G.R., Boyce B.F. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo // Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 1995. № 10. P. 1478–1487.
- Drake M.T., Clarke B.L., Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice // Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic. 2008. № 83(9). P. 1032–1045.
- Lin J.H., Chen I.W., de Luna F.A. On the absorption of alendronate in rats // Journal of pharmaceutical sciences. 1994. № 83(12). P. 1741–1746.
- Fosamax 10 and 70 mg tablets – Summary of Product Characteristics. Merck, Sharp & Dohme. UK. Jan 2007.
- Gertz B.J., Holland S.D., Kline W.F., Matuszewski B.K., Freeman A., Quan H., Lasseeter K.C., Mucklow J.C., Porras A.G. Studies of the oral bioavailability of alendronate // Clinical pharmacology and therapeutics. 1995. № 58(3). P. 288–298.
- Lin J.H., Chen I.W., Duggan D.E. Effects of dose, sex and age on the disposition of alendronate, a potent antioestrogenic bisphosphonate, in rats // Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. 1992. № 20(4). P. 473–478.
- Rhim S.Y., Park J.H., Park Y.S., Lee M.H., Kim D.S., Shaw L.M., Yang S.C., Kang J.S. Bioavailability and bioequivalence of two oral formulations of alendronate sodium 70 mg: an open-label, randomized, two-period crossover comparison in healthy Korean adult male volunteers // Clinical therapeutics. 2009. № 31(5). P. 1037–1045.
- Yun M.H., Woo J.S., Kwon K.I. Bioequivalence and pharmacokinetics of 70 mg alendronate sodium tablets by measuring alendronate in plasma // Archives of pharmaceutical research. 2006. № 29(4). P. 328–332.
- Lin J.H., Duggan D.E., Chen I.W., Ellsworth R.L. Physiological disposition of alendronate, a potent anti-osteolytic bisphosphonate, in laboratory animals // Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. 1991. № 19(5). P. 926–932.
- Polis H.A., Felsenberg D., Hanley D.A., Stepan J., Munoz-Torres M., Wilkin T.J., Qin-sheng G., Galich A.M., Vandormael K., Yates A.J. et al. Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. Fosamax International Trial Study Group // Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA. 1999. № 9(5). P. 461–468.
- Торопцова Н.В., Никитинская О.А., Дёмин Н.В., Беневоленская Л.И. Результаты изучения эффективности ежедневного приема алендроната (Фосамакс®) у больных первичным остеопорозом // Остеопороз и остеопатии. 2006. № 1. С. 22–25.
- Лялина В.В., Дмитриева Е.Г., Корвяков Е.Л. Изучение переносимости алендроната 70 мг (Фосамакс 70 мг один раз в неделю) и причин отмены лечения у больных постменопаузальным остеопорозом в условиях реальной клинической практики // Остеопороз и остеопатии. 2007. № 3(3). С. 31–35.
- Zacharis C.K., Tzanavaras P.D. Determination of bisphosphonate active pharmaceutical ingredients in pharmaceuticals and biological material: a review of analytical methods // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2008. № 48(3). P. 483–496.
- Tsai E.W., Ip D.P., Brooks M.A. Determination of alendronate in pharmaceutical dosage formulations by ion chromatography with conductivity detection // Journal of chromatography. 1992. № 596(2). P. 217–224.
- Xie Z., Jiang Y., Zhang D.Q. Simple analysis of four bisphosphonates simultaneously by reverse phase liquid chromatography using n-amylamine as volatile ion-pairing agent. // Journal of chromatography. 2006. № 1104(1-2). P. 173–178.
- Apostolou C., Dotsikas Y., Kousoulos C., Tsatsou G., Colocouri F., Soumelas G.S., Loukas Y.L. Application of a semi-automated 96-well format solid-phase extraction, column-switching, fluorescence detection protocol for the determination of alendronate in human urine samples obtained from a bioequivalence study // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2007. № 43(3). P. 1151–1155.
- Al Deeb S.K., Hamdan I.I., Al Najjar S.M. Spectroscopic and HPLC methods for the determination of alendronate in tablets and urine // Talanta. 2004. № 64(3). P. 695–702.
- Kline W.F., Matuszewski B.K. Improved determination of the bisphosphonate alendronate in human plasma and urine by automated precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography with fluorescence and electrochemical detection // Journal of chromatography. 1992. № 583(2). P. 183–193.
- Ptacek P., Klima J., Macek J. Determination of alendronate in human urine as 9-fluorenylmethyl derivative by high-performance liquid chromatography // Journal of chromatography B. Analytical technologies in the biomedical and life sciences. 2002. № 767(1). P. 111–116.
- Yun M.H., Kwon K.I. High-performance liquid chromatography method for determining alendronate sodium in human plasma by detecting fluorescence: application to a pharmacokinetic study in humans // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2006. № 40(1). P. 168–172.
- Ban E., Park J.Y., Kim H.T., Kim C.K. Determination of alendronate in low volumes of plasma by column-switching high-performance liquid chromatography method and its application to pharmacokinetic studies in human plasma // Archives of pharmaceutical research. 2011. № 34(12). P. 2079–2086.
- Tamim M.K., Gagne J-F., Nadeau F., Tanguay M., Trabelsi F., Vallee M. Quantitative determination of alendronate sodium in human plasma using a validated LC-MS/MS method: application to clinical pharmacokinetic studies. www.aapsj.org/abstracts/AM_2010/M1500.pdf
- Lu Z., Diehl D., Mazzeo J., Oehrle S.A., Mallet C.R., Young M.S., Chambers E. Methods for separating and analyzing anionic compounds. Patent Application Publication US 2008/0169242 A1. <http://www.fresh-patents.com/Methods-for-separating-and-analyzing-anionic-compounds-dt20080717ptan20080169242.php>

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПЛАНИРОВАНИЯ ДИЗАЙНА ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ПРЕПАРАТОВ АТОРВАСТАТИНА

Д.П. Ромодановский, Д.В. Горячев

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
Romodanovsky@expmed.ru

Резюме: Проанализированы требования органов, контролирующих обращение лекарственных препаратов в различных странах, к проведению исследований биоэквивалентности. Рассмотрены исследования биоэквивалентности воспроизведенных препаратов аторвастатина отечественного и зарубежного производства с целью унификации требований (подходов) к проведению исследований биоэквивалентности аторвастатина в РФ. Это связано с тем, что в настоящее время имеются значительные различия в дизайне планируемых или проведенных исследований (набирается разное количество здоровых добровольцев, определяют концентрацию либо только исходного вещества, либо совместно с активным метаболитом, что имеет непосредственное влияние на результаты исследований). Проведенный анализ позволяет заключить, что рекомендуемым количеством добровольцев для проведения исследований биоэквивалентности аторвастатина должно быть не менее 24 здоровых добровольцев; необходимо определять фармакокинетические параметры как аторвастатина, так и его основного активного метаболита (ортогидроксилированный метаболит).

Ключевые слова: исследование биоэквивалентности, аторвастатин, ортогидроксилированный метаболит аторвастатина.

CURRENT ASPECTS OF PLANNING BIOEQUIVALENCE STUDIES DESIGN FOR ATORVASTATIN PREPARATIONS

D.P. Romodanovsky, D.V. Goryachev

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

Abstract: The article presents the analysis of the requirements for conducting bioequivalence studies certified by the authorities, responsible for the control of drug circulation in different countries. It considers bioequivalence studies of Atorvastatin generic drugs by domestic and foreign manufacturers in order to harmonize the requirements (approaches) to Atorvastatin bioequivalence studies in the Russian Federation. The reason is because at present there are significant differences in planned or completed research design (different number of healthy volunteers involved, concentration is measured only for initial material, or in conjunction with an active metabolite, which impacts directly the results of the studies). The performed analysis allows to infer that the recommended number of volunteers for bioequivalence studies of Atorvastatin should not be less than 24 healthy volunteers. It is necessary to determine the pharmacokinetic parameters for both Atorvastatin and its main active metabolite (hydroxylated metabolite).

Key words: bioequivalence study, Atorvastatin, Atorvastatin ortho-hydroxylated metabolite.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из основных причин высокой смертности в развитых странах являются заболевания сердечно-сосудистой системы. Одним из главных факторов их развития является нарушение липидного обмена. Общеизвестно, что стандартом гиполипидемической терапии в настоящее время являются ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы.

Аторвастатин является одним из наиболее известных и широко применяющихся ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы. В настоящее время регистрируется большое количество воспроизведенных препаратов аторвастатина. Как известно, требованием к регистрации для большинства воспроизведенных препаратов является проведение исследований биоэквивалентности в сравнении с зарегистрированным препаратом аналогом (за исключением препаратов, для которых проведение данного исследования невозможно) [1].

В исследованиях для определения биоэквивалентности после однократного приема исследуемой дозы, параметрами для анализа являются AUC_{∞} (площадь под кривой «концентрация—время» в интервале времени $0-\infty$), или, в соответствующих случаях, $AUC_{72ч}$ (площадь под кривой «концентрация—время» в интервале времени $0-72$ часа) и C_{max} (максимальная концентрация лекарственного вещества). В исследованиях с длительностью отбора проб плазмы крови в течение 72 ч, и где концентрация вещества в 72 часа еще определяется, AUC_{∞} и остаточная площадь не рассчитываются, достаточно определения AUC усеченного на 72 часа, $AUC_{72ч}$. Критерием для установления биоэквивалентности (БЭ) лекарственных препаратов для применения внутрь является отношение фармакокинетических параметров C_{max} и AUC исходного вещества или активного метаболита исследуемого препарата к таковым препарата сравнения, которое должно

лежать в интервале 80,00–125,00% при 90-процентном доверительном интервале. Однако требования к проведению исследований биоэквивалентности аторвастатина несколько различаются в разных странах, главным образом, по критерию необходимости изучения фармакокинетики активных метаболитов.

Регулирующие органы, такие как Американский комитет по контролю за пищевыми продуктами и лекарствами (*Food and Drug Administration – FDA*), Европейское агентство по лекарственным препаратам (*European Medicines Agency – EMA*) и Управление по терапевтическим продуктам Министерства здравоохранения Канады (*Health Canada's Therapeutic Products Directorate – TPD*) обычно рекомендуют, чтобы определялась концентрация исходного вещества [2–5]. Основанием для этой рекомендации является то, что AUC исходного вещества является более чувствительна к изменениям, чем метаболиты, которые в большей степени отражают метаболизм, распределение и выведение. В случае с лекарственными препаратами, чьи метаболиты вносят значительный вклад в безопасность и/или эффективность применения препарата, некоторые регулирующие органы, такие как *FDA* и *TPD* требуют для подтверждения биоэквивалентности определения помимо исходного активного компонента, также определения и метаболитов в качестве дополнительной информации [6]. Так как в ряде случаев активные метаболиты превосходят по своей фармакологической активности исходные вещества, т.е. эффективность и безопасность препарата в большей степени обусловлены концентрацией метаболита, чем концентрацией исходного вещества. Поэтому определение концентрации активных метаболитов может иметь большое клиническое значение. Как известно, аторвастатин метаболизируется в печени изоферментом *CYP3A4* до активных метаболитов: орто- и парагидроксилированные метаболиты аторвастатина. Около 70% ингибирующей активности в отношении ГМГ-КоА-редуктазы связано с этими активными метаболитами. Ортогидроксилированный метаболит аторвастатина преобладает в системном кровотоке по сравнению с парагидроксиметаболитом.

Тем не менее, позиция *EMA* в отношении рассмотрения активных метаболитов для оценки БЭ отличается от позиций *FDA* и *TPD* в отношении того, что требуется только анализ исходного вещества при проведении исследований БЭ. В текущем руководстве *EMA* по проведению исследований БЭ, четко указывается, что $C_{\max}$ исходного соединения, как правило, более чувствительна в обнаружении различий между сравниваемыми препаратами в скорости поглощения, а не $C_{\max}$ метаболита. Также уточняется, что нет необходимости в определении активных метаболитов, если есть возможность определения концентрации исходного вещества.

EMA и *TPD* не имеют специальных общих руководств по проведению исследований БЭ для аторвастатина, т.е. строго регламентирующих необходимость определения концентрации метаболитов аторвастатина или выбор дозы для исследования биоэквивалентности. В руководстве *FDA* по проведению исследований биоэквивалентности для аторвастатина рекомендовано проведение исследования с определением дополнительно активных метаболитов (орто- и парагидроксиметаболитов) [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведен анализ 18 отчетов и протоколов исследований биоэквивалентности по материалам дел, поступивших в ФГБУ «НЦЭСМП» Министерства здравоохранения РФ с целью регистрации, на основании результатов исследований биоэквивалентности аторвастатина или с целью получения разрешения на проведение клинических исследований биоэквивалентности за период с 2006 по 2012 г. (Табл. 1, 2, 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проанализировано 18 дел (Табл. 4).

В исследованиях биоэквивалентности изучались дозы аторвастатина – 20, 40 и 80 мг. Выбор различных доз, по всей видимости, обусловлен возможностью метода определения концентраций аторвастатина (четкого обоснования выбора доз для исследований, например в зависимости от линейности фармакокинетики, приведено не было).

Количество здоровых добровольцев в различных исследованиях сильно варьировало от 18 и более, однако в большинстве случаев количество здоровых добровольцев или было равно 24 или превышало данное значение. В связи с этим можно судить о целесообразности проведения исследований биоэквивалентности у 24 добровольцев или больше. Выбор указанного числа добровольцев был основан на значениях коэффициента вариации аторвастатина в опубликованных исследованиях.

В большинстве случаев длительность забора образцов крови для фармакокинетического анализа была 48 часов и более.

В нескольких исследованиях было указано, что внутрииндивидуальная вариация фармакокинетических показателей ($C_{\max}$, AUC) не превышает 30%, однако в ряде исследований для $C_{\max}$ была показана большая внутрииндивидуальная вариабельность.

Также нами было проанализировано 6 исследований биоэквивалентности аторвастатина по данным литературы и из поисковых систем в интернете (Табл. 5).

По данным литературы можно сделать вывод, что коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности аторвастатина по $C_{\max}$ различен и может превышать 30%. Коэффициент вариации для AUC также раз-

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗА ПЕРИОД с 2006 по 2008 г.

Производитель	Не ЕС	Не ЕС	Россия	Россия	Не ЕС
Рефенс-препарат	Липитор (в России Липримар)	Липитор	Липримар	Липримар	Липитор
Доза	20 мг	80 мг	40 мг	20 мг	40 мг
Количество добровольцев	24	80	18	18	24
Длительность забора образцов плазмы крови/ количество временных точек	24 ч/12	48 ч/21	58 ч/11	36 ч/12	48 ч/16
Период «отмывки»	—	7 дней	7 дней	7 дней	30 дней
Метод определения	ЖХ-МС/МС (жидкостная хроматография с масс-спектрометрией)	-/-	-/-	-/-	-/-
Аторвастатин	+	+	+	+	+
Орто-гидроксид метаболит	—	—	—	—	+
Пара-гидроксид метаболит	—	—	—	—	—
Исследование в 2 этапа (натощак, после еды)	—	—	—	—	—
Вариабельность	—	Указано, что $C_{\max}$ находилось в диапазоне 70–143%, что может говорить о высокой индивидуальной вариабельности	—	Указан коэффициент вариации по данным литературы 12–29%	—

Таблица 1

вариабельность фармакокинетических параметров аторвастатина (AUC и $C_{\max}$).

Количество добровольцев во всех случаях, по данным литературы, было более 24, длительность определения аторвастатина и его метаболитов превышала 48 часов во всех случаях. Дозы исследовались различные — от 20 до 40 мг.

Таким образом, анализ материалов дел поступавших в ФГБУ «НЦЭСМП» с 2006 по 2012 г., а также данных литературы и поисковых систем в интернете, позволяет судить о том, что рекомендуемым количеством добровольцев для исследования биоэквивалентности аторвастатина должно быть не менее 24 (при этом следует принимать в расчет высокую внутрииндивидуальную вариабельность по $C_{\max}$ (более 30%), что может потребовать включения и большего количества добровольцев для

получения статистически значимых результатов). Длительность забора образцов плазмы крови должна быть не менее 48 часов, период отмывки — не менее 7 дней. Определять в плазме крови необходимо не только аторвастатин, но и дополнительно его метаболиты (главным образом ортогидроксиметаболит).

личен, но в большинстве случаев указан как невысокий — менее 30%. Однако «низкий» коэффициент вариации для AUC , по данным литературы, не рекомендуется брать за основу при проведении исследований биоэквивалентности, т.к. в каждом случае необходим индивидуальный подход. Так, по данным Amit Mukharya [14], в исследованиях биоэквивалент-

ности препаратов аторвастатина разных серий было показано, что содержание вспомогательного вещества — полисорбата (Твин® 80) может значительно влиять на фармакокинетику аторвастатина (внутрииндивидуальный коэффициент вариации AUC значительно увеличивался). Поэтому необходимо всесторонне оценивать возможную внутрииндивидуальную

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗА ПЕРИОД с 2008 по 2010 г.

Таблица 2

Производитель	He EC	He EC	He EC	Россия	Россия	He EC
Рефенс-препарат	Липитор	Липитор	Липитор	Липримар	Липримар	Липитор
Доза	40 мг	80 мг	20 мг	20 мг	80 мг	80 мг
Количество добровольцев	82	44	18	18	18	44
Длительность забора образцов плазмы крови/ количество временных точек	48 ч/21	60 ч/17	40 ч/10	48 ч/10	48 ч/10	120 ч/21
Период «отмывки»	7 дней	14 дней	7 дней	7 дней	7 дней	14 дней
Метод определения	ЖХ-МС/МС	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Аторвастатин	+	+	+	+	+	+
Орто-гидрокси метаболит	+	—	—	—	+	+(только наличие)
Пара-гидрокси метаболит	+	—	—	—	—	+(только наличие)
Исследование в 2 этапа (натошак, после еды)	+	—	—	—	—	+
Вариабельность	—	—	—	—	—	—

ВЫВОДЫ

Учитывая, что активные метаболиты аторвастатина обуславливают до 70% ингибирующей активности в отношении ГМГ-КоА-редуктазы и, следовательно, влияют на эффективность и безопасность применения препаратов аторвастатина, можно рекомендовать определение концентрации также и активных метаболитов (главным образом 2-гидроксиметаболита) в дополнение к определению исходного вещества при проведении исследований биоэквивалентности препаратов аторвастатина.

Выбор дозы для исследования биоэквивалентности должен

основываться на особенностях фармакокинетики аторвастатина, в частности, на ее линейности. Согласно инструкции по применению оригинального препарата Липримар® аторвастатин обладает линейной зависимостью между степенью всасываемости и дозой, что говорит в пользу необходимости изучения биоэквивалентности только одной дозы изучаемого препарата. При этом рекомендуется проведение исследования для максимально заявленной дозы препарата, так как двукратное применение аторвастатина здоровыми добровольцами в максимальной суточной дозе 80 мг/сут с длительным интервалом времени

между приемами не связано с каким-либо определенным риском, за исключением развития нежелательных явлений.

Значения внутрииндивидуального коэффициента вариабельности (CV) для C_{max} у аторвастатина достаточно противоречивы, имеются данные, подтверждающие высокую вариабельность (CV C_{max} более 30%), а также сведения о невысокой вариабельности. CV по AUC также различается и в некоторых случаях может превышать 30% (что может быть обусловлено вспомогательными веществами, которые могут оказать влияние на фармакокинетику аторвастатина). Учитывая, что вариабельность по C_{max} и AUC может превышать 30%, необходимо под-

ходить к определению количества добровольцев для достижения 80% мощности исследования более обосновано. Проведенный анализ показал, что в большинстве случаев количество добровольцев превышало 18 человек (в 17 из 24 случаев). Поэтому в исследование биоэквивалентности аторвастатина рекомендуется включение не менее 24 здоровых добровольцев.

Длительность определения концентрации аторвастатина в плазме крови, учитывая данные по фармакокинетике препаратов аторвастатина, должна быть не менее 48 часов, но не превышать 72 часа.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗА ПЕРИОД С 2010 Г. ПО 2012 Г.

Производитель	ЕС (Европейский союз)	Не ЕС	Россия	ЕС	Россия	Россия	ЕС
Рефенс-препарат	Сортис (в России Липримар)	Липримар	Липримар	Липримар	Липримар	Липримар	Липримар
Доза	40 мг	40 мг	20 мг	80 мг	40 мг	40 мг	80 мг
Количество добровольцев	56	18	24	32–64	18	24	92
Длительность забора образцов плазмы крови/ количество временных точек	36 ч/21	60 ч/17	48 ч/10	72 ч/13	48 ч/17	48 ч/10	72 ч/23
Период «отмывки»	7 дней	7 дней	7 дней	7 дней	7 дней	7 дней	7 дней
Метод определения	-//-	-//-	-//-	-//-	-//-	-//-	-//-
Аторвастатин	+	+	+	+	+	+	+
Орто-гидроксид метаболит	+	—	—	+(наличие)	—	—	—
Пара-гидроксид метаболит	—	—	—	+(наличие)	—	—	—
Исследование в 2 этапа (натощак, после еды)	—	—	—	—	—	—	—
Вариабельность	—	AUC =17,5% C _{max} =15%	—	—	—	—	AUC=20– 24%; C _{max} =40– 49%

Таблица 4

ОБОБЩЕННЫЕ ДАННЫЕ

Дозы	Количество добровольцев	Длительность забора образцов крови для анализа	Период «отмывки»
20 мг в 5 случаях (чаще отечественные производители)	18 добровольцев в 7 случаях (чаще отечественные производители);	Менее 48 часов — 4 случая	Чаще всего 7 дней в 14 случаях
40 мг в 7 случаях	24 добровольца в 4 случаях	48 часов — 8 случаев	
80 мг в 6 случаях	Более 24 добровольцев в 7 случаях	Более 48 часов 6 случаев	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение сравнительной биоэквивалентности препаратов аторвастатина, также как и других представителей ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы, должно проводиться не менее чем на 24 здоровых добровольцах в максимальной заявленной дозе исследуемого препарата. Рекомендуется определение не только концентрации аторвастатина, но и его активных метаболитов с длительностью их определения не менее 48 часов и не более 72 часов.

**ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ПРЕПАРАТОВ АТОРВАСТАТИНА
ПО ДАННЫМ ЗАРУБЕЖНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ИЗ ПОИСКОВЫХ СИСТЕМ В ИНТЕРНЕТЕ**

Номер ссылки в списке литературы	Shen Y. et al. [8]	Yan-Mei Liu et al. [9]	Koytchev R. et al. [10]	Kim Y. et al. [11]	Mendosa. et al. [12]	Public Assessment Report Scientific discussion Torvacard [13]
Рефенс-препарат	—	—	—	—	Липитор	Сортис (Липримар)
Доза	20 мг	20 мг	40 мг	20 мг	—	40 мг
Количество добровольцев	24	45	24	52	52	46
Длительность забора образцов плазмы крови/количество временных точек	72 ч/-	48 ч/13	48 ч/-	48 ч/-	72 ч/-	72 ч/18
Период «отмывки»	7 дней	14 дней	7 дней	14 дней	14 дней	—
Метод определения	ЖХ-МС/МС	-//-	-//-	-//-	-//-	-//-
Аторвастатин	+	+	+	+	+	+
Орто-гидроксид метаболит	+	+	—	—	+	+
Пара-гидроксид метаболит	+	—	—	—	—	—
Исследование в 2 этапа (натошак, после еды)	—	—	—	—	—	—
Вариабельность	Интервал для C_{max} 70%–143%, т.е. внутрииндивидуальная вариабельность по C_{max} более 30%	Интервал для C_{max} 70%–143%, т.е. внутрииндивидуальная вариабельность по C_{max} более 30%	Внутрииндивидуальная вариабельность для C_{max} не более 30%	Внутрииндивидуальная вариабельность для C_{max} не более 30%	—	Внутрииндивидуальная вариабельность для C_{max} не более 30%

ЛИТЕРАТУРА

- Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
- European Medicines Agency (2008). Guideline on the investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1).
- US FDA (2000). Guidance on waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. August 2000.
- US FDA (2003) Guidance on bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products – general considerations.
- Health Canada TPD (1992) Guidance for industry on conduct and analysis of bioavailability and bioequivalence studies Part A: Oral dosage formulations used for systemic effects.
- Kuan Gandelman et al. Analytes of Interest and Choice of Dose: Two Important Considerations in the Design of Bioequivalence Studies with Atorvastatin // JBioequiv Availab. 2011. № 3(4). P. 062–068.
- US FDA (2008). Office of generic drugs guidance on atorvastatin calcium.
- Shen Y., Zhang Y.F., Chen X.Y., Guo L.X., Zhong D.F. Pharmacokinetics and bioequivalence of atorvastatin calcium tablets in healthy male Chinese volunteers // Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi. 2012. № 40. P. 243–7.
- Yan-Mei Liu et al. Pharmacokinetics and bioequivalence evaluation of two different atorvastatin calcium 10mg tablets. A single-dose, randomized-sequence, open-label, two-period crossover study in healthy fasted Chinese volunteers // Clin. Therap. 2010. № 32. P. 1396–1407.
- Koytchev R. et al. Bioequivalence study of atorvastatin tablets // Arzneimittelforschung. 2004. № 54. P. 573–7.
- Kim Y. et al. Evaluation of bioequivalence of two atorvastatin tablet formulations after single oral administration in healthy male volunteers // AAPS Journal. 2008. P. 1052.
- Mendosa. et al. Pharmacokinetic and bioequivalence testing of atorvastatin formulations in healthy male volunteers // Pharmazie. 2006. № 61. P. 805.
- Public Assessment Report Scientific discussion. Torvacard. 2005.
- Amit Mukharya et al. Stable and Bio-equivalent Formulation of HMG-CoA reductase inhibitor: Atorvastatin Calcium // International Journal of Pharmaceutical Sciences Letters. 2012. № 2. P. 12–20.

ТРЕБОВАНИЯ К КЛЕТОЧНЫМ КУЛЬТУРАМ, ИСПОЛЬЗУЕМЫМ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Н.В. Шалунова, В.А. Меркулов, А.В. Комратов, Е.М. Петручук,
И.С. Семенова, А.Р. Волгин, Г.А. Трусков

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
Shalunova@bk.ru

Резюме: В статье описываются требования и методы аттестации первичных и перевиваемых клеточных культур, применяемых в качестве субстратов производства и контроля иммунобиологических лекарственных препаратов. Определены задачи по развитию системы создания и аттестации клеточных банков диплоидных и гетероплоидных линий, а также по развитию фондов коллекции клеточных культур.

Ключевые слова: клеточные культуры, диплоидные и гетероплоидные клетки, клеточные банки, иммунобиологические лекарственные препараты.

REQUIREMENTS FOR CELL CULTURES, USED FOR MANUFACTURE AND QUALITY CONTROL OF IMMUNOBIOLOGICAL MEDICINES

N.V. Shalunova, V.A. Merkulov, A.V. Comratov, E.M. Petruchuk, I.S. Semenova, A.R. Volgin, G.A. Trousov

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

Abstract: The present article describes the requirements and methods of certification for primary and continuous cell cultures used as substrates for manufacture and control of immunobiological medicines. The main objectives which include developing the system for elaborating and certifying diploid and heteroploid lines cell banks as well as developing cell culture collection funds have been stated.

Key words: cell cultures, diploid and heteroploid cells, cell banks, immunobiological medicines

Клеточные культуры, культивируемые *in vitro*, начиная с конца 50-х годов прошлого столетия нашли широкое применение в различных областях биологии и медицины. Для производства и контроля иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) применяются первичные и перевиваемые (диплоидные и гетероплоидные) клеточные линии.

Первые требования к оценке качества первичных культур клеток (ПКК), полученных из почек африканских марышек, были опубликованы ВОЗ при разработке и внедрении инактивированной полиомиелитной вакцины [1, 8]. Дальнейшие успехи в борьбе с вирусными заболеваниями, такими как корь, паротит, краснуха, грипп и другие, стали возможными благодаря использованию вакцин, приготовленных в ПКК, полученных из куриных эмбрионов, а также почек и других органов собак, кроликов, хомяков. ПКК легко культивируются в питательных средах и обладают высокой чувствительностью к различным вирусам. Однако они могут быть контаминированы посторонними инфекционными агентами, присущими донору. Контаминация может быть уменьшена предварительным скринингом животных на присутствие вирусов и антител и созданием хозяйств, свободных от патогенной флоры (*SPF*).

Уже в шестидесятые годы прошлого столетия в качестве альтернативы ПКК в качестве субстратов были предложены диплоидные клеточные линии (ДКЛ) человека и животных (например, *WI-38*, *MRC-5*, *FRhL-2* и др.) [2]. Последние представляют собой однородную популяцию перевиваемых клеток с ограниченным сроком жизни и сохраняющую *in vitro* диплоидный кариотип, идентичный донору. Они, как правило, не туморогенны, но более требовательны к составу питательных сред, трудно адаптируются к бессывороточной питательной среде.

Начиная с 80-х годов прошлого столетия наибольшей популярностью стали пользоваться гетероплоидные клеточные линии (ГКЛ), серийно субкультивируемые вследствие спонтанной трансформации первичных клеток. Они легко культивируются в синтетических питательных средах с добавлением сыворотки крупного рогатого скота, могут размножаться в бессывороточной среде, в биореакторах, на микроносителях. ГКЛ имеют неограниченный срок жизни и типичную морфологию, обладают высокой чувствительностью к заражению специфическими агентами, сохраняют стабильность биологических свойств в течение срока, рекомендуемого для производства ИЛП.

Перевиваемые ГКЛ имеют ряд преимуществ перед первичными. Со времени принятия ВОЗ [3]

рекомендаций о безопасности гетероплоидных линий клеток, используемых в качестве субстратов ИЛП, разработаны и внедрены высокочувствительные методы определения различных качественных характеристик клеток по сравнению с первичными клетками, полученными от животных из хозяйств, свободных от патогенной флоры. Более низкая стоимость таких клеток, отсутствие необходимости использования первичных клеток приматов (как, например, при производстве живой полиомиелитной вакцины), простота приготовления и культивирования суспензионных культур в большом объеме, чувствительность к репликации многих инфекционных возбудителей, относительная простота трансфекции плазмидами, содержащими рекомбинантную ДНК, высокая способность к производству рекомбинантных белков, секретируя вирусы в культуральную среду делают эти клетки весьма привлекательным объектом при производстве широкого круга ИЛП.

Разработка системы оценки качества клеточных культур при производстве и внедрении новых ИЛП обусловлена необходимостью обеспечения безопасности субстратов, которые, в первую очередь, должны быть исследованы при доклиническом изучении препаратов.

В научной литературе описан ряд факторов, влияющих на безопасность клеток.

1. Выбор источника клеток — органы и ткани животных и птиц для производства клеточной культуры должны быть получены из хозяйств, свободных от патогенной флоры, в том числе от заболеваний, вызываемых прионами.

2. Условия культивирования.

3. Генетические аномалии донора (в случае, если клеточные линии изначально были получены из тканей человека).

4. Уровень дифференциации клеток и вследствие этого возникающая туморогенность (способность перевиваемых клеточных линий при введении чувствительным животным образовывать опухоли, состоящие из инокулированных клеток) или онкогенность (образование опухолей у чувствительных животных, обусловленных онкогенными компонентами, присутствующими во введенных клетках: ДНК, РНК, трансформирующие белки).

Комитет экспертов ВОЗ определил необходимость представлять подробную характеристику любой перевиваемой линии клеток, аттестованной для производства и контроля биологического продукта [4]. В первую очередь должны быть изложены сведения об ее происхождении, получении, количестве пассажей или удвоений, о ростовых и морфологических свойствах, об отсутствии посторонних агентов. Кроме того, должны быть указаны отличительные признаки, такие как биохимические, ци-

тогенетические, иммунологические свойства, которые бы четко позволяли отличать описываемые клетки от других линий, а также их туморогенную и онкогенную активность, если эти свойства еще не были описаны.

Подобное качество оценки и поддержания клеточных линий обеспечивает система создания клеточных банков, состоящих из однородных клеток, полученных на одном пассажном уровне, в одних и тех же условиях и сохраняемых в емкостях при температуре жидкого азота.

Следующая схема отражает систему создания банков культур клеток:

- выбранная клеточная культура;
- создание мастер-банка посевных клеток;
- создание рабочего банка производителя;
- подготовка и использование производственной культуры.

Характеристика банков клеток должна быть одобрена и зарегистрирована Национальным органом контроля, несущим полную ответственность за их утверждение [3].

При аттестации культур клеток, заложенных в банках, должны быть исследованы:

- история и генеалогия (при получении клеток от эмбриона человека);
- жизнеспособность, культуральные свойства;
- наличие посторонних агентов;
- видовая идентичность клеточной линии;
- туморогенность и / или онкогенность.

При описании истории и генеалогии необходимо представлять Национальным контрольным органам данные, кем и когда получена культура клеток, состояние здоровья донора с указанием перенесенных заболеваний, об источнике ткани. Клеточные культуры должны быть свободны от контаминирующих агентов, исследованы на отсутствие туморогенности и онкогенности методами *in vivo* (гетеротрансплантация клеток иммуносупрессивным животным) или *in vitro* (инвазивность клеток в органы культуры или формирование очагов трансформации в жидком агаре), показана их видовая специфичность. С этой целью суспензию клеток исследуют на микробиологическую стерильность, отсутствие микоплазм и вирусов наиболее чувствительными методами, одобренными регулирующими органами. Наиболее информативной и достоверной в последние годы при изучении туморогенности и онкогенности клеток признается подкожная имплантация клеточного материала 6–8-недельным иммунодефицитным мышам линии *Balb/c nude* массой от 19 до 22 граммов, которых содержат в специализированных условиях с соблюдением требований *GLP*.

Непрерывное пассирование клеточных линий может приводить к контаминации их агентами различной этиологии. Основными источниками кон-

таминации являются ткани донора, питательные среды, сыворотка, трипсин и другие ингредиенты, используемые при культивировании клеток. Особую проблему представляет контаминация субстратов клетками других видов, поэтому при работе с определенной линией не допускается работа с другими клетками в одних и тех же помещениях в одно время. Нарушение этих требований нередко приводит к тому, что в одной и той же коллекции сохраняются одинаково обозначенные линии клеток, значительно различающиеся по своим свойствам, модальному классу хромосом.

Большая степень риска возникает при наличии в препарате примесей и, главным образом, клеточной инфекционной и неинфекционной ДНК, эндогенных вирусов. Препараты, субстратом которых являются перевиваемые клеточные культуры, должны быть исследованы на отсутствие остаточной ДНК. Рекомендации ВОЗ 2010 г. устанавливают верхний предел определяемого наличия клеточной ДНК в 10 нг на парентеральную дозу. Риск присутствия клеточной ДНК в препарате связан с наличием инфекционного вирусного генома и с онкогенностью. Вирусный геном ДНК, независимо от его интеграции в геном клетки, нередко может быть активным в опытах *in vitro* и *in vivo*. Онкогенная способность клеточной ДНК может индуцировать клетки к трансформации, превращая их в опухолевые.

В этих случаях большое значение приобретают методы и способы очистки конечного продукта с учетом условий пользы и риска. Производитель должен представлять в Национальные органы контроля экспериментальные материалы об отсутствии посторонней микрофлоры в источнике сырья и питательных средах, чтобы оценить возможность их применения для закладки банков клеток. Кроме того, должна быть представлена документация о валидации производственного процесса в соответствии с требованиями *GMP*. Рекомендуется исключение из процесса приготовления препарата сырья человеческого происхождения.

Внешняя среда также является источником микробиологического загрязнения (особенно микоплазмами) и должна контролироваться для предотвращения контаминации клеток. Методы, используемые для тестирования контаминации, должны быть одобрены Национальными органами контроля. Для скрининга показателей качества культур клеток используют тесты на выявление инфекционных агентов, такие как пассирование клеточного лизата в наиболее чувствительных индикаторных клеточных культурах с последующим применением реакции гемагглютинации (при 4 и 20–25 °C) и гемадсорбции, заражение новорожденных и взрослых животных, куриных эмбрионов. В настоящее время рекомендуется использо-

вание метода амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР).

Подлинность заложенных в банк клеточных линий должна быть подтверждена с помощью методов, одобренных Национальными органами контроля. Это изоферментный и кариологический анализы, ПЦР, которые позволяют идентифицировать вид источника клеточной линии (человек, обезьяна, мышь, хомяк и т.д.).

Кариологический анализ клеток подтверждает безопасность и пригодность клеточных линий в качестве субстратов ИЛП, при этом должны быть идентифицированы маркерные хромосомы [9, 10]. Эти данные могут быть полезны также при оценке генетической стабильности линии клеток на протяжении ее использования от посевного банка, рабочего банка производителя и производственной культуры. Должно быть подсчитано точное количество хромосом, определены их повреждения и структурные отклонения. Эти данные должны сохраняться на протяжении всего времени работы с аттестованным банком производителя для подтверждения генетической стабильности клеточной линии. В настоящее время разрабатываются новые методы, такие как спектральное кариотипирование с применением флуоресцирующих меток, анализ коротких концевых повторов ДНК методом ПЦР и другие [6].

Сохранение свойств аттестованных клеточных линий возможно только при хранении клеточной культуры при низких температурах [5]. Высокий уровень жизнеспособности клеток при криоконсервации важен для эффективного и надежного производства ИЛП. Существует ряд тестов определения жизнеспособности: исследование целостности мембран, метаболической активности, репликации ДНК. Для исключения завышения определения жизнеспособности клеток должны быть изучены дополнительные маркеры, такие как индикаторы апоптоза, уровни лактатдегидрогеназы. При получении новых штаммов перевиваемых клеточных линий необходимо описывать их биохимические и цитогенетические маркеры.

Пригодность клеточного запаса определяет стабильностью свойств клеточной культуры в процессе хранения, которая должна периодически подтверждаться.

При производстве продукции разрешенный уровень пассажей клеток должен быть определен действующей нормативной документацией, одобренной регулирующими органами. При масштабировании процесса изученное количество пассажей не должно изменяться.

Если возникает необходимость превысить ранее рекомендованный предел уровня пассажей аттестованной культуры, следует провести повторное исследование клеточной линии до нужного производителю пассажа.

Для обеспечения процесса производства ИЛП необходимы условия приготовления и изучения клеточного субстрата в соответствии с требованиями GMP [11]. Процессы проведения контрольных испытаний должны быть валидированы и, только после установления соответствия национальным и международным требованиям, клеточные банки могут быть признаны пригодными для производства ИЛП. Национальные контрольные органы несут ответственность за стабильность клеточного субстрата для производства препаратов. С этой целью пригодность клеточных банков должна подтверждаться ежегодными инспекционными проверками.

В связи с появлением новых более информативных методов оценки клеточных линий ВОЗ приступила к пересмотру требований, применяемых ко всем типам клеточных культур, которые используются в производстве ИЛП. Были обновлены разделы, касающиеся снижения рисков посторонней контаминации, туморогенности, онкогенности, обнаружения остаточной ДНК и другие.

Перед специалистами ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России принципиально возникают две задачи:

- аттестация клеточных банков диплоидных и гетероплоидных линий производителей ИЛП с целью их пригодности в качестве субстратов производства профилактических, лечебных и диагностических препаратов;
- создание, аттестация клеточных банков различных клеточных линий и последующее обеспечение работ подразделений учреждения по контролю специфической активности и других показателей препаратов, определяемых при сертификации ИЛП.

Для выполнения этих задач планируется создание подразделения, обеспечивающего работу с клеточными культурами в соответствии с GMP:

- наличие чистых помещений (отдельных боксовых помещений с приточно-вытяжной вентиляцией по классу А/В) для перевиваемых, диплоидных и первичных клеток;
- организация вспомогательных зон по классу С/Д;
- оборудование отдельного помещения для криоконсервации клеток (создание криобанка штаммов и линий клеток и коллекций клеточных культур);
- обучение специалистов для работы с клеточными культурами;
- приобретение приборов и оборудования для работы с клеточными линиями (термостатов, микроскопов, лабораторного оборудования);
- оборудование вивария для изучения вирусной контаминации клеточных линий;

- оборудование для работы с куриными эмбрионами для выявления контаминации клеточных линий;
- обеспечение питательными средами, растворами и сыворотками крупного рогатого скота (в том числе эмбриональной) для культивирования клеточных линий, проверки стерильности и присутствия микоплазм.

В настоящее время в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России проведен анализ, и составлен перечень клеточных линий, необходимых для обеспечения выполнения заданий Минздрава России при регистрации препаратов и проведения сертификационного контроля ИЛП, который включает более 30 клеточных линий, из которых 11 заложены на хранение в криохранилище «Locator 4 Plus». Проводятся исследования по созданию посевных банков 2-х линий, их оценка в отношении бактериологической контаминации и присутствия микоплазм.

В дальнейшем необходимо выполнение научных исследований по следующим основным направлениям:

- создание, непрерывное поддержание и развитие фондов коллекции клеточных культур путем сбора, паспортизации и хранения клеточных линий человека, животных и растений, имеющих значение для производства и контроля ИЛП;
- разработка единых требований к качеству коллекционного клеточного материала, единых паспортов, методов анализа, хранения и контроля клеточных линий;
- совершенствование методов поддержания коллекции на основе проведения научных исследований, посвященных изучению влияния условий культивирования, криоконсервации, присутствия экзогенной или эндогенной контаминации на генетическую изменчивость клеточных линий;
- создание новых клеточных линий и гибридом, на основе которых возможно формирование банков диагностических моноклональных антител для дифференциации клеточных линий, контаминированных посторонними агентами, в том числе клеточными линиями другого происхождения;
- разработка новых методов криоконсервации, селекции клеточных линий, имеющих промышленное значение;
- создание и поддержание посевных (мастер-) и рабочих банков клеточных культур, используемых для производства и контроля ИЛП;
- депонирование уникальных клеточных линий, в том числе и гибридом, патентуемых в связи с их практической ценностью;
- создание информационной базы данных по клеточным культурам путем мониторинга ре-

гулярных изданий и постоянно действующей службы информации;

- обеспечение клеточным материалом соответствующих подразделений для проведения лабораторного контроля ИЛП;
- аттестация банков клеток, предназначенных для производства и контроля ИЛП, представленных учреждениями-разработчиками новых вакцинных препаратов;
- участие в подготовке и представлении заключений комиссий по результатам экспертизы нормативной документации и качества ИЛП в целях их государственной регистрации. Формирование и ведение архивных материалов по вопросам, связанным с экспертизой ИЛП, про-

изводство которых осуществляется с применением клеточных культур;

- обеспечение образцами стандартного и надежно охарактеризованного клеточного материала для проведения медицинских и биотехнологических исследований;
- обеспечение научно-исследовательской, производственной, диагностической, контрольной деятельности производственных и научных учреждений.

Таким образом, показана необходимость создания подразделения для работы с клеточными культурами, приведены требования к оборудованию и персоналу. Определены перспективные направления проведения научных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Серия технических докладов ВОЗ. 1962. № 237.
2. Серия технических докладов ВОЗ. 1988. № 745.
3. Серия технических докладов ВОЗ. 1990. № 760.
4. Экспертный комитет по биологической стандартизации ВОЗ, серия технических докладов. 2010. 10.2132.
5. Миронова Л.Л. Разные аспекты применения культур клеток в вакцинологии // Фундаментальные исследования. 2009. № 9. С. 60–62.
6. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии). М. 2009. 651 с.
7. Кулешов К.В. Разработка молекулярно-генетических методов видовой идентификации клеточных культур // Цитология. 2008. Т. 50. № 9. С. 812–813.
8. Salk J.E., Ward E.N. Some characteristics of a continuously propagating cell derived from monkey heart tissue // Science. 1957. Vol. 126. № 3287. С. 1338–1339.
9. Новохатский А.С., Царева А.А., Михайлова Г.Р., Жданов В.М. Контаминация клеток перевиваемых линий // Вопросы вирусологии. 1979. № 8. С. 432–439.
10. Полянская Г.Г. Закономерности кариотипической изменчивости в клеточных культурах при длительном культивировании в разных условиях. Автореф. дис... д. биол. н. СПб. 38 с.
11. Аттестация перевиваемых клеточных культур. Методические рекомендации. М. 2011.

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ВОЗМОЖНОСТИ ПЕРЕВОДА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В БЕЗРЕЦЕПТУРНЫЙ ОТПУСК

А.Н. Васильев, Е.В. Гавришина, Р.Р. Ниязов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
Niyazov@expmed.ru

Резюме: В статье рассматриваются требования и процедура перевода рецептурного лекарственного препарата в безрецептурный отпуск. Перечисляются условия, выполнение которых позволяет осуществить перевод в безрецептурный отпуск. Требования соответствуют европейскому руководству по данной проблематике.

Ключевые слова: лекарственные средства, перевод в безрецептурный отпуск, прямая опасность, косвенная опасность, Директива 2001/83/ЕС.

CRITERIA FOR ASSESSING THE POSSIBILITY OF CHANGING THE DRUG STATUS FROM PRESCRIPTION TO OVER-THE-COUNTER

A.N. Vasiliev, E.V. Gavrishina, R.R. Niyazov

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

Abstract: The present article considers the requirements and the transition procedure for prescription drugs to over-the-counter status (OTC). It describes the conditions which allow to perform the transfer to OTC. The requirements comply with the requirements of the European guidelines on this issue.

Key words: drugs, transition to OTC, direct danger, indirect danger, Directive 2001/83/EC.

ВВЕДЕНИЕ

Исторически сложилось, что вопросы перевода лекарственных препаратов в безрецептурный отпуск в Российской Федерации законодательно не были регламентированы. Ни в утратившем силу Федеральном законе от 22.06.1998 № 86-ФЗ «О лекарственных средствах», ни до него, ни в ныне действующем Федеральном законе от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» этот вопрос не освещался. До середины 2011 г. отнесение лекарственных препаратов к безрецептурным регулировались приказами уполномоченного федерального органа исполнительной власти, в которых содержался перечень лекарственных препаратов, подлежащих отпуску без рецепта. В 2011 г. приказы были признаны утратившими силу.

На сегодняшний день вопросы перевода зарегистрированных лекарственных препаратов в безрецептурный отпуск законодательно не урегулированы. Так, Федеральным законом от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» лишь в статье 18, регламентирующей содержание регистрационного досье лекарственного препарата, указано, что в инструкции по применению должны содержаться сведения об условиях отпуска лекарственного препарата, а также в статье 67 об источниках информации рецептурных и безрецептурных лекарственных препаратов [1].

Однако этот вопрос является достаточно важным и для пациента, и для медицинского работника, что требует соответствующей урегулированной, научно обоснованной и административно прозрачной процедуры перевода лекарственного препарата в безрецептурный отпуск.

Придерживаясь общего направления, заданного Председателем Правительства Российской Федерации, утвердившего в 2008 г. Стратегию развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России направляет большие усилия на гармонизацию подходов к экспертизе лекарственных средств с европейским опытом. В частности, проанализировав опыт Европейского Союза о безрецептурном отпуске лекарственных препаратов [2, 3], были подготовлены методические рекомендации по изменению условий отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения [4], в которых приводятся подробные рекомендации по научно обоснованному переводу лекарственных препаратов в безрецептурный отпуск.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Согласно пункту 19 статьи 1 Директивы 2001/83/ЕС [2] под рецептом на лекарственный препарат понимается письменное назначение ле-

карственного препарата медицинским работником, уполномоченным назначать лекарственные препараты.

В статье 71 главы VI Директивы 2001/83/ЕС [2] приводится исчерпывающее описание условий, соблюдение которых влечет за собой отпуск лекарственного препарата для медицинского применения по рецепту медицинского работника. А именно:

1. Лекарственные препараты подлежат рецептурному отпуску, если они:

- даже при правильном применении, но без медицинского наблюдения, представляют прямую или косвенную опасность для здоровья человека, или
- зачастую применяются неправильно и как следствие могут представлять прямую или косвенную опасность для здоровья, или
- содержат вещества или соединения, действие и (или) нежелательные явления которых подлежат дальнейшему изучению, или
- обычно назначаются парентерально.

2. Если уполномоченный орган предусматривает подкатегорию лекарственных препаратов, подлежащих особому порядку отпуска, он должен принимать во внимание следующие факторы:

- лекарственные препараты содержат в недопустимых количествах вещества, классифицируемые как наркотические или психотропные, подпадающие под действие международных конвенций, как то Конвенции ООН 1961 и 1971 гг., или
- лекарственные препараты, при их неправильном применении, несут риск злоупотребления, возникновения зависимости или могут быть использованы для противоправных целей, или
- лекарственные препараты содержат вещества, которые в силу своей новизны или свойств, в качестве меры предосторожности, могут быть отнесены к группе, описанной во втором абзаце.

3. Если уполномоченный орган предусматривает подкатегорию лекарственных препаратов, подлежащих ограниченному отпуску, он должен принять во внимание следующие факторы:

- лекарственный препарат в силу своих фармацевтических свойств, или новизны, или в интересах общественного здравоохранения должен применяться только в условиях стационара;
- лекарственный препарат применяется для лечения состояний, которые могут быть диагностированы в условиях стационара или учреждений с соответствующими диагностическими возможностями, несмотря на возможность применения и наблюдения в любых условиях, или

- лекарственный препарат предназначен для амбулаторного применения, но может вызывать очень серьезные нежелательные реакции, что требует выписывания рецепта и последующего наблюдения со стороны специалиста.

4. Уполномоченный орган вправе не принимать во внимание нормы п. 1, 2 и 3, исходя из:

- (а) максимальной разовой или суточной дозы, дозировки, лекарственной формы, определенных видов упаковки и (или)
- (б) других обстоятельств применения, которые им оговорены.

При составлении отечественных методических рекомендаций эксперты руководствовались именно этими базовыми принципами. Однако общие принципы носят лишь декларативный характер и требуют их подробной регламентации и интерпретации, что и было сделано. Таким образом, методические рекомендации составлены для владельцев регистрационных удостоверений лекарственных препаратов для медицинского применения, желающих изменить условия отпуска собственных препаратов.

При прочтении методических рекомендаций необходимо четко выделять два аспекта: предметные вопросы, то есть непосредственные требования к эффективности и безопасности (а также некоторые аспекты качества), которые должны соблюдаться. Положительный ответ на эти вопросы позволяет сделать заключение, возможен ли перевод лекарственного препарата в безрецептурный отпуск в принципе и если возможен, то на каких условиях. Тогда как второй аспект освещает процессуальные требования к процедуре перевода, то есть регламентирует требования к документам и данным, которые необходимо представить для соответствующего внесения изменений в регистрационное досье.

ПРЕДМЕТНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ

Итак, какие же требования предъявляются к безрецептурным лекарственным препаратам?

Во-первых, это отсутствие прямой или косвенной опасности для пациента, способность пациента к самооценке своего состояния, низкий риск и незначительные последствия неправильного применения и наличие правильной и удобочитаемой информации для пациента.

Прямая опасность *при правильном применении* лекарственного препарата (согласно инструкции по применению) заключается в токсичности, лекарственных взаимодействиях и нежелательных реакциях. Нежелательные реакции лекарственного препарата, переводимого в безрецептурный отпуск, обусловленные лекарственной формой и (или) путем введения и дозировкой, должны быть незначительными и саморазрешаться по окончании лечения.

Примером косвенной опасности является ситуация, когда симптоматическая терапия может зама-

скировать/скрыть основное заболевание, требующее медицинского вмешательства и наблюдения. Косвенная опасность также возникает, если широкое применение, особенно в общей популяции, может повысить резистентность к лекарственному препарату до такой степени, что может снизиться его эффективность; или если один и тот же симптом является внешним проявлением множества заболеваний, а пациент самостоятельно не может установить его причину.

Важно также, чтобы пациент мог самостоятельно оценить собственное состояние или симптом, по поводу которого назначается безрецептурный лекарственный препарат, и суметь применить его без медицинского наблюдения.

Высокая распространенность состояний, перечисленных в разделах «Противопоказания», «С осторожностью» и «Особые указания», или высокая частота применения лекарственных препаратов, взаимодействующих с рассматриваемым, может повысить частоту и риск неправильного применения. Важно, чтобы ущерб причиняемый здоровью при применении лекарственного препарата не по показаниям, превышении рекомендованной длительности применения или дозы, а также несоблюдении мер предосторожности или противопоказаний, был незначительным.

Следует отметить, что способ применения безрецептурного лекарственного препарата, скорее всего, будет отличаться от того, если бы он применялся по рецепту (даже при условии совпадения показаний или области клинического применения). Поэтому информация, содержащаяся в инструкции по применению и на упаковке, должна способствовать эффективному и безопасному применению лекарственного препарата. Она должна объяснить, как правильно применять препарат. Следует убедиться, что представленная информация правильно воспринимается пациентом и способствует надлежащему применению лекарственного препарата [5]. Информация должна быть достаточной, чтобы заменить собой медицинское наблюдение.

Информация, содержащаяся в инструкции по применению и на упаковке (в дополнение к рекомендациям работника аптеки), должна быть достаточной, чтобы уберечь пациента от применения лекарственного препарата, когда это противопоказано или небезопасно. Противопоказания, лекарственные взаимодействия, меры предосторожности и предупреждения должны быть понятно изложены на доступном для пациента языке и четко представлены в инструкции по применению [5].

Во-вторых, лекарственные препараты не могут подлежать безрецептурному отпуску, если они часто применяются неправильно, и как следствие могут представлять прямую или косвенную опасность здоровью человека. Установленное ненадлежащее применение безрецептурных лекарственных препаратов и не в соответствии с режимом дозирования, описанными в инструкции, (например, с целью усиления

эффектов алкоголя) может привести к ограничению его применения или к отнесению его к рецептурным лекарственным препаратам.

В-третьих, лекарственные препараты не могут быть отнесены к безрецептурному отпуску, если они содержат вещества или соединения, действие и (или) нежелательные явления которых подлежат дальнейшему изучению. Под этот критерий попадают следующие ситуации: недавняя государственная регистрация/ограниченный опыт применения и новая дозировка, доза, путь введения, показание к применению, возрастная группа или комбинация действующих веществ.

В-четвертых, лекарственные препараты для перентерального применения не могут подлежать безрецептурному отпуску вследствие дополнительных рисков и сложности введения.

В-пятых, лекарственные препараты не могут отпущаться без рецепта, если они содержат в недопустимых количествах наркотические или психотропные вещества или другие соединения, которые обладают потенциалом вызывать физическую и (или) психическую зависимость (см. выше).

И, наконец, *в-шестых*, на отнесение лекарственного препарата к рецептурному или безрецептурному может повлиять размер и вид упаковки и максимальная разовая или суточная доза.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ

Перечень документов, касающихся эффективности и безопасности, необходимых для изменения условий отпуска лекарственного препарата, зависит от природы действующего вещества и объема изменений, вносимых в регистрационное досье. С целью облегчения оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску, их необходимо представить в виде логичной и емкой структуры [4].

Во всех случаях рекомендуется представить обзор доклинических и (или) клинических исследований (заключения квалифицированных специалистов). Квалифицированный специалист — это представитель владельца регистрационного удостоверения, который с научной точки зрения обязан обосновать, на каких основаниях лекарственный препарат рассматривается им в качестве подлежащего безрецептурному отпуску. Он должен представить критический анализ лекарственного препарата, переводимого в безрецептурный отпуск, в отношении режима дозирования и по каждому из зарегистрированных показаний. Квалифицированный специалист должен занять четкую позицию, защищая ее с учетом современных научных знаний, и доказать, что лекарственный препарат не подпадает ни под один из критериев рецептурного отпуска.

При этом необходимо изложить все пункты, касающиеся критериев, устанавливающих принадлежность лекарственного препарата к отпускаемым по

рецепту (без рецепта), с представлением соответствующих документов.

Для подтверждения низкой общей токсичности и отсутствия клинически значимой репродуктивной токсичности, генотоксичности или канцерогенности необходимо представить соответствующие обзоры или резюме по доклиническим и (или) клиническим исследованиям или ссылки на исследования на животных или у человека.

Опыт применения действующего вещества у пациентов должен быть значительным, задача заявителя — описать его. Действующее вещество лекарственного препарата, переводимого в безрецептурный отпуск, как правило, должно *широко* применяться в течение пяти лет в качестве рецептурного в России.

Рекомендуется представить информацию о нежелательных реакциях, включая опыт применения препарата без медицинского наблюдения (например, в других странах).

Следует представить полный профиль безопасности лекарственного препарата, включая отчеты о пострегистрационном наблюдении, клинических исследованиях и научные статьи, затрагивающие безопасность препарата.

Целесообразно рассмотреть потенциальные лекарственные взаимодействия и их последствия, в особенности с широко применяемыми лекарственными препаратами; случаи неправильного применения, в том числе превышения рекомендованной длительности лечения, случайной или преднамеренной передозировки и применения препарата в более высоких дозах. Рекомендуется также рассмотреть последствия применения лекарственного препарата, когда пациент неправильно оценил собственное состояние или симптомы. Кроме того, необходимо рассмотреть последствия неправильной или запоздалой постановки диагноза вследствие самолечения лекарственным препаратом.

Следует также обосновать выбранную длительность лечения по каждому из предлагаемых показаний к применению и соответствующим образом смоделировать упаковку.

Сведения об упаковке и инструкция по применению безрецептурного лекарственного препарата являются важными элементами регистрационного досье, поэтому их необходимо подвергнуть всесторонней экспертизе для оценки полноты информации и ее способности защитить пациента от любых угроз его здоровью.

В инструкции по применению должна содержаться полная информация о правильном применении лекарственного препарата и обстоятельствах, при которых необходимо обратиться за медицинской помощью.

На вторичной упаковке безрецептурных лекарственных препаратов, а при ее отсутствии — на первичной должны быть приведены рекомендации по применению.

Информация на упаковке и в инструкции по применению должна быть удобочитаемой [5]. Следует отметить, что в Европейском Союзе удобочитаемость инструкции по применению для пациента (листка-вкладыша) проверяется на репрезентативной группе пациентов по специальной установленной процедуре [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, перевод лекарственного препарата в безрецептурный отпуск является научно обоснованным и прозрачным процессом, направленным, в первую очередь, на защиту как отдельного пациента, так и общественного здоровья в целом. Всем участникам этого процесса при принятии тех или иных решений необходимо руководствоваться исключительно интересами пациентов. Это позволит ускорить переход Российской Федерации к цивилизованному обращению лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон от 14 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [Принят Гос. Думой 24 марта 2010 года с изменениями и дополнениями по состоянию на 6 декабря 2011 г.] // Российская газета — Федеральный выпуск № 5157 от 14 апреля 2010 г.
2. Directive 2001/83/EC of The European Parliament and of The Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use [с изменениями] // OJL 311. 28.11.2001. P. 67.
3. A guideline on changing the classification for the supply of a medicinal product for human use. European Commission [официальный сайт]. URL: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/c/switchguide_160106_en.pdf (дата обращения: 31.10.2011).
4. Изменение условий отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения: Методические рекомендации. М. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. 2012. 20 с.
5. Guideline on the readability of the labelling and package leaflet of medicinal products for human use. European Commission [официальный сайт]. URL: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/c/2009_01_12_readability_guideline_final_en.pdf (дата обращения: 21.03.2012).
6. Guidance concerning consultations with target patient groups for the package leaflet. European Commission [официальный сайт]. URL: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/c/user_consultation_200605_en.pdf (дата обращения: 09.11.2012).

БИОТЕСТИРОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ: ПРИМЕНЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ БИОТЕСТ-СИСТЕМ *IN VITRO*

И.А. Лупанова, Л.Б. Стрелкова, Е.В. Ферубко, В.К. Колхир

Всероссийский научно-исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), Москва
ferubko@pharmvilar.ru

Резюме: Впервые предложена система первичного биохимического скрининга с использованием специфических ферментных биотест-систем на основе глутатионредуктазы, каталазы, НАДФН-оксидазы, тирозингидроксилазы, цитохрома P450 и глутатионтрансферазы для выявления биологической активности и прогнозирования направленности фармакологического действия биологически активных веществ растительного происхождения на примере флавоноидов и тритерпеновых гликозидов.

Ключевые слова: специфические ферментные биотест-системы, биологическая активность.

BIOTESTING IN EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY: APPLICATING SPECIFIC ENZYMATIC BIOTEST SYSTEMS *IN VITRO*

I.A. Loupanova, L.B. Strelkova, E.V. Ferubko, V.K. Kolhir

Russian Scientific and Research Institute for Medicinal and Aromatic Herbs (VILAR), Moscow

Abstract: The article is the first to introduce the system of primary biochemical screening using specific enzymatic biotest systems based on glutathione reductase, catalase, NADPH oxidase, tyrosine hydroxylase, cytochrome P450 and glutathione transferase for detecting biological activity and predicting pharmacological activity targeting for biologically active substances of herbal origin, for example, flavonoids and triterpene glycosides.

Key words: specific enzymatic biotest systems, biological activity.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из задач современной фармакологии является поиск новых веществ, обладающих биологической активностью. Проведение такого рода исследований требует адекватного инструмента для оценки тонких механизмов действия этих объектов на молекулярном уровне. В качестве одного из таких инструментов исследования молекулярных механизмов действия биологически активных веществ (БАВ) мы предлагаем применение подходов в условиях опытов *in vitro*, к которым можно отнести разработанные в ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии специфические ферментные биотест-системы — модели, позволяющие на молекулярном уровне избирательно выявлять корреляты фармакологической активности.

Цель исследования — системная оценка биологической активности фитопрепаратов и фитообъектов, содержащих тритерпеновые гликозиды и флавоноиды, с применением биотехнологических методов тестирования в условиях опытов *in vitro*, основанных на специфических ферментных биотест-системах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами для тестирования были выбраны следующие ферментные биотест-системы *in vitro*: глутатионредуктазная (ГР) в сочетании с каталазой (КАТ) применяли для выявления адаптогенных, антиоксидантных и противомикробных свойств, НАДФН-оксидазная — им-

муномодулирующих свойств, тирозингидроксилазная (ТГ) — дофаминергических свойств и на основе цитохрома P450 (цит P450) в сочетании с глутатионтрансферазой (ГТФ) — детоксицирующих свойств. Выбранные нами ферментные тест-системы *in vitro* превосходят другие способы скрининга по информативности и скорости выполнения, а также очень удобны для определения молекулярных механизмов действия и определения связи «структура—действие» для БАВ.

Объекты исследования: индивидуальные тритерпеновые гликозиды из качима двучветного (*Gypsophila bicolor*) — биколорозиды А и В (БКА и БКВ), различающихся тем, что биколорозид-В содержит в третьем положении два остатка глюкозы, а биколорозид-А — один, тритерпеновые гликозиды женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Мей) — панаксозиды, флавоон кверцетин (КВ), флаванон дигидрокверцетин (ДКВ), гликозид кверцетина рутин, флавоноидная фракция из листьев Гинкго Билоба отечественного производства.

Источником НАДФН-оксидазы и тирозингидроксилазы служили спокойные полиморфноядерные лейкоциты периферической крови кролика. Протимозин-α — тимический гормон, природный иммуноактиватор. Источником цитохрома P450 и глутатионтрансферазы служила микросомальная фракция, полученная из печени интактных белых беспородных лабораторных крыс массой 180–200 г

методом дифференциального центрифугирования. Концентрацию белка в микросомах определяли по модифицированному методу Лоури и соавторов, содержание цитохрома P450 — спектрофотометрически по методу Омура и Сато. Скорость ферментных реакций измеряли спектрофотометрически на двулучевом спектрофотометре Shimadzu MPS-2000 (Япония) и биохимическом анализаторе Clima CM-15 (Испания) с помощью реактивов фирмы «Sigma-Aldrich», США. Определяли: скорость ГР реакции — по убыли поглощения при 340 нм за счет окисления НАДФН, эквивалентно восстановлению окисленного глутатиона; скорость КАТ реакции — по цветной реакции комплекса перекиси водорода с молибдатом аммония при 410 нм; монооксигеназную активность цитохрома P450 в присутствии субстрата I типа — диметиланилина и субстрата II типа — анилина. Скорость реакций оценивали в кинетическом режиме по убыли поглощения при 340 нм за счет окисления НАДФН эквивалентно гидроксигированию анилина и деметилированию диметиланилина. Скорость ГТФ реакции определяли по поглощению при 340 нм окрашенного продукта реакции конъюгации субстратов — 3,4-динитрохлорбензола с восстановленным глутатионом [1].

Растворы тритерпеновых гликозидов и флавоноидов в интервале концентраций 1,5–50 мкг/мл добавляли в опытную пробу после внесения ферментов. Предварительно определяли форму зависимости скорости реакции от концентрации вещества в пробе. Было установлено, что зависимость скорости ферментативных реакций *in vitro* от концентрации изучаемых веществ описывается кривой с максимумом, который соответствует оптимальной концентрации образца в пробе. Поэтому для сравнительной оценки непосредственного действия веществ на протекание ферментных реакций использовали скорости реакций, полученные при оптимальных концентрациях изучаемых БАВ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ статистического анализа *Statistica 6,0* (StatSoft, США). Для оценки значимости отличий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, использовался t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ГНУ ВИЛАР разработана каталазная биотест-система *in vitro* [2–4], позволяющая в совокупности с глутатионредуктазной биотест-системой *in vitro* определить наличие адаптогенной, антиоксидантной и противомикробной активности БАВ.

Было доказано, что скорость каталазной реакции угнетается по сравнению с контрольной пробой при добавлении веществ, обладающих адаптогенными и противомикробными свойствами [2, 4],

и возрастает при добавлении веществ, обладающих антиоксидантными свойствами [3]. Угнетение скорости каталазной реакции адаптогенами обусловлено наличием у них противомикробных свойств. Метод выявления искомой биологической активности по влиянию БАВ на скорость каталазной реакции *in vitro* отличается высокой специфичностью и чувствительностью, хорошей воспроизводимостью, меньшей трудоемкостью, чем известные методики, не требует наличия гомогената клеток и дорогостоящих реактивов.

Результаты сравнительного изучения скоростей глутатионредуктазной и каталазной реакций *in vitro* в присутствии изучавшихся тритерпеновых гликозидов и флавоноидов представлены на рисунке 1.

Из приведенной гистограммы видно, что тритерпеновые гликозиды (БКА и БКВ) не имеют родства к глутатионредуктазе и каталазе, или таковым родством обладают и проявляют адаптогенные свойства (панаксозиды) [2]. В тоже время изучавшиеся флавоноиды (кроме кверцетина) обладали родством к ключевым ферментам антиоксидантной защиты, ускоряя эти реакции и проявляя антиоксидантные свойства [3]. Исключение составлял кверцетин, который ингибировал скорость и ГР- и КАТ-реакций, проявляя, согласно [4], антимикробные свойства.

Таким образом, при исследовании адаптогенных, антиоксидантных и антимикробных свойств у биколорозидов А и В, а также биофлавоноидов, различающихся по структуре и количеству глюкозных остатков, с помощью специфических ферментных биотест-систем, основанных на ГР и КАТ, установлены различия в проявлении специфической биологической активности.

НАДФН-оксидазная ферментная биотест-система *in vitro*, позволяющая выявлять наличие иммуномодулирующих свойств у изучаемого объекта, была разработана в ГНУ ВИЛАР совместно с ММА

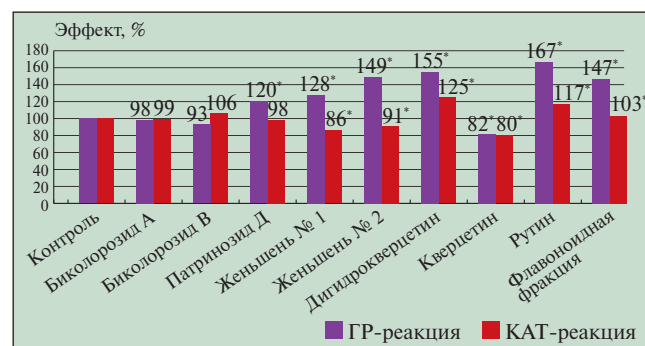


Рис. 1. Гистограммы распределения скоростей глутатионредуктазной и каталазной реакций *in vitro* (эффект, %) в присутствии тритерпеноидов и флавоноидов. Здесь и далее * — статистическая значимость отличий от контроля при $p < 0,05$

им. И.М. Сеченова [5]. НАДФН-оксидаза в гомогенатах лейкоцитов *in vitro* активируется не только активаторами фагоцитоза, но и активаторами гуморального иммунитета.

НАДФН-оксидазный тест состоит в измерении скорости НАДФН-оксидазной реакции в гомогенатах свежих или хранившихся замороженными клеток миелоидного ряда — полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЛ), макрофагов без добавления иммуностимулятора и в присутствии иммуностимулятора *in vitro*. НАДФН-оксидазный тест может быть применен для выявления иммуноактивирующей активности БАВ, в том числе растительного происхождения.

Для сравнительной количественной оценки величины непосредственного активирующего влияния изучаемых соединений на скорость НАДФН-оксидазной реакции *in vitro*, соотносили скорости реакции, полученные в упомянутых пробах, со скоростью НАДФН-оксидазной реакции в пробе, содержащей известный природный иммуноактиватор протимозин- α , принимая ее за 100%. Результаты сравнительного изучения скорости НАДФН-оксидазной реакции *in vitro* в присутствии изучавшихся три-терпеновых гликозидов и флавоноидов, а также протимозина- α , представлены на рисунке 2.

Из данных, представленных на рисунке 2, видно, что все изученные БАВ ускоряли НАДФН-оксидазную реакцию, что свидетельствует о наличии у них иммуномодулирующих свойств [5]. Однако количественное влияние изученных веществ на активность данного фермента было неодинаково. Тритерпеновые гликозиды, за исключением биколорозид А, значительно больше ускоряли реакцию по сравнению с флавоноидами. По активирующему влиянию на НАДФН-оксидазную реакцию изучаемые вещества располагались в следующем порядке: панаксозиды > биколорозид В > флавоноидная фракция из листьев Гинкго Билоба > кверцетин = биколорозид А > рутин > дигидрокверцетин.

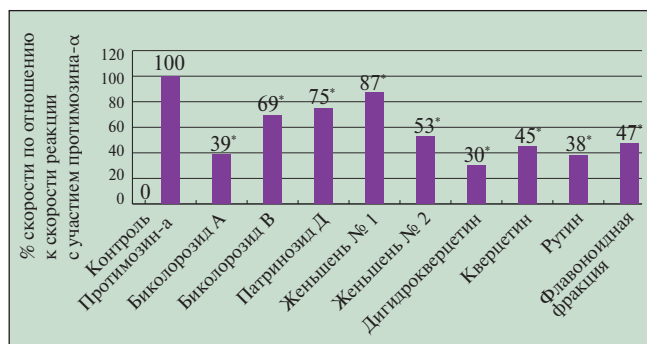


Рис. 2. Скорость НАДФН-оксидазной реакции *in vitro* (в %) в присутствии тритерпеноидов и флавоноидов (скорость реакции с участием природного иммуноактиватора — протимозина- α принята за 100%)

Тирозингидроксилазный тест *in vitro* [6] позволяет специфически выявлять вещества, обладающие непосредственным сродством к дофаминергической нейромедиаторной системе. Это обусловлено тем, что в тирозингидроксилазе и дофаминовых рецепторах имеются одинаковые места «узнавания», обеспечивающие избирательное связывание со специфическими лигандами. Поэтому тирозингидроксилаза может использоваться в качестве модели «узнающих» сайтов дофаминовых рецепторов для выявления дофаминовых БАВ.

Фермент тирозингидроксилаза (ТГ), лимитирующий биосинтез катехоламинов, играет важную роль в обеспечении специфической активности катехоламинергических, прежде всего дофаминергических, нейронов. В цепи биосинтеза катехоламинов стадия превращения тирозина в ДОФА является наиболее важной, поскольку она лимитирует и регулирует в организме скорость образования катехоламинов.

Прямой спектрофотометрический метод определения скорости ТГ реакции основан на измерении прироста поглощения для 335 нм, обусловленного окислением птеринового кофактора ДМПН₄ (в ДМПН₂), сопряженным с превращением субстрата реакции L-тирозина в L-ДОФА.

Результаты сравнительного изучения скорости ТГ-реакции *in vitro* в присутствии изучавшихся тритерпеновых гликозидов и флавоноидов представлены на рисунке 3.

Как видно из данных (Рис. 3), все объекты исследования ингибировали ТГ-реакцию. Однако максимальным ингибирующим эффектом, количественно сходным с эффектом дофамина, обладали панаксозиды. Остальные исследовавшиеся вещества, за исключением кверцетина, рутина и биколорозид А, угнетали ТГ-реакцию менее чем на 30%. Это свидетельствует о том что, и для тритерпеновых гликозидов (биколорозид В), и для флавоноидов (дигидрок-

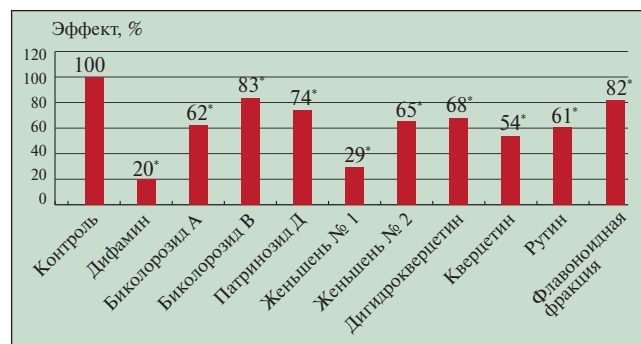


Рис. 3. Скорость тирозингидроксилазной реакции в опыте *in vitro* в присутствии изучавшихся веществ в сравнении с дофамином — природным ретроингибитором тирозингидроксилазы и агонистом дофаминовых рецепторов

верцетин, флавоноидная фракция из листьев Гинкго Билоба) дофаминовая нейромедиаторная система не является основной мишенью.

Таким образом, по ингибирующему действию на ТГ-реакцию изучаемые вещества располагаются в следующем порядке: панаксозиды > кверцетин > рутин = биколорозид А > дигидрокверцетин > флавоноидная фракция из листьев Гинкго Билоба = биколорозид В.

Как известно, в результате первой фазы обезвреживания с участием цитохрома Р450 происходит модификация веществ с образованием функциональных групп, повышающих растворимость гидрофобного соединения. В результате модификации возможна потеря молекулой ее биологической активности или даже формирование более активного соединения, чем вещество, из которого оно образовалось.

Вторая фаза обезвреживания веществ реакции конъюгации, в ходе которых происходит присоединение к функциональным группам, образующимся на первом этапе, других молекул или групп эндогенного происхождения, увеличивающих гидрофильность и уменьшающих токсичность ксенобиотиков. Особое место среди ферментов, участвующих в обезвреживании ксенобиотиков, инаktivации нормальных метаболитов, лекарств, занимают глутатионтрансферазы (ГТФ).

В качестве тест-объектов в данной работе мы использовали ключевые ферменты первого и второго этапов системы биотрансформации и детоксикации ксенобиотиков в клетке: цитохрома Р450 и глутатионтрансферазы [7].

Сравнительные результаты изучения прямого влияния тритерпеновых гликозидов и флавоноидов на монооксигеназную активность (гидроксилазную и деметилазную) цитохрома Р450, а также на конъюгирующую активность глутатионтрансферазы представлены на рисунке 4.

Известно, что увеличение скорости образования токсических веществ в монооксигеназной системе цитохрома Р450 на 1-м этапе, по сравнению со скоростью их конъюгации с помощью ГТФ на 2-м этапе процесса детоксикации, как правило

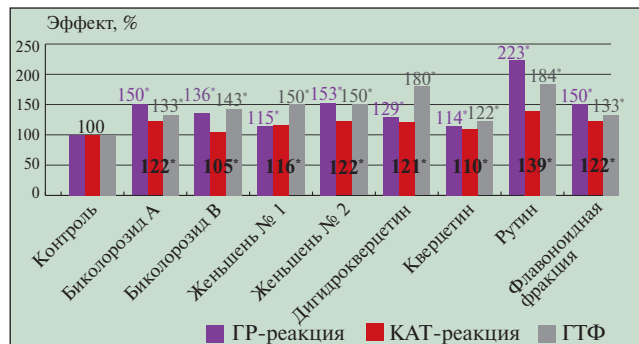


Рис. 4. Скорость реакций (в %), катализируемых цитохромом Р450 и глутатионтрансферазой в присутствии изучавшихся веществ в опытах *in vitro*

свидетельствует о снижении эффективности детоксицирующей системы [7]. Поэтому на основании полученных данных можно заключить, что детоксицирующая активность исследованных веществ уменьшается в ряду: панаксозиды > БКВ > БКА. Детоксицирующая активность исследованных флавоноидов уменьшается в ряду дигидрокверцетин > кверцетин > флавоноидная фракция из листьев Гинкго Билоба > рутин.

Таким образом, наибольшей детоксицирующей активностью обладают: дигидрокверцетин и панаксозиды; биколорозид А и кверцетин также обладают детоксицирующей активностью, но менее выраженной.

ВЫВОДЫ

Разработанные в ВИЛАР оригинальные специфические ферментные биотест-системы *in vitro* проявляют высокую избирательность к БАВ, обладающим соответствующими фармакологическими свойствами, успешно применяются в фармакологии и фармации: для поиска и разработки новых фитопрепаратов, изучения молекулярного механизма их действия, прогнозирования характера зависимости эффекта от дозы, для экспресс-оценки качества растительного сырья и биотехнологических продуктов, для подбора оптимального соотношения компонентов в композициях, для поиска маркеров в целях стандартизации фитообъектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лупанова И.А. Исследование молекулярных механизмов действия биологически активных веществ на примере тритерпеновых и флавоноидных гликозидов. Автореф. дис... к. биол. н. М. 2012. 25 с.
2. Быков В.А., Минеева М.Ф., Дубинская В.А., Ребров Л.Б., Колхир В.К. Способ выявления веществ, обладающих адаптогенными свойствами, *in vitro*. Патент РФ №2181890. 2001. С.А. 137:379958. 2003.
3. Быков В.А., Дубинская В.А., Минеева М.Ф., Ребров Л.Б., Колхир В.К. Способ выявления веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, *in vitro*. Патент РФ № 2181892. 2002.
4. Быков В.А., Минеева М.Ф., Дубинская В.А., Ребров Л.Б., Колхир В.К. Способ выявления веществ, обладающих противомикробными и противовирусными свойствами, *in vitro*. Патент РФ №2181891. 2002.
5. Быков В.А., Минеева М.Ф., Попова Н.Б. Способ выявления веществ с потенциальной иммуномодулирующей активностью, *in vitro* с применением NADPH-оксидазной тест-системы. Патент №2194077. 2002. С.А. 138: 297591. 2004.
6. Минеева-Вялых М.Ф. Метод прямого спектрофотометрического определения скорости тирозингидроксилазной реакции // Вопросы медицинской химии. 1976. Т. 22 (2). С. 274–279.
7. Лупанова И.А., Минеева М.Ф., Колхир В.К., Стрелкова Л.Б., Сокольская Т.А. Применение специфических ферментных биотест-систем *in vitro* для исследования биологической активности некоторых природных соединений // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. 2012. № 1. С. 172–177.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

М.В. Супотницкий

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
mikhail.supotnitzky@yandex.ru

Резюме: Формула изобретения — это часть описания к патенту, определяющая предоставляемый им объем правовой охраны. В международной патентной практике сложились три системы построения формул на изобретение: европейская (германская), американская и британская. Особенности каждой системы проявляются: 1) в принципе построения отдельного пункта формулы; 2) в принципе построения многозвенной формулы одного изобретения. В статье показаны общие принципы составления формул на изобретения и их экспертизы, принятые в России.

Ключевые слова: патент, изобретение, технический результат, изобретательский уровень, техническое решение, формула изобретения.

SUMMARY OF THE INVENTION

M. V. Supotnitsky

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

Abstract. Summary of the invention is a part of patent description, determining the scope of legal protection. There are three constructing formulas for summary of the invention in international patent practice: European (German), American and British. The distinctions of each system appear in the following: 1) the principle of constructing single clause for the formula 2) the principle of constructing multiclaime formula of an invention. The present article describes the general principles constructing formulas for inventions and their expert evaluation, recognized in Russia.

Key words: patent, invention, technical result, inventive level, technical solution, summary of the invention.

Патент на изобретение является одновременно научно-техническим текстом и юридическим документом, обеспечивающим юридическую защиту прав на описанное изобретение. Для определения объема правовой охраны, предоставляемой патентом его владельцу, предназначена формула изобретения. Цель данной статьи — объяснить научным сотрудникам и другим специалистам, занимающимся исследовательской работой, но ранее не патентовавшим изобретения, общие принципы составления формул на изобретения.

Для того чтобы формула отвечала правовому значению, она должна описывать сущность изобретения таким образом, чтобы его можно было «узнать» в продукции, выпускаемой третьими лицами в нарушение данного патента. В настоящее время в международной патентной практике сложились три системы построения формул на изобретение: европейская (германская), американская и британская. Особенности каждой системы проявляются: 1) в принципе построения отдельного пункта формулы; 2) в принципе построения многозвенной формулы одного изобретения [1, 2]. Независимо от того, по какой системе построена формула, она должна выражать сущность изобретения и быть полностью основана на описании. Определяемый формулой изобретения объем правовой охраны должен быть подтвержден описанием. Формула изобретения может состоять из одного

или нескольких пунктов. Каждый пункт формулы представляет собой одно предложение.

Европейская система построения патентной формулы применяется при патентовании изобретений в европейских странах, в Российской Федерации, а также при подаче международной и европейской заявок. В основе ее лежит германская система, разработанная конце XIX в. Эрнстом Гартигом (Hartig Carl Ernst, 1836–1900) [3]. Типичные черты европейской системы построения формулы изобретения [2]:

- пункт формулы изобретения составляется с выделением новизны. В связи с этим европейскую формулу часто называют патентной формулой с выделенной новизной. При ее построении используются логические правила определения понятия через род и видовые отличия. Поэтому систему построения этой формулы называют также логической;
- в многозвенной формуле одного изобретения первый пункт является главным, юридически независимым и определяющим объем притязаний (прав), а последующие пункты — зависимыми от главного пункта непосредственно или опосредствованно, т.е. через предшествующий зависимый пункт. Главный пункт отражает общее решение задачи в целом, а подпункты — варианты выполнения этого решения. Такую систему построения

многозвенной формулы еще называют центральной.

Американская система построения патентной формулы принята в США, Канаде, странах Латинской Америки. Она находит применение также в Японии. Типичные черты американской системы [2]:

- пункт формулы изобретения составляется без выделения новизны;
- в многозвенной формуле одного изобретения все пункты юридически независимы и объем притязаний (прав) определяется совокупностью всех пунктов. Пункты могут быть изложены в независимой и зависимой форме.

Британская система построения патентной формулы принята в Великобритании, Австралии, Новой Зеландии. Для нее характерно сочетание элементов европейской и американской систем. Типичные черты британской системы [2]:

- пункт формулы изобретения составляется без выделения новизны;
- в многозвенной формуле одного изобретения первый пункт является главным, остальные пункты — зависимыми от главного;
- имеются омнибус-пункты, содержащие ссылки на фигуры чертежа или примеры из описания.

Британское законодательство не связывает заявителя в отношении способа изложения патентной формулы. Некоторые заявители пользуются германской системой, некоторые — американской.

В Великобритании допускается патентование в одном зависимом пункте нескольких вариантов изобретения. Этим объясняется тот факт, что в зависимом пункте ссылка часто дается на несколько предыдущих пунктов. По этой же причине, как правило, британские формулы на одно и то же изобретение (патент-аналог) имеют меньшее число пунктов, чем американские.

В России с 1896 г. используется *германская (европейская) система* подготовки формул на изобретение [3]. Требования к российской формуле изобретения определены п. 10.8 Административного регламента исполнения Федеральной службой по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам государственной функции по организации приема заявок на изобретение и их рассмотрения, экспертизы и выдачи в установленном порядке патентов Российской Федерации на изобретение (далее — Административный регламент) [4].

В соответствии с п.п. 10.8.1. Административного регламента [4], *однозвенная формула* применяется для характеристики одного изобретения совокупностью признаков, не имеющей развития или уточнения применительно к частным случаям его выполнения или использования; *многозвенная формула* используется для характеристики одного изобретения с развитием и/или уточнением совокупности его признаков применительно к частным случаям выполнения или

использования изобретения, или для характеристики группы изобретений.

Многозвенная формула, характеризующая одно изобретение, имеет один независимый пункт и следующий (следующие) за ним зависимый (зависимые) пункт (пункты). Многозвенная формула, характеризующая группу изобретений, имеет несколько независимых пунктов, каждый из которых характеризует одно из изобретений группы. При этом каждое изобретение группы может быть охарактеризовано с привлечением зависимых пунктов, подчиненных соответствующему независимому.

При изложении формулы, характеризующей группу изобретений, соблюдаются следующие правила:

- независимые пункты, характеризующие отдельные изобретения, как правило, не содержат ссылок на другие пункты формулы;
- все зависимые пункты формулы группируются вместе с тем независимым пунктом, которому они подчинены, включая случаи, когда для характеристики разных изобретений группы привлекаются зависимые пункты одного и того же содержания.

Пункт формулы германского типа имеет следующую логику построения: изложение формулы начинается с *родового понятия*, отражающего назначение изобретения; после выражения «включающий», «содержащий» или «состоящий из», излагается *ограничительная часть* формулы, включающая признаки изобретения, совпадающие с признаками наиболее близкого аналога; затем, после словосочетания «отличающийся тем, что», вводится ее *отличительная часть*, включающая признаки, которые отличают изобретение от наиболее близкого аналога.

Формула изобретения может составляться без разделения пункта на ограничительную и отличительную части (формула британского типа), если она характеризует:

- индивидуальное химическое соединение;
- штамм микроорганизма, линию клеток растений или животных;
- изобретение, не имеющее аналогов.

При составлении пункта формулы без указанного разделения после родового понятия, отражающего назначение, вводится выражение «характеризующееся», «состоящая из», «включающий» и т.п., после которого приводится совокупность остальных признаков, которыми характеризуется изобретение.

Независимый пункт формулы изобретения должен относиться только к одному изобретению и характеризовать изобретение совокупностью его признаков, определяющей объем испрашиваемой правовой охраны, и излагается в виде логического определения объекта изобретения. Однако эксперт не признает его относящимся к одному изобретению,

если он включает альтернативные признаки, которые в совокупности с другими признаками, включенными в формулу изобретения, не обеспечивают получение одного и того же технического результата. Либо содержащаяся в нем совокупность признаков включает характеристику изобретений, относящихся к объектам разного вида или к совокупности средств, каждое из которых имеет собственное назначение, без реализации указанной совокупностью средств общего назначения.

Зависимый пункт формулы изобретения содержит развитие и/или уточнение совокупности признаков изобретения, приведенных в независимом пункте, признаками, характеризующими изобретение лишь в частных случаях его выполнения или использования. Изложение зависимого пункта начинается с сокращенного указания *родового понятия* и ссылки на независимый пункт и/или зависимый пункт, к которому относится данный зависимый пункт, после чего приводятся признаки, характеризующие изобретение в частных случаях его выполнения или использования.

Признаки *устройства* излагаются в формуле так, чтобы характеризовать его в статическом состоянии. При характеристике выполнения конструктивного элемента устройства допускается указание на его подвижность, на возможность реализации им определенной функции (например, с возможностью торбования, с возможностью фиксации) и т.п.

В формулу изобретения, характеризующего *химическое соединение с установленной структурой* любого происхождения, включаются наименование соединения по одной из принятых в химии номенклатур или обозначение соединения, и его структурная формула (назначение соединения может не указываться).

В случае *химического соединения с неустановленной структурой* в формуле изобретения приводятся наименование, содержащее характеристику назначения соединения; физико-химические и иные характеристики, позволяющие отличить данное соединение от других, в частности признаки способа его получения.

В случае *нуклеиновых кислот и полипептидов*, выделяемых из природного источника или получаемых иным путем с той же или направленно измененной биологической функцией, в формулу изобретения включаются наименование вещества; определяющая назначение биологическая функция (вид активности, биологическое свойство), если она не следует с очевидностью из наименования; номер соответствующей последовательности нуклеотидов или аминокислот (если она установлена) или физико-химические и иные характеристики, позволяющие отличить данное соединение от других. Для последовательности нуклеотидов, кодирующей аминокислотную последовательность полипептида, дополнительно указывается биологическая функция полипептида (вид активности, биологическое

свойство), если она не следует с очевидностью из его наименования.

В формуле изобретения, относящегося к *композиции*, приводятся ее наименование с указанием назначения, входящие в композицию ингредиенты и, при необходимости, количественное содержание ингредиентов. Если в формуле изобретения, относящегося к композиции, приводится количественное содержание ингредиентов, они выражаются в любых однозначных единицах, как правило, двумя значениями, характеризующими минимальный и максимальный пределы содержания.

При использовании глаголов для характеристики действия (приема, операции) как *признака способа* их излагают в действительном залоге в изъявительном наклонении в третьем лице во множественном числе (нагревают, увлажняют, прокаливают и т.п.).

К формуле патента применимо правило – чем длиннее формула и чем больше в ней слов, тем у же правовая защита, предоставляемая такой формулой. Но эксперты ФГБУ «Федеральный институт промышленной собственности» (ФГБУ «ФИПС») обычно благосклонно относятся к формулам длиной от половины страницы формата А4 и более, и охотно принимают решение о выдаче патента, понимая, что заявитель не претендует на многое, что снижает риск возникновения патентных споров в дальнейшем и, следовательно, степень ответственности эксперта, выдавшего такой патент [4].

В процессе переписки с экспертизой ранее заявленная формула изобретения может корректироваться и изменяться в рамках первоначального текста описания изобретения. Проверка экспертами ФГБУ «ФИПС» формулы изобретения осуществляется соответствии с п. 24.4 Административного регламента [4] после установления приоритета и единства изобретения. Она включает анализ совокупности признаков формулы с целью выявления характеристики технического решения. Экспертизой устанавливается наличие в формуле существенных признаков заявленного изобретения, совокупность которых достаточна для получения указанного заявителем технического результата.

Если экспертизой установлено, что в независимом пункте формулы изобретения отсутствует признак, который, по мнению экспертизы, является существенным, т.к. без него не достигается заявленный технический результат (никакой из результатов, если заявитель указал несколько их видов), но этот признак содержится в описании или в зависимом пункте формулы, заявителю предлагается включить такой признак в независимый пункт формулы.

В том случае, когда устанавливается, что независимый пункт формулы, представленной заявителем, содержит несущественные признаки, заявителю предлагается рассмотреть вопрос о целесообразности сохранения такой редакции формулы изобретения. Также

устанавливается, выражены ли приведенные в формуле признаки изобретения таким образом, чтобы обеспечить возможность понимания специалистом на основании уровня техники их смыслового содержания.

Далее экспертизой выявляются признаки, характерные для решений, не являющихся изобретениями или имеющих характер словесных, изобразительных или комбинированных обозначений на продукте, являющемся объектом изобретения или используемом в изобретении, относящемся к способу. Заявителю сообщается о возможности совпадения таких обозначений или сходства их до степени смешения с товарными знаками (знаками обслуживания), которые зарегистрированы или могут быть зарегистрированы другими лицами для товаров одинакового с устройством назначения или соответствующих видов услуг, либо с наименованиями мест происхождения товаров. В случае использования изобретения они приводят к столкновению прав патентообладателя и владельца товарного знака (знака обслуживания), либо к противоправному применению зарегистрированного наименования места происхождения товара.

Если в формулу изобретения включены понятия, отсутствующие в их буквальной формулировке в описании, устанавливается, раскрыто ли в описании содержание таких понятий.

Проверяется также правомерность применения использованной заявителем степени обобщения при характеристике признаков, включенных в формулу изобретения. В частности, если признак охарактеризован на уровне функции, свойства, то проверяется

наличие в описании сведений, подтверждающих достаточность охарактеризованного в такой форме признака в совокупности с остальными признаками, включенными в независимый пункт формулы изобретения, для получения технического результата, указанного заявителем. Если признак охарактеризован общим понятием, охватывающим различные частные формы его выполнения, проверяется, представлены ли в описании изобретения сведения о частных формах выполнения этого признака, позволяющие специалисту в данной области техники обобщить эти сведения до общего понятия, указанного в формуле изобретения.

Если о возможности получения указанного заявителем технического результата могут свидетельствовать лишь экспериментальные данные, проверяется наличие в описании изобретения примеров его осуществления с приведением соответствующих данных, а также достаточность их для вывода о возможности достижения такого технического результата не только в частных случаях, охваченных представленными примерами, но и правомерности использованной заявителем степени обобщения при характеристике признаков изобретения. В том случае, когда установлено, что формула не может быть признана полностью основанной на описании, заявителю сообщается об этом и предлагается внести в формулу и/или в описание соответствующую корректировку. При непредставлении заявителем запрошенных дополнительных материалов заявка признается отозванной.

ЛИТЕРАТУРА

- | | | |
|---|--|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Руденко С.Д. Перевод описаний изобретений к патентным документам Великобритании и США. М. 1980. 2. Колосюк В.П., Дорофиев В.В. Патентование и лицензирование (учебное пособие). Донецк. 2000. 3. Червова Л.В. Основные принципы составления формулы изобретения в СССР. М. 1988. | <ol style="list-style-type: none"> 4. Административный регламент исполнения Федеральной службой по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам государственной функции по организации приема заявок на изобретение и их рассмотрения, экспертизы и выдачи в установленном порядке патентов | <ol style="list-style-type: none"> Российской Федерации на изобретение // Российская газета. 2008. 25 июня. 5. Практический пример составления заявки на изобретение. Сайт патентного бюро «ПАТИКА» (http://www.patika.ru/Patent_na_izobretenie.Patentovanie_izobreteniy.Registraciya_Patentov_Na_izobreteniya.html). |
|---|--|--|

К ВОПРОСУ О РАЗРАБОТКЕ ПРОЕКТА ОФС «ОТБОР ПРОБ (ВЫБОРОК) ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

И.В. Сакаева, Е.И. Саканян, Т.Н. Боковикова, Л.И. Шишова, Л.А. Стронова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
Shishova@expmed.ru

Резюме: С даты введения в действие статьи Государственной Фармакопеи СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» прошло более 20 лет. За это время система контроля качества лекарственных средств в Российской Федерации, составной частью которой является отбор проб, претерпела изменения. В настоящей статье проанализированы основные нормативные документы, регламентирующие отбор проб в современном фармацевтическом анализе и представлена информация по данному вопросу, содержащаяся в зарубежных фармакопеях и документах.

Ключевые слова: отбор проб, план отбора проб, лекарственное средство, общая фармакопейная статья, фармакопея.

ON THE QUESTION OF ELABORATING DRAFT GENERAL PHARMACOPOEIA MONOGRAPH «DRUG SAMPLING (SAMPLE COLLECTION)»

I.V. Sakaeva, E.I. Sakanyan, T.N. Bokovikova, L.I. Shishova, L.A. Stronova

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

Abstract: Over 20 years have passed since the Monograph «Drug sampling (sample collection)» of the State Pharmacopoeia of the USSR Vol. XI had come into force. During the mentioned period of time, drug quality control system in the Russian Federation, including drug sampling as a part of it, has undergone certain changes. The present article describes basic regulatory documents governing drug sampling in modern pharmaceutical analysis and provides information on the subject appearing in foreign Pharmacopoeias and documents.

Key words: sampling, sampling plan, drug, General Pharmacopoeia Monograph, Pharmacopoeia.

В фармацевтической практике объектами отбора проб (выборок) являются, прежде всего, лекарственные средства (ЛС), к которым относятся лекарственные препараты и фармацевтические субстанции. На фармацевтических предприятиях спектр объектов отбора проб более широкий и представлен условно такими группами материалов и продукции как:

- исходные материалы, включающие активные фармацевтические субстанции, вспомогательные вещества, реактивы, растворители и другие материалы, предназначенные для производства ЛС;
- промежуточные продукты, образующиеся в процессе производства;
- нерасфасованные продукты (*in bulk product*), предназначенные для последующей переработки или окончательной расфасовки и упаковки;
- первичные и вторичные упаковочные материалы;
- укупорочные материалы и материалы для комплектовки потребительских упаковок (например, устройства для дозирования или введения ЛС);
- печатная полиграфическая продукция;
- вспомогательные материалы, например, дезинфицирующие, чистящие средства, технологические газы, сжатый воздух и другие материалы, используемые в процессе производства [4].

Отбор проб необходим для реализации определенных целей, регламентированных соответствующими документами. На федеральном уровне законодательными и нормативными документами Российской Федерации (РФ) определены, например, такие цели отбора проб ЛС как:

- экспертиза качества ЛС при осуществлении государственной регистрации ЛС [2];
- проверка качества, проведение исследований, испытаний образцов ЛС, предназначенных для реализации и реализуемых субъектами обращения ЛС при осуществлении государственного контроля (надзора) в сфере обращения ЛС [2,3];
- проведение испытаний ЛС, зарегистрированных в установленном порядке и внесенных в Государственный Реестр, состоящих из смешанных и несмешанных продуктов для использования в терапевтических или профилактических целях, расфасованных в виде дозированных лекарственных форм или в упа-

ковки для розничной продажи, в аккредитованных испытательных лабораториях для подтверждения соответствия в форме принятия декларации о соответствии [5].

Отбор проб ЛС, продукции и материалов, используемых при производстве ЛС, согласно Национальному стандарту РФ ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств. (GMP)» необходим для проведения предварительного, приёмочного (входного), внутрипроизводственного контроля, контроля выпущенной серии (партии) ЛС, для исследования стабильности образцов ЛС, для получения контрольных образцов, получения архивной выборки, мониторинга состояния производства, проведения квалификационных и валидационных испытаний в рамках проведения контроля и в других случаях [4]. Правила GMP РФ идентичны правилам GMP Европейского Союза (ЕС) «*Good manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*» [7], что способствует гармонизации российских требований с зарубежными, включая вопросы отбора проб.

«Руководство ВОЗ по отбору проб фармацевтических продуктов и связанных с ними материалов» (Руководство ВОЗ) дополнительно к вышеперечисленным целям, указывает, что в международной практике отбор проб может осуществляться также для преквалификации, для особого контроля, для инспекций при таможенной очистке, для выявления подделок или фальсификаций [8].

Испытания (проверка качества, проведение исследований, экспертиза качества, контроль качества и т.п.), применяемые к отобранному образцу ЛС и связанных с ними материалов и продуктов, регламентируются соответствующими документами и могут включать:

- подтверждение подлинности;
- проведение полного фармакопейного или аналогичного испытания;
- проведение специальных (специфичных) испытаний.

Национальным государственным стандартом РФ, устанавливающим единые требования к правилам отбора проб ЛС, является статья «Отбор проб (выборки) лекарственных средств», включенная в раздел «Общие методы анализа» второго выпуска Государственной Фармакопеи СССР XI изд., 1990 года. (ГФ СССР XI изд.) [1]. Указанная статья регламентирует общие правила, особенности отбора проб ЛС в расфасовке «ангро» и отбора выборок готовых ЛС (штучной продукции) с целью проведения анализа пробы (выборки) и выдачи заключения о качестве ЛС. Методы отбора проб лекарственного растительного сырья, предназначенного для анализа с целью определения соответствия его качества требованиям стандартов, установлены ОФС 42-0013-03

«Правила приемки лекарственного растительного сырья и методы отбора проб» [6].

За более чем двадцать лет, прошедших после введения в действие статьи ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» система контроля качества ЛС, составной частью которой является отбор проб, в РФ развивалась, совершенствовалась, ее требования гармонизировались с международными. Законодательными документами РФ вносились изменения в правила осуществления государственного контроля качества ЛС, в т.ч. в отношении порядка отбора их образцов.

В настоящее время государственный контроль при обращении ЛС регламентируется Федеральным законом РФ от 12.02.2010 №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [2], а порядок его осуществления – Постановлением Правительства РФ от 15.10.2012 №1043 «Об утверждении положения о федеральном государственном надзоре в сфере обращения лекарственных средств» [3].

В рассматриваемый период в РФ была введена система сертификации ЛС, находящихся в обращении, которая затем была заменена декларированием о соответствии [5]. Порядок отбора образцов ЛС для проведения испытаний в целях сертификации был утвержден законодательными документами РФ, в основу требований которых были положены указания национального стандарта – статьи ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств». Вместе с тем, в утвержденный порядок отбора образцов были внесены новые дополнительные положения, касающиеся документального оформления отбора образцов, этикетирования образцов и некоторых общих вопросов. В настоящее время эти положения остаются актуальными и находят практическое применение не только в отношении отбора образцов ЛС для целей декларирования, но и в отношении других объектов отбора проб и/или иных целей отбора.

Изучение имеющегося международного опыта по данному вопросу в документах Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ЕС, Таможенного союза, ведущих зарубежных фармакопей показало, что наибольший объем информации содержит Руководство ВОЗ [8], которое предназначено как для органов надзора, лабораторий контроля качества, таможенных и полицейских служб, так и для производителей, оптовых и розничных звеньев обращения ЛС и может быть применено к различным классам и типам фармацевтических продуктов и связанных с ними материалов. Значительное место в Руководстве ВОЗ уделено выбору надлежащего плана отбора проб, приведено много практического материала, например, пошаговые действия при выполнении процедуры отбора проб различных объектов, рекомендации по выбору оборудования для отбора проб и т.д.

Ведущие зарубежные фармакопеи — Международная [12], Европейская [10], Японская [13], Британская [14], а также ГФ Украины [15], монографий по общим правилам отбора проб ЛС не имеют. В них включены только ОФС по отбору проб лекарственного растительного сырья. Но в отдельных монографиях на методы анализа (испытание на стерильность, определение механических включений в парентеральных растворах и др.) или на лекарственные формы имеются указания о необходимости утверждения статистически обоснованных планов отбора образцов для оценки качества анализируемой продукции.

Значительный объем данных, касающихся общих вопросов отбора проб, содержится в Фармакопее США [9], например, статистические способы формирования выборки (образца, пробы) рассмотрены в монографии <1010> «Аналитические данные — интерпретация и обработка». Статистический план отбора проб для нерасфасованных вспомогательных веществ на производстве приведен в монографии <1080> «Нерасфасованные фармацевтические вспомогательные вещества — сертификат анализа», а монография <1097> «Методы отбора проб нерасфасованных порошков» представляет собой руководство по процедуре отбора проб нерасфасованных порошковых систем, включающее теоретическое обоснование и методики практического выполнения отбора репрезентативных проб различных порошковых систем. В монографиях США [10] также затрагиваются отдельные аспекты процедуры отбора проб лекарственных форм: аэрозолей, назальных спреев, дозированных аэрозолей и порошковых аэрозолей <601>, нестерильных ингаляционных и назальных препаратов для микробиологического исследования <610>, медицинских газов <413>, <415>, мягких лекарственных форм для проверки показателя «Однородность в упаковках» <3>, инъекционных и офтальмологических растворов для проверки механических включений <788>, <789>, <1788> и др. При выборе плана отбора проб ЛС, материалов и продукции Фармакопея США, также как и Руководство ВОЗ, предлагают придерживаться соответствующих стандартов отбора проб, указывая, например, на *ISO 2859*, *ANSI/ASQ Z1.4* и другие документы.

В ГФ Республики Беларусь (1 т., 2006) имеется монография «Отбор проб» [11], в которую включены практически все положения статьи ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств». Эта монография содержит разделы, устанавливающие правила отбора проб из нерасфасованной продукции (ангро или *in bulk product*) и отбор проб готовых ЛС (готовой продукции). Указывается, что объектом отбора проб помимо ЛС, может быть и другая продукция (сырье, промежуточная продукция и т.п.), что отражено и в назва-

нии монографии «Отбор проб». В отличие от отечественной, монография ГФ Республики Беларусь содержит раздел «Основные понятия», а ее раздел «Общие правила» значительно дополнен. В него включены требования к процедуре отбора, к оборудованию для отбора проб, к персоналу, выполняющему отбор проб и другие требования.

Проведенный обзор отечественных и зарубежных документов, регламентирующих отбор проб ЛС в современном фармацевтическом анализе, показал, что при использовании в качестве национального стандарта по правилам отбора проб статьи ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» [1] необходим ее пересмотр с актуализацией требований и гармонизацией подходов к процедуре отбора проб. Приводим некоторые аспекты, требующие, по нашему мнению, пересмотра при подготовке проекта общей фармакопейной статьи (ОФС) по отбору проб.

В связи с тем, что согласно действующим в РФ законодательным и нормативным требованиям, объектами отбора проб с целью определения качества ЛС являются не только непосредственно сами ЛС (готовые или в расфасовке «ангро»), но также продукция и материалы, используемые для их производства (изготовления), указанные объекты должны быть внесены в проект ОФС по отбору проб. Для характеристики вновь введенных терминов считаем необходимым в проект ОФС вместо подраздела «Примечание» ввести самостоятельный раздел, в котором привести определения терминов на основании законодательных, нормативных документов РФ, стандартов по статистическим методам, стандартов по упаковке и другим источникам, дающим наиболее точную характеристику определяемому объекту в данном контексте.

Все требования раздела «Общие правила» статьи «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» ГФ СССР XI изд., не утратившие своей актуальности, целесообразно включить в проект пересматриваемой ОФС, но дополнить новыми положениями по отбору проб, способствующими получению репрезентативного образца продукции для последующего проведения испытаний и достоверных результатов о качестве контролируемой продукции. Источниками вновь вводимых в проект ОФС положений могут являться законодательные и нормативные документы РФ, ВОЗ, ЕС, а также монографии зарубежных фармакопей.

Руководствуясь вышеуказанными документами, в проект ОФС следует внести требование о том, что отбор проб продукции должен проводиться в соответствии с утвержденной процедурой отбора проб, если иное не указано в частных фармакопейных статьях или другой нормативной документации, а также указать основные мероприятия, проводимые с конкретной продукцией для реализации опреде-

ленной цели, которые должна содержать разрабатываемая процедура.

В проекте ОФС должны быть описаны или обозначены предупредительные мероприятия, на выполнение которых необходимо обратить внимание перед отбором проб (подготовка помещения, оборудования, персонала, документации), и отметить обязательность контроля факторов, влияющих на достоверность результатов испытаний отобранных образцов.

Руководство ВОЗ [8], монографии зарубежных фармакопей [9–15] и некоторые отечественные документы [4], указывают на необходимость разработки и наличие статистически обоснованных планов отбора проб при отборе проб нерасфасованных порошков, осуществлении отдельных методов испытаний и/или выполнении контроля качества некоторых видов лекарственных форм. В статье ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» [1] дана формула расчета количества отбираемых единиц при описании многоступенчатого метода отбора проб ЛС. С целью гармонизации рекомендаций по данному вопросу с международными считаем, что в проекте пересматриваемой статьи следует отметить, что указанная формула относится к однородной продукции, а также предложить формулы расчета количества отбираемых единиц для других видов продукции и обозначить факторы, которые необходимо учитывать при формировании плана отбора проб.

В пересматриваемой статье ГФ СССР XI изд. рекомендуется при многоступенчатом отборе отбирать продукцию на каждой ступени случайным образом, но практически пробы могут быть отобраны от каждой выборочной единицы при сплошном контроле или другим методом в соответствии с разработанным статистически обоснованным планом отбора. Вместе с тем так как метод случайного отбора является наиболее широко используемым при выборочном контроле, необходимо предложить методику его практического выполнения, рекомендованную Руководством ВОЗ [8] и Фармакопеей США [9]: «Для осуществления случайного отбора проб необходимо последовательно пронумеровать каждую выборочную единицу, затем воспользовавшись таблицей случайных чисел (или сгенерированными компьютером случайными числами) установить, из каких случайных выборочных единиц производить отбор необходимого количества проб».

Необходимо уточнить, изменить и дополнить с учетом ранее регламентированных требований отечественных документов по отбору проб ЛС для целей их сертификации [3] и других документов, требования статьи «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» ГФ СССР XI изд. [1] о наружном осмотре «упаковочной тары» для последующего принятия решения. Предварительно следует привести терми-

ны «упаковка», «тара» и их дефиниции в соответствие с действующими стандартами [16], нормативными и законодательными документами РФ [2, 4], а текст желательно дополнить контролируемыми при внешнем осмотре параметрами, например, следующим образом: «Перед отбором проб необходимо произвести внешний осмотр каждой упаковочной единицы всей серии (партии) продукции. При осмотре обратить внимание на соответствие упаковки, в которой находится продукция и ее маркировки, требованиям нормативной документации, определить количество продукции, целостность и наличие пломб на упаковке, правильность оформления сопроводительной документации и соответствия в ней данных серии (партии) продукции, предназначенной для отбора проб».

Так как некоторые источники [8] в установленных случаях допускают производить отбор проб продукции из поврежденных упаковок, то соответствующий текст пересматриваемой ОФС можно дополнить рекомендациями о том, что допускается отбор проб каждой от каждой единицы продукции из поврежденной упаковки с целью проведения полного контроля качества продукции.

Анализируемые отечественные [1, 5] и зарубежные [7, 8, 11] источники содержат значительный объем требований и рекомендаций по соблюдению санитарно-гигиенического и безопасного режима работы при отборе проб, которые могут быть включены в проект ОФС. В отношении отбора проб «ядовитых и наркотических ЛС» необходимо исправить формулировку статьи в соответствии с действующими законодательными документами, например, следующим образом: «При отборе проб ЛС, материалов и продукции, относящихся к наркотическим средствам, психотропным веществам и их прекурсорам, следует руководствоваться действующими законодательными документами РФ и частными фармакопейными статьями или другими нормативными документами».

Особенности отбора проб нерасфасованной продукции целесообразно отразить в самостоятельном разделе, так же, как в статье, рекомендуемой к пересмотру. Приведенные в этом разделе требования будут применимы при отборе проб фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ, предназначенных для производства (изготовления) ЛС, нерасфасованных (*in bulk product*) продуктов, предназначенных для дальнейшей расфасовки, упаковки, маркировки на том же предприятии или переданных на расфасовку и упаковку другому предприятию, а также при отборе проб промежуточной продукции при внутрипроизводственном контроле на фармацевтическом предприятии. В проекте ОФС этапы отбора пробы из нерасфасованной продукции следует привести более полно и последовательно, включая некоторые рекомендации зарубежных документов [8, 10],

подробнее изложить требования к пробоотборникам и другому оборудованию, используемому при отборе проб, а также обратить внимание на практический аспект проверки однородности отобранных проб. Руководство ВОЗ поясняет, что признаками неоднородности проб могут быть различия по форме, размеру или цвету частиц в кристаллической, гранулированной или порошкообразной массе твёрдого вещества; влажные корки на гигроскопических веществах; расположение твердых веществ в жидких субстанциях; расслоение жидких субстанций и т.д.

Считаем возможным не ссылаться на конкретную нормативную документацию в разделе по отбору выборок готовых ЛС, а указать, что отбор выборок ЛС осуществляется в соответствии с требованиями ОФС на конкретные лекарственные формы, на методы испытаний или в соответствии с требованиями частных фармакопейных статей.

Пересмотр статьи ГФ СССР XI изд. «Отбор проб (выборки) лекарственных средств» будет способствовать гармонизации, содержащихся в ней требований с мировыми стандартами.

ЛИТЕРАТУРА

1. ОФС «Отбор проб (выборки) лекарственных средств». Государственная Фармакопея СССР XI изд. Вып. 2. 1990.
2. Федеральный закон РФ от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
3. Постановление Правительства РФ от 15.10.2012 № 1043 «Об утверждении положения о федеральном государственном надзоре в сфере обращения лекарственных средств».
4. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств. Good manufacturing practice for medicinal products (GMP)».
5. Постановление Правительства РФ от 01.12. 2009 г. № 982 «Об утверждении единого перечня продукции, подлежащей обязательной сертификации, и единого перечня продукции, подтверждение соответствия которой осуществляется в форме принятия декларации о соответствии».
6. ОФС 42-0013-03 «Правила приёмки лекарственного растительного сырья и методы отбора проб».
7. Правила, регулирующие лекарственные средства в Европейском Союзе. Т. 4. Правила ЕС по надлежащей производственной практике лекарственных средств для человека и применения в ветеринарии. «Rules Governing Medicinal Products in European Union. V. 4. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use».
8. 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.
9. United States Pharmacopoeia 35th edition (USP 35- NF30) (Электронный ресурс).
10. European Pharmacopoeia 7th edition. (Электронный ресурс).
11. ОФС «Отбор проб». Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Т. 1. 2006.
12. The International Pharmacopoeia 4th edition. (Электронный ресурс).
13. Japanese Pharmacopoeia 16th edition. (Электронный ресурс).
14. British Pharmacopoeia. (Электронный ресурс).
15. Государственная Фармакопея Украины. 1-е изд. Доп. 1–4. 2004–2011 гг.
16. ГОСТ 17527-2003 «Межгосударственный стандарт. Упаковка. Термины и определения».

ФАРМАКОЭКОНОМИКА – МЕТОДОЛОГИЧЕСКАЯ ОСНОВА ОПТИМИЗАЦИИ УПРАВЛЕНИЯ КАЧЕСТВОМ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ В СТАЦИОНАРЕ

Л.Б. Васькова, Н.В. Романцева

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва
nataroma2004@mail.ru

Резюме: В настоящей работе представлены результаты социологического исследования, проведенного в 2011 году на базе 45 ЛПУ г. Москвы по оценке эффективности использования организационно-экономических подходов к управлению качеством лекарственного обеспечения. Выделена проблематика необходимости экономической оценки стоимости лекарственной терапии на основе методологии фармакоэкономики. Авторами предложены дефиниции таких понятий, как «фармакоэкономическое управление», «менеджер по фармакоэкономике», а также даны научно обоснованные рекомендации по оптимизации системы оказания фармацевтической помощи больным на уровне стационара на основе методологии фармакоэкономики. Большинство респондентов отмечена необходимость экономической оценки стоимости лекарственной терапии и введение новой должности «менеджер по фармакоэкономике» в штат стационара, что позволит оптимизировать систему оказания лекарственной помощи больным на уровне стационара.

Ключевые слова: лекарственное обеспечение, лекарственная помощь, фармакоэкономика, управление качеством, менеджер по фармакоэкономике.

PHARMACOECONOMICS AS A METHODOLOGICAL BASIS FOR OPTIMIZING DRUG ASSURANCE QUALITY MANAGEMENT IN HOSPITALS

L.B. Vas'kova, N.V. Romantseva

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Abstract: The article presents the results of the social research conducted in 2011, using 45 healthcare facilities in Moscow in order to assess the efficacy of organizational and economic approaches to drug provision quality. It highlights the problematic of the need for economic evaluation of the cost of drug therapy based on the methodology of pharmacoeconomics. The authors propose definitions of certain concepts such as «pharmacoeconomic management», «pharmacoeconomics manager». Evidence-based guidelines for optimizing provision of pharmaceutical care to patients at a hospital level based on the methodology of pharmacoeconomics is also provided. Most respondents recognize the need for economic evaluation of drug therapy and introduction of a new position «pharmacoeconomics manager» in hospital stuff, which will optimize drug provision quality at a hospital level.

Key words: drug provision, drug assurance, pharmacoeconomics, quality control, pharmacoeconomics manager.

Необходимость модернизации фармацевтического сектора здравоохранения как в целом по стране, так и на региональном уровне определяется рядом серьезных причин. На фоне общих негативных тенденций социально-экономического развития, наблюдаемых в последние годы, специалисты отмечают:

- высокие темпы роста затрат на лекарственную помощь, при этом рост финансовых затрат не обеспечивает увеличения объемов и качества лекарственной помощи;
- снижение социальной роли лекарственной помощи в связи с недоступностью для большинства населения современных эффективных лекарственных препаратов из-за отсутствия необходимых денежных средств;
- поэтапность реформирования системы здравоохранения в целом [1].

Механизм рыночных отношений в фармацевтической сфере эффективно может быть реализован только через внедрение четкого профессионального регламента при наличии объективной информации и

существовании стимулов для субъектов лекарственного обеспечения (ЛО): производителей лекарственных средств (ЛС), оптовых и розничных структур и потребителей (лечебных учреждений и населения).

Важным источником информации, способствующим принятию правильных управленческих решений предприятиями фармацевтической промышленности, лечебно-профилактическими учреждениями, а также конечными потребителями, является экономическая оценка медицинских технологий оказания помощи [1].

Отличительной чертой таких экономических оценок является то, что обязательно учитываются как расходы на конкретное лечебное, диагностическое, хирургическое или консервативное вмешательство, так и экономические последствия его проведения. Экономические исследования представляют также интерес для системы здравоохранения и общества в целом в связи с необходимостью: сдерживания роста затрат на здравоохранение; оценки общей стоимости разных методов лечения; профилактики и диагности-

ки заболеваний; выбора стратегически рациональных медицинских вмешательств и подходов к использованию бюджета; определения «социально-экономической стоимости выделенных денег».

Фармакоэкономика как составная часть экономики здравоохранения, вызывает все больший интерес как у фармацевтических компаний и практических врачей, так и у органов здравоохранения и администрации лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ).

Наиболее важными факторами, определяющими эффективность системы здравоохранения на всех этапах оказания медицинской и лекарственной помощи населению, являются рациональное использование и доступность лекарственных препаратов (ЛП) и фармацевтической помощи в целом. ЛО требует особого внимания в условиях реформирования системы оказания медицинской помощи населению, так как это связано с его высокой экономической составляющей в расходах здравоохранения [2].

Изучение отечественной и зарубежной литературы показало, что одна из главных проблем системы управления качеством ЛО сосредоточена на уровне ЛПУ [4, 5, 7].

В связи с этим чрезвычайно актуальна задача фармакоэкономического управления лекарственной помощью стационарным больным, поскольку в России до сих пор отсутствует методология фармакоэкономического управления на различных уровнях, в том числе и на стационарном этапе оказания помощи [4].

При проведении научных исследований по данному направлению нами предложены дефиниции таких понятий, как *фармакоэкономическое управление* и *менеджер по фармакоэкономике* [4].

Фармакоэкономическое управление — это особый вид управленческой деятельности, осуществляемой на федеральном, региональном и на учрежденческом уровне оказания лекарственной помощи населению и ЛПУ, сущность которого заключается в управлении лекарственными ресурсами и современными медицинскими технологиями и программами на основе использования фармакоэкономического анализа.

Объектами фармакоэкономического управления являются, с одной стороны, затраты на оказание лекарственной помощи и иные виды затрат, а с другой стороны — показатели качества жизни пациентов до, во время проведения назначенного курса фармакотерапии и после его проведения и соотношение этих показателей с затратами [4].

Согласно Приказу № 1022н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи населению по профилю «Клиническая фармакология» в целях повышения эффективности и безопасности лекарственной терапии, назначенной пациенту в соответствии с установленными в ЛПУ стандартами, медицинская помощь населению должна оказываться при участии врача — клинического фармаколога, который должен

заниматься проведением фармакоэкономического анализа. Однако на практике это часто не выполняется в силу тех или иных причин. Ускорить решение данного вопроса могли бы провизоры, прошедшие специальную подготовку, то есть менеджеры по фармакоэкономике [5, 10].

Менеджер по фармакоэкономике (менеджер по ФЭ) — это специалист, осуществляющий фармакоэкономическое управление, владеющий соответствующими методами, методиками и технологиями проведения фармакоэкономического анализа [4].

Задачей специалиста, занимающегося фармакоэкономическими исследованиями, является получение информации о фармакоэкономической эффективности препарата или схемы лечения, его преимуществах перед уже имеющимися ЛП и схемами фармакотерапии, а также предоставление сведений в соответствующие структуры (государственные, ЛПУ и т.д.) для принятия рациональных управленческих решений. Например, если такие преимущества найдены, могут быть пересмотрены стандарты лечения того или иного заболевания, что способно заметно повлиять на долю препарата и компании на рынке [7].

Целью настоящей работы явилась оценка эффективности использования организационно-экономических подходов к управлению качеством лекарственного обеспечения в ЛПУ, а также выработка научно обоснованных рекомендаций по его оптимизации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящая работа выполнялась в соответствии с планами научных диссертационных исследований кафедры организации и экономики фармации Первого МГМУ имени И.М. Сеченова.

Поскольку проводилось выборочное исследование, необходимо было изучить репрезентативность выборочной совокупности по отношению к признакам генеральной совокупности. Выборка респондентов исследования была случайной. На сегодняшний день в Москве насчитывается около 80 городских больниц, однако в связи с масштабной реорганизацией и оптимизацией коечного фонда невозможно назвать точное число ЛПУ, подведомственных Департаменту здравоохранения; наша выборка составила более 50% от генеральной совокупности, таким образом, были опрошены специалисты из 45 ЛПУ. Иными словами, в нашу выборку попал каждый второй стационар г. Москвы с терапевтическим и кардиологическим отделениями. Для обеспечения полноты выборки были исследованы специалисты двух различных областей медицины: исполняющие фармацевтические органы (специалисты больничных аптек), а также исполняющие медицинские органы (врачи московских ЛПУ). Необходимо отметить, что большинство респондентов, принявших участие в

опросе, имели стаж работы по специальности более 6 лет, а также ученую степень. Эти данные говорят об авторитетности выбранных кандидатов и возможности использования их мнения в качестве экспертного.

Изучению подлежало 140 анкет; из них 100 анкет для врачей и 40 анкет для фармацевтических работников.

Базами проводимого исследования явились 45 ЛПУ г. Москвы.

Специально для проведения настоящего исследования были разработаны анкеты, предлагаемые врачам и провизорам. Они состояли из двух блоков: первый содержал в себе вопросы, относящиеся к персональным данным об эксперте (уровень образования, наличие ученой степени, стаж работы и занимаемая должность); второй – вопросы, касающиеся ЛО стационара.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По стажу работы респонденты распределились следующим образом: 45% врачей и 36% провизоров имели стаж работы 11–20 лет (45%), 30% врачей и 54% провизоров – 6–10 лет, 13% врачей и 8% провизоров работали по специальности до 5 лет, 12% врачей – более 20 лет.

По результатам распределения респондентов по занимаемым должностям и наличию ученой степени стало известно, что 57% врачей имели ученую степень и 80% из них занимали руководящие должности (главный врач, заведующий отделением); 5% провизоров имели ученую степень и 56% занимали руководящие должности (директор аптеки, заместитель директора аптеки).

В анкете врачам и провизорам предлагалось оценить ЛО стационарных больных: 86% врачей и 92% провизоров оценивали ЛО как удовлетворительное.

Установлено, что 66% опрошенных врачей и 62% провизоров не владели знаниями о применении методик, используемых для определения потребности стационара в ЛП, 20% врачей и 25% провизоров ответили, что используется фармакоэкономический анализ, 11% врачей и 13% провизоров ответили, что используется частотный анализ и 3% ответили, что используется ABC/VEN анализ.

По мнению большинства опрошенных (50% врачей и 42% провизоров), потребность стационара в ЛП определяет заведующий отделением, 42% врачей и 33% провизоров ответили, что потребность стационара в ЛП определяет главный врач, 8% врачей и 25% провизоров ответили, что потребность стационара в ЛП определяет директор аптеки.

При анализе данных о клиническом фармакологе было показано, что подавляющее большинство опрошенных (96% врачей и 100% провизоров) считают наличие в штате стационара должности клинического фармаколога необходимым, кроме того, 84% врачей, работающих в стационарах, где есть клинический

фармаколог, ответили, что они обсуждают вопросы лекарственной терапии с клиническим фармакологом. Установлено, что 28% респондентов-врачей считают, что назначение ЛП ограничивает совокупность факторов: стоимость, побочные эффекты, кратность применения, ЛП не входит в льготный список, в формулярный список, в стандарты лечения; 15% опрошенных врачей затрудняются назвать определенные факторы, ограничивающие назначение тех или иных ЛП; 12% респондентов считают, что назначение ЛП ограничивает стоимость.

Из результатов анализа данных о частоте замены ЛП при неудовлетворительных результатах лечения было выявлено, что 65% респондентов считают, что неудовлетворительные результаты лечения требуют замены ЛП менее чем в 10% случаев; 24% считают, что неудовлетворительные результаты лечения требуют замены ЛП в 10–20% случаев; 6% не смогли назвать причины, влияющие на неудовлетворительные результаты лечения; 5% считают, что неудовлетворительные результаты лечения требуют замены ЛП более чем в 20% случаев.

Практически все провизоры-респонденты (97%) считают экономическую оценку стоимости лекарственной терапии необходимой.

Далее респондентам предлагалось определить, существует ли необходимость в менеджере по фармакоэкономике и стоит ли вводить эту должность в штат стационара: 75% врачей и 70% провизоров считают, что такой специалист в штате стационара необходим.

Кроме того, подавляющее большинство респондентов (43% врачей и 47% провизоров) отметили, что менеджер по фармакоэкономике должен иметь фармацевтическое образование; 20% врачей и 30% провизоров считают, что он должен иметь как фармацевтическое, так и экономическое образование.

По результатам опроса врачей было установлено, что подавляющее большинство респондентов (66% врачей и 62% провизоров) считают, что при наличии менеджера по фармакоэкономике ЛО стационарных больных улучшится.

Результаты опроса позволили установить, что 56% врачей считают, что должность менеджера по фармакоэкономике целесообразно внедрять в штат ЛПУ; 36% отметили, что такую должность целесообразно внедрять в штат аптеки.

По мнению большинства (60%) опрошенных врачей и (62%) провизоров, менеджер по фармакоэкономике должен подчиняться главному врачу; 24% врачей и провизоров – директору аптеки; 4% врачей – региональным органам управления здравоохранением.

Экспертная оценка современного состояния организации ЛО стационаров г. Москвы, имеющих в своем составе терапевтические и кардиологические отделения, показала, что существующая в настоящее время система не позволяет значительно улуч-

шить экономические показатели фармакотерапии без снижения показателей качества жизни стационарных больных. Действующая нормативно-правовая база не соответствует современным требованиям в полной мере и не предполагает использования современных методов фармакоэкономики. Использование методологии фармакоэкономики позволит организовать и рационально распределить ресурсы здравоохранения, прогнозировать перспективность внедрения новых лекарственных технологий, определять целесообразность различных методик лечения, оценивая их эффективность, безопасность и экономическую приемлемость. Решением проблемы рационализации лекарственной терапии и снижения затрат на нее, а также оптимизации ЛО предло-

жено введение в ЛПУ новой должности менеджера по фармакоэкономике, обязанностью которого должен стать контроль и осуществление деятельности по совершенствованию ЛО с применением фармакоэкономического анализа.

На основании результатов проведенного исследования можно сделать вывод о том, что большинство специалистов с медицинским и фармацевтическим образованием, работающих в ЛПУ/больничных аптеках, считают наличие должности менеджера по фармакоэкономике в штате ЛПУ/больничной аптеки необходимым, что в целом позволит повысить качество оказания лекарственной помощи больным и рационально расходовать ограниченные ресурсы государственного бюджета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лазебник Л.Б. и др. Фармакоэкономическое обоснование московской модели лекарственного обеспечения льготных контингентов населения // Экономический вестник фармации. 2003. № 8. С. 58–68.
2. Лескова Л. Почему льготникам не прописывают новые препараты // Российская газета. 2008. № 45. С. 12–14.
3. Фомина А.В. Лекарственное обеспечение населения на уровне первичного звена здравоохранения // Вестник новых медицинских технологий. 2006. № 2. С. 141.
4. Васькова Л.Б. Лекарственная помощь: фармакоэкономическое управление // Новая аптека. 2009. № 11. С. 49.
5. Васькова Л.Б. Менеджер по фармакоэкономике: требование времени // Новая аптека. 2009. № 12. С. 45–46.
6. Васькова Л.Б., Мусина Н.З. Методы и методики фармакоэкономических исследований. М.: Гэотар-Медиа. 2007. 112 с.
7. Васькова Л.Б., Лопатин П.В., Романов Б.К. Фармакоэкономика в фармации. Изд-во Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова. 2012. 188 с.
8. Белоусов Д.Ю. Зачем, где и как проводить фармакоэкономические исследования? // Фармакоэкономика. 2010. № 2. С. 19–21.
9. Лисицын Ю.П. Общественное здоровье и здравоохранение. Учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2007. 512 с.
10. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 22 ноября 2010 г. № 1022н г. Москва «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи населению по профилю "Клиническая фармакология"».

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ «ПЕРЕХОДА СОСТОЯНИЙ» В КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

И.С. Крысанов¹, Н.Д. Бунятян²

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
krysanov-ivan@mail.ru

Резюме: Представляя моделируемый процесс как набор определенных состояний здоровья и вероятностей перехода между ними, модели «перехода состояний» являются одной из самых распространенных методик, используемых в клинико-экономическом анализе и оценке технологий здравоохранения (ОТЗ). Цель данной публикации — определить основные подходы к использованию моделей «перехода состояний» в ОТЗ. Данные рекомендации направлены как на лиц, занимающихся моделированием, так и на лиц использующих результаты моделирования: клиницисты, производители ЛС, лица принимающие решение по лекарственному обеспечению.

Ключевые слова: модели «перехода состояний», модель Маркова, микросимуляция, Монте-Карло симуляция.

BASIC «STATE-TRANSITION» MODELING PRINCIPLES IN CLINICAL AND ECONOMICAL ANALYSIS

I.S. Krysanov¹, N.D. Bunyatyan²

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

²Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Abstract: Presenting modeling process as a set of health states and transition probabilities among these states, state-transition modeling is one of the most widespread modeling techniques in clinical and economical analysis and health technology assessment (HTA). The goal of the present article is to identify main approaches to state-transition models application in the context of HTA. These recommendations are intended both for modelers and for users of modeling results such as clinicians, drug manufacturers, policymakers in pharmaceutical benefits.

Key words: state-transition modeling, Markov model, microsimulation, Monte-Carlo simulation.

Модель «перехода состояний» (МПС), как и любая фармакоэкономическая модель позволяет, используя математический аппарат, оценить определенные аспекты течения заболевания на достаточном для принятия клинических и организационных решений уровне [9].

При построении таких моделей нужно в первую очередь определиться с рядом вопросов:

- какие характеристики реального объекта включить;
- на какой промежуток времени рассчитать модель (временной горизонт);
- какую целевую популяцию выбрать;
- какие вмешательства включить;
- какой дизайн выбрать и др.

Цель данной статьи — дать читателю ответы на базовые вопросы, возникающие при построении моделей «перехода состояний». Использование МПС это один из методов компьютерного аналитического моделирования, включающий Марковскую модель (когортную симуляцию) и индивидуальную микросимуляцию (симуляция Монте Карло первого порядка) [1, 2]. Чаще всего МПС используется при оценке факторов риска для различных вмешательств, скрининговых программ, диагностических процедур, лечебных стратегий и др. [11].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ «ПЕРЕХОДА СОСТОЯНИЙ»

Итак, множество клинических ситуаций возможно описать концепцией цепи «состояний», «переходов» между ними и «вероятностями переходов». При этом методология МПС предполагает большое разнообразие подходов, так, в некоторых моделях допускается возможность взаимодействия между группами пациентов (вероятности переходов зависят от других пациентов), сами переходы возможны как в определенные временные интервалы, так и непрерывно.

В данной публикации мы подробно рассмотрим: «когортные» (или модели Маркова) [1] и «индивидуальные модели» (Монте-Карло симуляции первого порядка, «микросимуляции») [2].

СТРУКТУРА МОДЕЛИ

К ключевым параметрам МПС относятся: клинически и экономически значимые состояния здоровья, переходы между ними, вероятности переходов, длина цикла, экономическая и клиническая ценность состояний. Процесс моделирования предполагает, что пациент находится в одном из множества взаимоисключающих состояний в течение одного марковского цикла. События, которые происходят внутри одного цикла, могут

Таблица 1

СРАВНЕНИЕ МАРКОВСКОЙ МОДЕЛИ И МИКРОСИМУЛЯЦИИ

Характеристики	Модель Маркова	Микро-симуляция
Простота создания модели	Высокая	Средняя
Простота анализа модели	Высокая	Средняя
Простота восприятия модели для неспециалиста	Высокая	Средняя
Марковское допущение	Да	Нет
Простота моделирования в подгруппах	Средняя	Высокая
Большое количество промежуточных состояний	Да	Нет
Наличие специального программного обеспечения	Да	Да (нужны дополнительные навыки)

быть смоделированы при помощи «дерева марковских циклов». Зная клиническую, экономическую ценность и количество циклов, в течение которых каждый пациент находится в том или ином состоянии можно рассчитать продолжительность жизни пациентов, продолжительность жизни пациентов с поправкой на качество и ожидаемые затраты. Принципиальным преимуществом использования когортной симуляции является простота самого процесса моделирования если количество состояний невелико и используется специальное программное обеспечение. К недостаткам следует отнести «марковское допущение», из которого следует, что направление и вероятность последующих переходов не зависит от предыдущих, что не всегда возможно с клинической точки зрения. Этого можно избежать, если создать достаточное количество промежуточных состояний, но при этом усложняется сама модель и ее анализ. Использование микросимуляции в МПС, не имеет ограничений в виде «марковского допущения» (Табл. 1). Для анализа таких моделей используется Монте-Карло симуляция первого порядка, при которой переходы между состояниями носят случайный характер, что позволяет сильно сократить количество состояний. Сложность заключается в том, что данный подход для получения достоверных результатов требует проведение расчетов на примере очень больших когорт пациентов (сотен тысяч и даже миллионов), что накладывает ограничения на вычислительную мощность используемых компьютеров. Рисунок 1 показывает сущность процесса марковского моделирования и микросимуляции.

Обычно процесс моделирования начинается с узла «принятия решения», из которого выходят ветви, обозначающие различные виды вмешательств, — каждая приводит к марковскому циклу (Рис. 2А) или «дереву решений», а затем к марковскому циклу (Рис. 2Б).

ВИДЫ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

В процессе построения моделирования выделяют несколько типов вмешательств [13]:

- профилактика;
- скрининг;
- диагностика;
- лечение.

Модель, построенная для оценки эффективности профилактики и риска развития заболевания, анализирует какие факторы риска действуют и приводят к развитию заболевания [6]. В качестве моделируемой когорты выбираются здоровые пациенты.

При оценке скрининговых стратегий различают два типа: одноразовый скрининг (новорожденные [7], генетический скрининг [8] и т.д.) и повторяющийся (онкологические заболевания [14] или ВИЧ [10]). Скрининговые стратегии могут различаться по типу используемых тестов, скрининговых интервалов и возрастным группам.

Модели по оценке диагностических технологий, позволяют выбрать оптимальную стратегию для когорты

пациентов с симптомами определенного заболевания. При этом возможно сравнение простого диагностического тестирования со сложным, одного критерия тестирования с другим и т.д.

Оценка эффективности различных видов терапии возможна для популяции пациентов с известной вероятностью наступления определенных исходов. В данном случае процесс моделирования отражает естественное течение заболевания и вероятный прогноз без надлежащего лечения [12].

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫБОРУ ТИПА МОДЕЛИ

Прежде чем перейти к выбору между когортной симуляцией и микросимуляцией, нужно определиться с основными характеристиками моделируемой когорты (начальное состояние, факторы риска, время нахождения в состоянии), которые определяют вероятности переходов (заболеваемость, смертность) и ценности состояний. Преимущества использования микросимуляции заключаются в возможности индивидуального моделирования, при котором будущие состояния зависят от предыдущих [5]. Надо отметить, что этот процесс требует большой вычислительной мощности компьютера, которая может быть ограничена при использовании вероятностного анализа чувствительности. В когортной МПС имеется сложность с моделированием непрерывных переменных (артериальное давление и т.д.), однако существуют руководства, которые позволяют решить эту проблему [4]. Если предполагаемая модель может быть представлена разумным количеством состояний здоровья, которые включают все характеристики изучаемой проблемы, выбор лучше остановить на когортной симуляции из-за ее прозрачности, эффективности и простоты вычислений, в противном случае лучше отдать предпочтение микросимуляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, моделирование с использованием МПС является мощным инструментом, который нужно использовать при принятии решений в системе ОТЗ. К сожалению, в рамках одной

статьи невозможно рассмотреть все вопросы, возникающие при построении МПС, поэтому более подробно к рекомендациям по дизайну и анализу МПС мы надеемся вернуться в последующих публикациях.

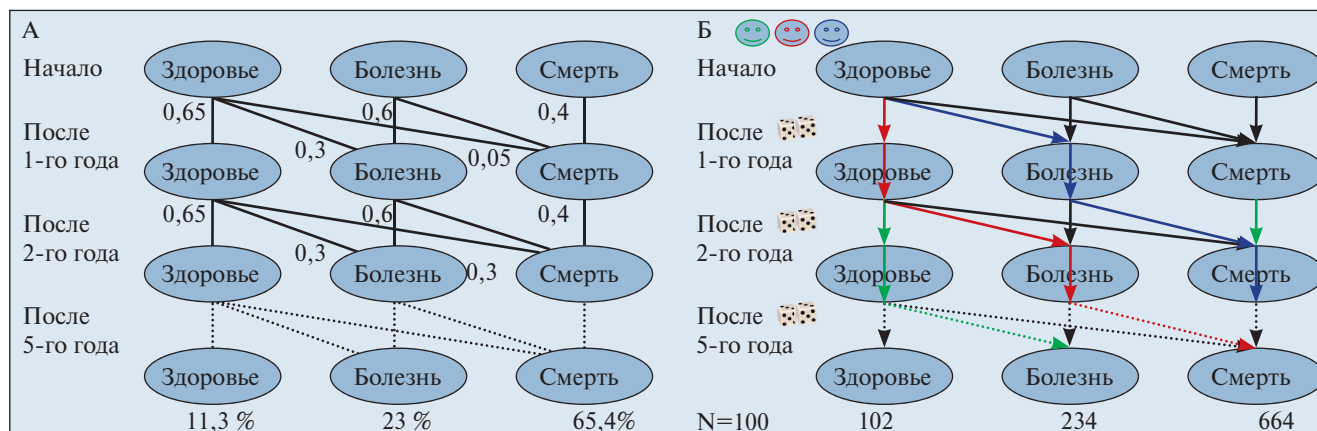


Рис. 1. Отличие когортной симуляции (А) от микросимуляции (Б) [11]

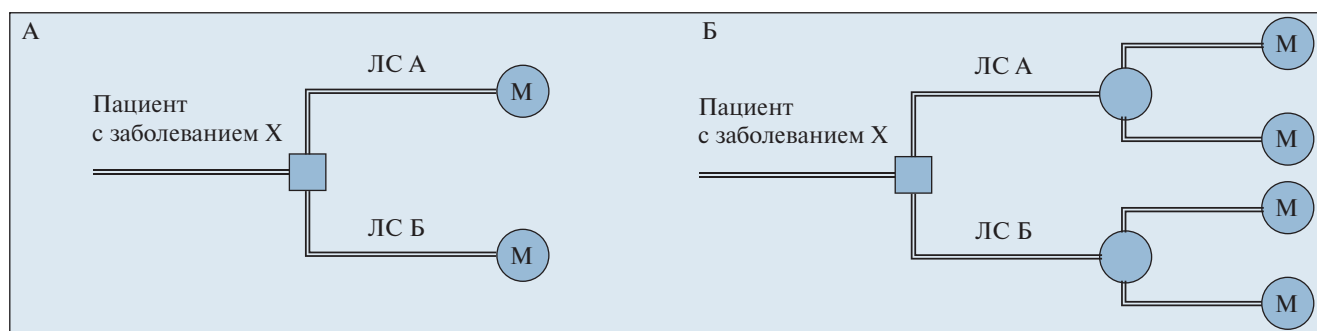


Рис. 2. Структура моделей «перехода состояний» [11].

А — первое событие моделируется с помощью «дерева марковских циклов», для каждой стратегии лечения ветви сразу переходят к марковскому циклу. Б — модель начинается с «дерева решений» и затем переходит к множественным марковским циклам

ЛИТЕРАТУРА

1. Крысанов И.С. Введение в фармакоэкономическое моделирование // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2008. № 1. С. 7–9.
2. Крысанов И.С. Имитационное моделирование на примере метода Монте-Карло симуляции // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2008. № 2. С. 3–5.
3. Beck J.R., Pauker S.G. The Markov process in medical prognosis // Med. Decis. Making. 1983. № 3. P. 419–58.
4. Bentley T.G.K., Weinstein M.C., Kuntz K.M. Effects of categorizing continuous variables in decision-analytic models // Med. Decis. Making. 2009. № 29. P. 549–56.
5. Clarke P.M., Gray A.M., Briggs A., et al. A model to estimate the lifetime health outcomes of patients with type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) outcomes model // Diabetologia. 2004. № 47. P. 1747–59.
6. Col N.F., Eckman M.H., Karas R.H. et al. Patient-specific decisions about hormone replacement therapy in postmenopausal women // JAMA. 1997. № 277. P. 1140–7.
7. Grill E., Hessel F., Siebert U. et al. Comparing the clinical effectiveness of different new-born hearing screening strategies: a decision analysis // BMC Public Health. 2005. № 5. P. 12.
8. Meckley L.M., Gudgeon J.M., Anderson J.L., et al. A policy model to evaluate the benefits, risks and costs of warfarin pharmacogenomic testing // Pharmacoeconomics. 2010. № 28. P. 61–74.
9. Roberts M., Russel L., Paltiel A.D. et al. Conceptualizing a model: a report of the ISPOR-SMDM modeling good research practices task force-2 // Value Health. 2012. № 15. P. 804–811.
10. Sanders G.D., Bayoumi A.M., Sundaram V. et al. Cost effectiveness of screening for HIV in the era of highly active antiretroviral therapy // N. Engl. J. Med. 2005. № 352. P. 570–85.
11. Siebert U., Alagoz O., Bayoumi A.M. et al. State-transition modeling: a report of the ISPOR-SMDM modeling good research practices task force-3 // Value Health. 2012. № 15. P. 812–820.
12. Siebert U., Sroczynski G. German Hepatitis C Model (GEHMO) Group, HTA Expert Panel on Hepatitis C. Effectiveness and cost-effectiveness of initial combination therapy with interferon/peginterferon plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C in Germany: a health technology assessment commissioned by the German Federal Ministry of Health and Social Security // Int. J. Tech. Assess Health Care. 2005. № 21. P. 55–65.
13. Siebert U. When should decision-analytic modeling be used in the economic evaluation of health care? // Eur. J. Health. Econom. 2003. № 4. P. 143–50.
14. Zauber A.G., Lansdorp-Vogelaar I., Knudsen A.B. et al. Evaluating test strategies for colorectal cancer screening: a decision analysis for the US Preventive Services Task Force // Ann. Intern. Med. 2008. № 149. P. 659–69.

МЕЖДУНАРОДНОЕ РАБОЧЕЕ СОВЕЩАНИЕ ЕМА ПО ВОПРОСАМ ПРОЗРАЧНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

22 ноября 2012 года в столице Великобритании Лондоне, в штаб-квартире Европейского агентства по лекарственным средствам (*European Medicines Agency, ЕМА*) состоялось рабочее совещание по Проекту прозрачности клинических исследований (КИ). Основной целью совещания было определение практических и юридических разногласий, которые потребуются решить в будущем при освещении результатов КИ [1].

ЕМА принимает решения на основании результатов КИ, проведенных и предоставленных фармацевтическими компаниями. Агентство публикует отчеты КИ с конца 2010 года, при этом уже выпущено более 1,5 миллионов страниц КИ, что является частью программы возможного доступа к документам. В настоящее время *ЕМА* работает над тем, чтобы публиковать результаты КИ для лекарственных препаратов, проходящих экспертизу, заранее. При этом возникает много регуляторных и практических проблем, которые должны быть решены прежде, чем эта цель будет достигнута [2, 5].

На рабочем совещании присутствовали представители различных организаций, заинтересованных в решении ряда спорных вопросов [6]. Все собранные мнения необходимы *ЕМА* для определения, как должен осуществляться доступ к результатам КИ, чтобы не нарушить права правообладателей лекарственных средств.

Открывал и вел рабочее совещание профессор Гвидо Рази (Guido Rasi¹). Он представил группы выступающих:

- сотрудники *ЕМА* выступали как координаторы;
- представители пациентских организаций;
- представители фармацевтической промышленности;
- представители научно-исследовательских институтов, ассоциаций, сферы здравоохранения.

Гвидо Рази указал, что потребности современного рынка лекарственных средств диктуют необходимость введения в практическую деятельность *ЕМА* упреждающих публикаций КИ сразу же, как только регулирующие органы власти примут об этом решение. В связи с этим, Агентство предлагает рассмотреть Проект прозрачности клинических исследований в процессе диалога со всеми заинтересованными правообладателями КИ, чтобы убедиться, что их взгляды и проблемы приняты во внимание. В круг обсуждаемых вопросов должны быть внесены все

практические, юридические и регуляторные аспекты, которые необходимо изучить. Данное рабочее совещание — это только первый шаг в решении столь важной проблемы, как прозрачность результатов КИ. Перед аудиторией Гвидо Рази поставил два важных вопроса, на которые необходимо найти ответы в процессе данного заседания:

1. Зачем открывать информацию о результатах КИ для всех?

2. О чем сегодня говорить не следует?

При ответе на первый вопрос, Гвидо Рази отметил, что решение о прозрачности КИ должно строиться на доверии и защищенности, на этической ответственности перед пациентами, включенными в КИ. Отвечая на второй вопрос, о чем следует умолчать, так это о новом своде законов по КИ, упустив детализацию, и об отдельных специфических случаях. В заключении своего выступления он отметил, что Агентство собрало всех заинтересованных лиц не только для того, чтобы решить публиковать ли результаты КИ, но и для того, чтобы попытаться предупредить будущие проблемы в данной области.

Кроме того, были заслушаны следующие докладчики.

Джованни Буттарелли (Giovanni Buttarelli²) привлек внимание ко многим комитетам по защите данных и связал обсуждаемые проблемы на международном уровне. Он предложил выработать общие положения Проекта, как документа, сконцентрировавшись на упреждающих публикациях КИ, причем на ранних стадиях КИ, с обязательной защитой персональных данных пациентов. Начиная с 2010 года, обсуждая вопросы конфиденциальности информации о КИ с уполномоченным по правам человека в странах ЕС, он пришел к выводу о необходимости разработки *ЕМА* основополагающего (базового) документа по КИ, который удовлетворил бы интересы общественности и был бы понятен широкому кругу людей. При этом он высказал позицию, что в этом документе должны содержаться только общие правила по защите конфиденциальности КИ. Индивидуальные же данные пациентов ни в коем случае не должны разглашаться *ЕМА*. В заключении он отметил, что главное, что должно быть прописано в документе, доступном общественному мнению, это степень обязательности исполнения тех или иных пунктов документа.

¹ Guido Rasi — Исполнительный директор и член Совета директоров ЕМА.

² Giovanni Buttarelli — европейский наблюдатель по защите данных, назначенный Европейским парламентом. Генеральный секретарь итальянской судебной власти.

Герхард Отто Грилл (Gerhard Otto Grill³) указал, что *ЕС* и *ЕМА* работают в тесном контакте, начиная с 2001 года, когда был подписан документ о взаимодействии этих организаций, поэтому *ЕМА* четко следует правилам и принципам, принятым в странах *ЕС*. В процессе совместной работы к 2007 году был обнаружен ряд спорных вопросов, касающихся некоторых пунктов документа. Например, *ЕС* рекомендовало исключить коммерческие вопросы из документа по *КИ*, а *ЕМА* эту рекомендацию не выполнило. Поэтому акцент в документе по данному Проекту должен быть сделан на степени обязательности выполнения тех или иных положений документа.

Петер Гётцше (Peter C. Göttsche⁴) говорил о большом объеме информации о проводимых *КИ*. Он высказал мнение о необходимости создания специальной статистической программы для облегчения обработки данных. А для подобного рода программ является обязательным, чтобы вся информация о *КИ* была открыта.

Сюзен Форда (Susan Forda⁵) акцентировала внимание аудитории на том, что рассматриваемый вопрос является очень значимым для фармацевтических производителей. Она говорила о необходимости защиты интеллектуальной собственности. Решить данную проблему, не нарушая коммерческой составляющей, можно только совместными усилиями с *ЕМА*.

Нейл Вейр (Neil Weir⁶) сказал, что при рассмотрении любых вопросов по *КИ* обязательное преимущество должно отдаваться пациенту. При этом отметил, что доступ к информации о *КИ* расширяет наше понимание этиологии заболеваний, механизмов действия лекарственных препаратов, определяет их терапевтические дозы. Только крепкие партнерские отношения, тесная работа в команде обеспечат лучшее взаимопонимание между фармацевтическими компаниями, исследовательскими организациями и врачами. Это позволит делиться полученными знаниями, а высокие технологии поддержат эту систему и сделают ее коммерчески выгодной.

Бен Голдакр (Ben Goldacre⁷) выступал за открытый доступ к информации о *КИ*, за необходимость обязательной защиты информации о пациентах, о дополнительном включении информации о возможных рисках для пациентов, о возможности публикации протокола *КИ* до начала проведения исследования.

Вирджиния Барбур (Virginia Barbour⁸) в первую очередь указала на необходимость закрытия персональных данных пациентов для обеспечения их безопасности. Во вторую — на необходимость стандартизации *КИ*, а именно, на необходимость ввести: а) стандарты для защиты анкетных данных; б) стандарты для мета-исследований и других типов подтверждающего исследования; в) правила принятия на себя ряда обязательств для того, чтобы разделить исходные данные (персональные данные пациентов) от данных собственно *КИ*. И в третью — на возможность доступа к данным независимых экспертов.

Франсуа Хойе (François Houyez⁹) поддержал всех выступающих по вопросу защиты персональных данных, отметив, что для некоторых *КИ*, например, эпидемиологических или исследований метаболизма, требуются демографические показатели, такие как пол, возраст и др. Кроме того, он внес предложение о введении других методов статистического анализа, причем на этапе подготовки протокола *КИ*. Он рекомендовал *ЕМА* предусмотреть интересы третьей стороны, а также создать «черный» список по *КИ*.

Выслушав представителей всех заинтересованных сторон, *ЕМА* предлагает создать пять консультативных групп. Представители данных групп сфокусируют свою работу на пяти различных направлениях, определенных во время рабочего заседания, а именно:

- защита конфиденциальной информации о пациенте;
- определение форматов для представления результатов *КИ*;
- правила принятия на себя обязательств по *КИ*;
- надлежащая аналитическая практика;
- юридические аспекты.

³ Gerhard Otto Grill — уполномоченный по правам человека Европейского Союза (омбудсмен).

⁴ Peter C. Göttsche — сооснователь Центра сотрудничества Кохрейна (Библиотека Кохрейна); профессор университета Копенгагена, преподаватель дизайна Клинического исследования и анализа.

⁵ Susan Forda — партнер Международного регулирующего отдела фармацевтической компании SmithKline Beecham.

⁶ Neil Weir — научный сотрудник Лондонской школы гигиены и тропической медицины (The London School of Hygiene & Tropical Medicine — LSHTM). Работает над проблемами использования электронной медицинской документации в *КИ*. Ранее был научным сотрудником в Оксфордском Наффилд-Колледже и сотрудником Национального института по исследованиям в области здравоохранения (The National Institute for Health Research — NIHR).

⁷ Ben Goldacre — врач и медицинский журналист [7].

⁸ Virginia Barbour — одна из основателей и главный редактор ведущего медицинского журнала «PLoS Medicine», медицинский директор издательства PLoS [8].

⁹ François Houyez — сотрудник Европейской организации по редким заболеваниям (European Organization for Rare Diseases — EURORDIS), представляет рабочую группу Пациентов и Потребителей в *ЕМА*.

Таким образом, пять консультативных групп должны обратиться к следующим темам и ответить на вопросы, стоящие перед ЕМА:

1. Защита конфиденциальной информации о пациенте

Как Агентство может гарантировать, что сам пациент или любая другая личная информация о нем, будут соответствующим образом защищены? А именно, что пациенты не смогут быть идентифицированы в обратном порядке (прямо или косвенно) по опубликованным результатам КИ, и что правила относительно защиты анкетных данных будут выполняться всеми заинтересованными сторонами.

2. Определение форматов для представления результатов КИ

Как Агентство может гарантировать, что информация о результатах КИ будет доступна и представлена в ясном и понятном формате, который позволит быстро одобрить и внедрить соответствующее исследование в клиническую практику?

3. Правила принятия на себя обязательств по КИ

Есть ли правила или условия, которые должны быть соблюдены прежде, чем заинтересованные лица будут предоставлять данные КИ (например, необходимость предоставления аналитических планов и т.д.)?

4. Надлежащая аналитическая практика

Существуют ли рекомендации надлежащей аналитической практики, которые можно было бы запросить у Агентства; возможно ли обратиться в Агентство в ситуации, когда исследователь столкнулся с дополнительными исследованиями от третьих сторон?

5. Юридические аспекты

Есть ли какие-либо юридические аспекты, помимо защиты анкетных данных, которые должны быть определены до обсуждения проекта Агентства? Есть ли исключительные обстоятельства, при которых данные могут быть коммерчески конфиденциальными?

Таким образом, первое рабочее совещание по Проекту прозрачности КИ поставило перед всеми заинтересованными сторонами ряд сложных вопросов, требующих коллегиального решения и определенных временных затрат. Окончательные рекомендации от каждой консультативной группы будут получены к концу апреля 2013 г. [9].

Н.Н. Еременко, И.Е. Грознова

*Центр фармакопеи и международного сотрудничества
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России*

ЛИТЕРАТУРА

1. Workshop on clinical-trial data and transparency // European Medicines Agency [официальный сайт]. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/events/2012/07/event_detail_000656.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c3 (дата обращения: 12.08.2012).
2. Doshi P., Jefferson T. The imperative to share clinical study reports // PLOS Medicine. 2012. № 9.
3. Hrynaskiewicz I., Altman D.G. Towards agreement on best practice for publishing raw clinical trial data. Trials 10: 17. // Trials, 2009. Accessed: 09.03.2012. URL: <http://www.trialsjournal.com/content/10/1/17> (дата обращения 11.02.2013).
4. Random treatment assignment using mathematical equipoise for comparative effectiveness trials. / Selker H.P., Ruthazer R., Terrin N. [et al.] // Clinical and Translational Science, 2011. 4 (1). P. 10–16.
5. An independently derived and validated predictive model for selecting patients with myocardial infarction who are likely to benefit from tissue plasminogen activator compared with streptokinase. / Kent D.M., Hayward R.A., Griffith J.L. [et al.] // The American journal of Medicine, 2002. 113 (2). P. 104–111.
6. Speaker biographies // European Medicines Agency [официальный сайт]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2012/11/WC500134994.pdf (дата обращения 11.02.2013).
7. URL: <http://www.badsience.net/>
8. Open Clinical Trial Data for All? A View from Regulators // PLOS Medicine. URL: <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1001202#s3> (дата обращения 11.02.2013).
9. Workshop on access to clinical trial data – next steps // European Medicines Agency [официальный сайт]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Presentation/2012/12/WC500135721.pdf (дата обращения 11.02.2013).

НАДЛЕЖАЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ ПРАКТИКА: СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ

Развитие сотрудничества стран мирового сообщества в сфере обращения лекарственных средств (ЛС) ставит задачи по обеспечению их надлежащего качества. В связи с этим вопросы унификации требований, предъявляемых к ЛС, должны решаться путем согласования со всеми заинтересованными странами — участниками фармацевтического рынка. Как правило, стандартами качества ЛС являются соответствующие монографии на лекарственные формы, метода анализа, субстанции, препараты и т. д., содержащиеся в Международной, национальных и региональных фармакопеях.

Начало гармонизации материалов различных фармакопей было положено более 100 лет назад путем организации *FIP* — Международной фармакопейной федерации. Следующим шагом явилось создание Международной фармакопеи под эгидой Всемирной организации здравоохранения (1948 г.). В начале 90-х годов была организована фармакопейная дискуссионная группа (*PDG*), в которую вошли основные региональные фармакопеи: Американская (*USP*), Европейская (*EP*) и Японская (*JP*).

Основной задачей *PDG* являлась гармонизация текстов монографий на лекарственные формы, включая перечень показателей их качества, различные методы анализа и др., что, по сути, явилось ретроспективной гармонизацией различных стандартов качества.

Однако в процессе проведения этой работы оказалось, что все фармакопеи, за исключением Международной, тесно связаны с соответствующими требованиями национальных или региональных регуляторных органов, поэтому ретроспективная гармонизация оказалась непростой задачей. За 20 лет существования *PDG* было гармонизировано незначительное количество документов. В этой связи ВОЗ принял решение о том, что проспективная гармонизация может быть реальнее, однако и она поставила ряд сложных проблем, возникших после завершения начального этапа: постоянное поддержание проекта и утверждение соответствующих образцов стандартов качества, развитие логистического направления и т.д., что должно рассматриваться в долгосрочной перспективе. Однако полная гармонизация фармакопей возможна только при условии гармонизации регуляторных систем. Вместе с тем очевидно, что достижения науки и врачебной практики, протекающие процессы глобализации, появление на мировом и национальных фармацевтических рынках фальсифицированной фармацевтической продукции требуют постоянного обновления фармакопей. Укрепление

сотрудничества национальных фармакопейных комитетов и регуляторных органов, сопровождаемые взаимодействием с промышленностью, помогут решить новые задачи и преодолеть ограничения в ресурсах.

Первая попытка вернуться к теме международной гармонизации спецификаций контроля качества ЛС на общемировом уровне была предпринята на одном из заседаний 10-й Международной конференции органов по регулированию ЛС (*ICDRA*): «Фармакопейные спецификации — есть ли необходимость в едином глобальном подходе?», прошедшем в Гонконге 24 июня 2002 г. Далее последовали дискуссии регуляторных органов во время 11-й конференции *ICDRA* в Мадриде в 2004 г.

Другие международные мероприятия, проходившие в последующие годы, позволили привлечь к этой дискуссии фармакопеи различных стран: Аргентины, Мексики, Индонезии, Испании, России и др.

Ряд заседаний и мероприятий, имевших место в 2012 г., вновь привлек внимание фармакопей и заинтересованных сторон к обсуждению данной темы:

- 28 февраля—2 марта 2012 г. состоялось первое международное заседание фармакопей мира в главном офисе ВОЗ в Женеве (Швейцария);
- 7—8 октября 2012 г. прошла совместная конференция *FIP* и ВОЗ во время Юбилейного конгресса *FIP* в Амстердаме (Нидерланды);
- 9—12 октября 2012 г. было проведено 47-е заседание Экспертного комитета ВОЗ по спецификациям на фармацевтические препараты в Амстердаме (Нидерланды);
- 21—22 октября 2012 г. было организовано заседание *ICDRA* на тему «Качество лекарственных средств в глобализованном мире: в центре внимания — активные фармацевтические ингредиенты», которое прошло в Таллине (Эстония);
- 23—26 октября 2012 г. прошла 15-я Международная конференция органов по регулированию лекарственных средств (*ICDRA*) в Таллине (Эстония).

Основным предложением, сформулированным в ходе данных мероприятий, явилась разработка Правил Надлежащей фармакопейной практики (*GPhP*), призванных упростить проспективную гармонизацию, осуществляемую при содействии ВОЗ. Ряд фармакопей согласились принять участие в работе первоначальной проектной группы, в том числе и Российской Федерации.

Было принято решение о разработке Руководства по Надлежащей фармакопейной практике под эгидой

Экспертного комитета ВОЗ по спецификациям на фармацевтические препараты, имеющего большой опыт работы в области создания и внедрения международных стандартов качества ЛС. Данный опыт включает организацию процессов международного консультирования, позволяющую всем заинтересованным сторонам и пользователям принять участие в разработке проекта.

Назначение разрабатываемого Руководства ВОЗ по Надлежащей фармакопейной практике состоит в оказании поддержки регуляторным органам при осуществлении ими контроля качества ЛС, а также предоставлении дистрибьюторам и потребителям ЛС инструмента, при помощи которого они смогут составить независимое мнение о качестве лекарств, что, в свою очередь, будет способствовать охране здоровья населения каждой конкретной страны и мирового сообщества в целом.

Руководство ВОЗ по Надлежащей фармакопейной практике разрабатывается с целью упрощения процессов стандартизации ЛС и предоставления гарантии того, что в основе данных процессов лежат надежные системы контроля качества, что, в конечном счете, приведет к признанию унифицированных стандартов качества ЛС национальными (НФО) и региональными фармакопейными органами (РФО).

GPhP включает ряд принципов, которые формируют основу для региональных и национальных фармакопейных органов и гарантируют, что фармакопейные монографии проходят надлежащую разработку, регулирование, контроль, регистрацию, отражение в отчетах и публикацию.

Основными задачами Надлежащей фармакопейной практики являются:

- укрепление общемировых фармакопейных стандартов качества лекарственных средств;
- содействие признанию общемировой фармакопейной деятельности;
- повышение доверия регуляторных органов к общемировым фармакопейным стандартам качества лекарственных средств;
- укрепление сотрудничества между всеми заинтересованными сторонами (НФО, РНО, регуляторными органами, представителями фармацевтической промышленности) и сокращении расходов, связанных с разработкой стандартов качества ЛС;
- внедрение лабораторной оценки методологии Надлежащей фармакопейной практики;
- упрощение процедуры общемировой гармонизации фармакопейных стандартов качества ЛС;
- проведение периодической оценки внедрения надлежащей фармакопейной практики, описанной в данном руководстве;
- оказание поддержки национальным фармакопеям в их работе по созданию гармонизи-

рованных стандартов качества лекарственных средств.

Взаимопризнание Надлежащей фармакопейной практики повысит доверие к разработке новых стандартов качества ЛС, а также признание уже существующих стандартов качества ЛС со стороны всех национальных и региональных фармакопейных органов, использующих в своей деятельности принципы *GPhP*, а также соответствующих регуляторных органов разных стран.

В настоящее время планируется обсуждение основного содержания Руководства по *GPhP*, а также перечня тех стандартов качества ЛС, которые должны быть включены в это Руководство.

Прежде всего, речь идет о разработке унифицированных стандартов качества на субстанции и лекарственные препараты. При этом предварительному анализу подлежит структура монографий на химические субстанции, используемые в качестве действующих и вспомогательных веществ. К рассмотрению предлагается перечень основных показателей качества, методы их определения и общая структура документа.

Аналогичным образом предложена к рассмотрению и последующему обсуждению структура монографий на лекарственные препараты, полученные с использованием этих субстанций. Следующим этапом должно быть рассмотрение и обсуждение монографий на лекарственное растительное сырье и ЛС растительного происхождения, затем — иммунобиологические лекарственные средства и другие лекарственные средства биологической природы, далее на другие группы ЛС.

Предлагается создание унифицированных стандартов качества на различные методы анализа, статистическую обработку и валидацию проводимых испытаний.

Отдельный раздел посвящен разработке Правил Надлежащей фармакопейной практики по стандартным образцам.

ВОЗ изначально придавал особое значение стандартным образцам, неоднократно подчеркивая, что их использование в фармакопейном анализе обеспечивает необходимое качество испытаний. Международная фармакопея имеет достаточный опыт создания и последующего использования международного банка стандартных образцов, и благодаря этому многие фармакопеи активно включились в работу по организации собственных банков стандартных образцов. В настоящее время наибольшее количество стандартных образцов представлено в Американской (более 3000 наименований) и Европейской (около 2200 наименований) фармакопеях. В связи с этим вопрос гармонизации требований к стандартам качества на стандартные образцы чрезвычайно актуален.

В феврале 2013 г. состоялась телеконференция, организованная Экспертным советом ВОЗ по спец-

ификациям на ЛС, в ходе проведения которой был обсужден рабочий документ *QAS/12.516* с комментариями по поводу структуры руководства по *GPhP* очередности и сроков выполнения отдельных разделов.

Кроме того, предполагается ввести такие разделы как:

- принципы сотрудничества и обмена информацией между фармакопеями, включая градацию фармакопей на координирующие и ведущие;
- сотрудничество с заинтересованными странами.

Представителем рабочей группы по *GPhP* было предложено рассмотреть вопрос участия в подготовке черновых вариантов текстов монографий. Например, черновой вариант текста монографий на исходное сырье, включая действующие и вспомогательные вещества, было поручено разработать группе, основным исполнителем в которой, ответственным за документ, обозначена Европейская фармакопея. Черновой вариант монографии на лекарственный препарат поручено разрабатывать группе, которую возглавила Британская фармакопея. В контексте этих монографий должны быть отмечены особенности аптечного изготовления лекарственных средств. Группу по созданию чернового варианта на стандартные образцы возглавила Международная фармакопея. В состав рабочей группы по препаратам включена и Российская фармакопея.

18–19 апреля в Нью-Дели планируется проведение очередного заседания экспертной комиссии ВОЗ по спецификациям на ЛС, которое будет посвящено рассмотрению и утверждению плана работы по разработке Руководства ВОЗ по Надлежащей фармакопейной практике, с указанием конкретных сроков и

ответственных исполнителей, а также обсуждению и утверждению разработанных рабочими группами черновых вариантов монографий на лекарственные субстанции, препараты, стандартные образцы, а также рассмотрению составов рабочих групп по подготовке следующих черновых вариантов монографий на лекарственное растительное сырье и фитопрепараты, субстанции и препараты биологического происхождения, гомеопатические лекарственные средства и т. д.

Внедрение Правил Надлежащей фармакопейной практики будет способствовать унификации требований, предъявляемых к качеству ЛС в различных странах мирового сообщества, в том числе в Российской Федерации. Кроме того, появление новых методов анализа и включение монографий на них в фармакопеи разных стран также повысит уровень проводимых испытаний по оценке качества ЛС. Участие ГФ РФ в работе по созданию «Правил надлежащей фармакопейной практики» несомненно, внесет свой вклад в совершенствование и развитие национальной контрольно-разрешительной системы в сфере обращения ЛС.

В настоящее время Центром фармакопеи и международного сотрудничества ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ проводятся организационные мероприятия по подготовке предложений к черновым вариантам монографий на субстанции и лекарственные препараты, подлежащих обсуждению на ближайшем саммите фармакопей мира.

Е.И. Саканян,
Центр фармакопеи и международного сотрудничества
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Правила представления и оформления статей

Журнал «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» публикует статьи, посвященные вопросам экспертизы, стандартизации, контроля и рационального применения лекарственных средств и других средств медицинского применения.

Текст статьи должен быть представлен в редакцию в распечатанном виде с подписями авторов и на электронном носителе (дискете, CD или по электронной почте), набранный в текстовом редакторе Word для Windows. Не архивировать. Название файла — фамилия первого автора. Все статьи, присланные по электронной почте, должны быть продублированы письмом. На первой странице указываются: название работы, инициалы и фамилии авторов, название учреждения (полностью), в котором выполнена работа, город. Далее размещается резюме статьи (не более 100 слов) и ключевые слова (не более 5); на английском языке следует представить: название статьи, инициалы и фамилии авторов, организацию, резюме и ключевые слова.

Описание результатов оригинальных исследований должно быть структурировано по разделам: цели исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы. Все сокращения и аббревиатуры, использованные в тексте статьи, должны быть расшифрованы (либо при первом употреблении в тексте статьи в скобках, либо в конце статьи в списке сокращений). Расшифровка сокращений и аббревиатур иноязычных терминов должна быть представлена на языке оригинала и на русском языке. Следует избегать большого количества сокращений и аббревиатур. Все имена собственные в обязательном порядке проверя-

ются автором в соответствии со справочными изданиями (атласы, биографические справочники, энциклопедии).

В конце статьи, после списка литературы, необходимо представить сведения об авторах: фамилия, имя, отчество, место работы, должность, номер телефона и адрес электронной почты. Указать также фамилию, имя и отчество автора, с которым редакция будет иметь переписку, его адрес, телефон, адрес электронной почты.

Редакция не несет ответственности за искаженное воспроизведение имен собственных по вине автора.

Правила набора. Интервал между словами должен быть строго один пробел, перенос слов не делать. Рекомендуемый объем статьи, включая таблицы, литературу и резюме, 18 000 знаков (не более 10 страниц текста формата A4 шрифтом Times New Roman, 14 кеглем через полтора интервала). Название статьи набирается прописными буквами полужирным шрифтом, инициалы и фамилии авторов полужирным шрифтом. Названия разделов набирать прописными буквами полужирным шрифтом. При обозначении единиц измерения должна использоваться система единиц СИ. Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии — группировочного или химического названия, торговые названия препаратов не указываются. Числовые данные писать цифрами. В десятичных дробях использовать запятые. Сокращать: год — г., годы — гг. Математические и химические формулы должны быть написаны

четко, с указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов. К статье может быть приложено минимальное количество таблиц и рисунков для лучшего восприятия текста. Все таблицы и рисунки должны иметь номер и название, текст статьи должен содержать ссылку на них. Рисунки выполняются в любом графическом редакторе, представляются в распечатанном и электронном виде и **должны быть доступны для редактирования.**

К статье необходимо приложить список всей цитируемой литературы, оформленный в соответствии с действующим ГОСТ Р 7.0. 5-2008 (см. примеры ниже). В тексте статьи следует указывать номер ссылки в квадратных скобках цифрами в соответствии с приставным списком литературы. Ссылки нумеруются в порядке цитирования. Перед списком указывается ЛИТЕРАТУРА прописными буквами. Список литературы должен представлять собой полную затекстовую ссылку. Для книг и сборников указываются точные заглавия по титульному листу, место и год издания, страницы. Для нормативных документов — тип документа и принявший его орган (Постановление Правительства Российской Федерации, Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации и т.п.), дата утверждения и номер, точное название. Для журнальных статей указываются фамилия и инициалы авторов, полное название статьи, название журнала, год, том, выпуск, номера страниц.

Примеры:

1. ГОСТ Р 7.0.5-2008. Система стандартов по информации,

библиотечному и издательскому делу. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления [Электронный ресурс] // Национальные стандарты : [сайт] [2007]. URL: <http://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=173511> (дата обращения 11.04.2011).

2. Шварц Г.Я. Энциклопедический словарь терминов фармакологии, фармакотерапии и фармации. М.: Литтерра, 2008. 576 с.

3. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Применение комбинации бемитила с пипразидолом у больных с последствиями черепно-

мозговой травмы // Естествознание и гуманизм. 2006. Т. 3. № 4. С. 25–26.

Направление в редакцию работ, которые уже посланы в другие редакции или напечатаны, не допускается. Решение о публикации принимает редакция. Тем не менее, приняв статью к публикации, редакция не берет на себя обязательство ее опубликовать и может отказаться от публикации в любой момент. Редакция журнала оставляет за собой право вносить стилистические изменения, не искажающие смысла, в текст статьи, название, термины и определения, таблицы

и рисунки. Корректур не высылаются.

Статьи следует направлять по адресу: 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Тел. +7 (495)625-43-42. E-mail: vedomosti@regmed.ru

Примечание. Представление статьи для публикации подразумевает согласие автора (ов) с опубликованными правилами.

ПОДПИСНАЯ КАМПАНИЯ НА ВТОРОЕ ПОЛУГОДИЕ 2013 ГОДА



Оформить подписку на журнал

**«ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ
МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»**

можно в любом почтовом отделении России.

Индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» «Газеты. Журналы»
на второе полугодие 2013 года – **25122**

Стоимость подписки на второе полугодие 2013 года

• два номера журнала – **400 руб.**

Стоимость подписки на три месяца

• один номер журнала – **200 руб.**