



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

Разработка и аттестация отраслевого стандартного образца специфической активности эритропоэтина

Яковлев А.К., ведущий микробиолог

13.04.2017

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



Строение эритропоэтина

Молекула эритропоэтина состоит из 165 аминокислотных остатков

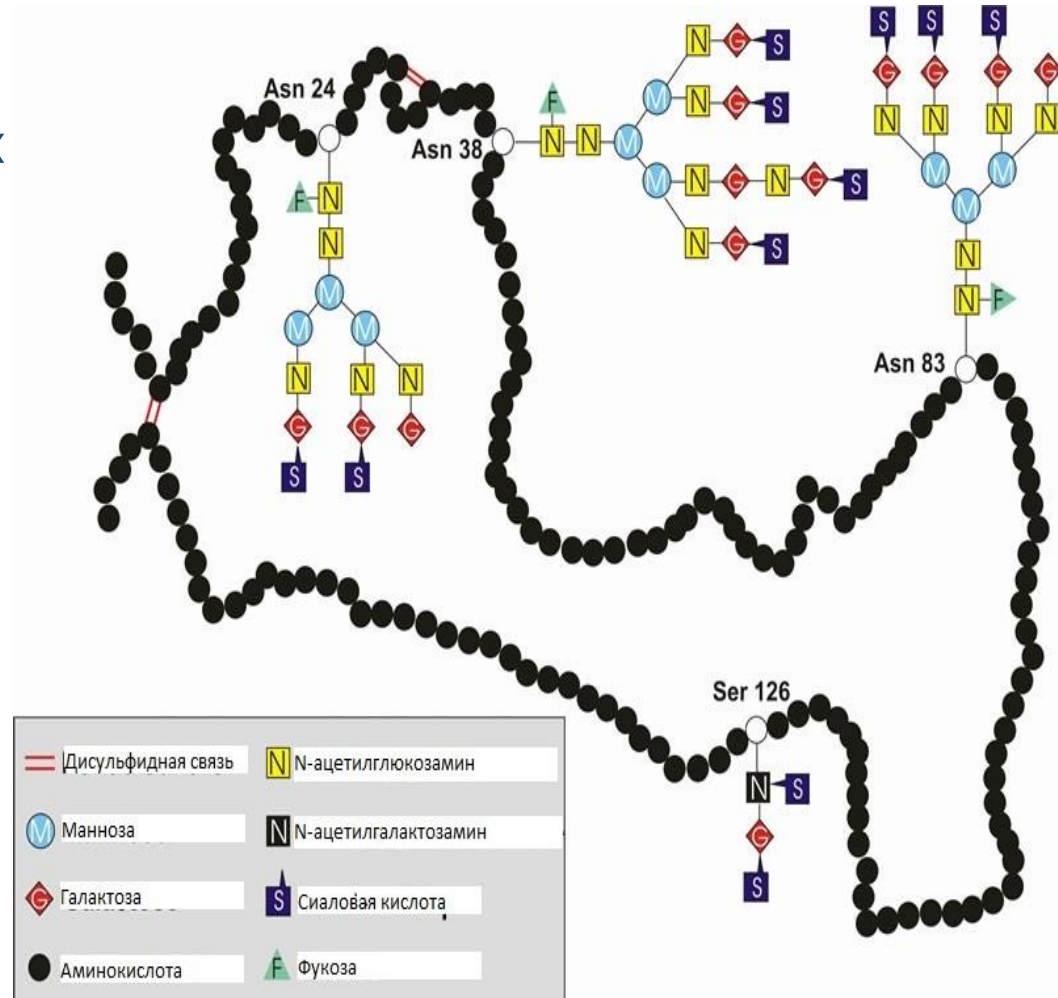
Молекулярная масса – 18,4 кДа

Имеет:

- 2 дисульфидные связи

- 4 сайта гликозилирования

Гликозилирование приводит к образованию нескольких биологически активных форм с молекулярной массой около 28-37 кДа





Нежелательные последствия от применения препаратов эритропоэтинов при превышении дозы

Дозозависимое увеличение артериального давления и тромбоцитоз способствуют :

- развитию ишемии миокарда
- инфаркту миокарда
- инсульту
- тромбозу глубоких вен
- артериальному тромбозу



Фармакокинетика эритропоэтинов

МНН	ММ, кДа	Период полувыведения при подкожном введении, ч
Эпоэтин альфа	28 -34	24
Эпоэтин бета	34-37	13-28
Эпоэтин тета	30,6	34
Дарбэпоэтин альфа	37,1	73
Эпоэтин бета [метоксиполи-этиленгликоль]	≈ 60	139-142





ЦЕЛЬ

Разработка и аттестация
отраслевого стандартного
образца специфической
активности эритропоэтина

ЗАДАЧИ:

1. Разработать отраслевой стандартный образец специфической активности эритропоэтина;
2. Аттестовать полученный ОСО по специфической активности;
3. Обосновать сроки годности ОСО специфической активности эритропоэтина.

Работа проведена в соответствии с Государственным заданием Министерства Здравоохранения РФ (приказ МЗ РФ № 056-00109-16 от 15.01.2016 г.) в рамках темы НИР «Совершенствование системы разработки и применения стандартных образцов, предназначенных для оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных средств».



Материалы и методы:

- Эпоэтин-СП/ ФГУП "Гос.НИИ ОЧБ" ФМБА России – Россия
- Эритропоэтин человека рекомбинантный/Микроген НПО ФГУП - Россия
- Эритропоэтин человека рекомбинантный/ООО "ФАРМАПАРК" – Россия
- 3^{ий} международный стандарт эритропоэтина (3rd IS EPO Кат. №11/170)
- Стандартный образец эритропоэтина Европейской фармакопеи (Erythropoietin BRP batch#3, Кат. № E1515000)
- Метод *in vivo* на нормоцитемических мышах
- Метод «ускоренного старения»



Кандидаты в ОСО

Наименование/Производитель		Дата регистрации	Срок действия	Срок годности, лет
Торговое	МНН			
Эритропоэтин человека рекомбинантный/ Микроген НПО ФГУП - Россия	Эпоэтин бета	1998	1998-2006	2
Эритропоэтин человека рекомбинантный/ ООО "ФАРМАПАРК" - Россия		1998	-	2
Рэпоэтин-СП/ ГосНИИ ОЧБ ФМБА ФГУП России - Россия	Эпоэтин альфа	1999	1999-2009	3



Лиофилизация кандидата

Субстанцию Рэпоэтин-СП разбавили буферным раствором до концентрации 54000 МЕ/мл, разлили по ампулам и лиофилизировали

Каждая ампула содержит сухой остаток после лиофильного высушивания 50 мкл раствора:

- Рекомбинантный эпоэтин альфа человека – 20 мкг;
- Стабилизаторы.



Участники аттестации ОСО

Подразделение	Центр	Организация
Лаборатория вирусных вакцин	Испытательный центр экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов	Научный центр экспертизы средств медицинского применения
Лаборатория иммунологии		
Лаборатория фармакологии	Испытательный центр экспертизы качества лекарственных средств	



Результаты межлабораторных исследований

№ лаборатории	№ испытания	ОСО относительно WHO 3rd IS		ОСО относительно BRP # 3	
		Среднее Значение МЕ/амп	95 % доверительный интервал, %	Среднее значение МЕ/амп	95 % доверительный интервал, %
1	1	2300	79 – 127	1972	73 – 137
	2	2236	76 – 132	2108	77 – 130
	3	2526	79 – 126	2627	79 – 126
2	1	2365	81 – 124	3021	72 – 138
	2	2143	75 – 133	1982	65 – 154
	3	2541	76 – 132	1945	66 – 151
3	1	2502	80 – 125	2250	67 – 150
	2	2288	81 – 124	2734	79 – 127
	3	2205	80 – 125	3077	78 – 128
Объединенный результат	n=9	2345	93 – 108	2489	91 – 110
	n=18	2401 (94,5 – 105,8 %)			



Сравнение отечественного ОСО со стандартом Европейской фармакопеи

Показатель	ОСО относительно WHO 3rd IS и BRP # 3	BRP # 4 относительно WHO 3rd IS
95 % доверительный интервал рассчитанной активности	94,5-105,8 %	94,3-106,0 %
Стоимость	1000-5000 руб (ориентировочная)	50284,49 руб. (Sigma Aldrich)



Оценка стабильности ОСО

Температура хранения, ° С	Период хранения (мес.)	Активность, %	Доверительный интервал, %
37±0,2	8	108	84 - 139
28±0,2	8	97	76 - 123
4±1,0	9	107	81 - 141
минус 20±1,0	9	109	87-138



ВЫВОДЫ

1. ОСО специфической активности эритропоэтина, полученный на основе субстанции РЭПОЭТИН-СП аттестован по результатам исследований в трех лабораториях: специфическая активность составила 2401 МЕ в ампуле, доверительный интервал (94,5-105,8 %), что сопоставимо с доверительными интервалами международного стандартного образца и стандартного образца европейской фармакопеи (94,8-105,5 % и 94,3-106,0 %) соответственно;
2. Аттестованный ОСО специфической активности эритропоэтина при соблюдении условий хранения (температура минус 20 °С) стабилен в течение 5 лет и соответствует требованиям ВОЗ, предъявляемым к СО;
3. Аттестованный ОСО специфической активности эритропоэтина позволяет получать сопоставимые результаты при испытаниях в различных лабораториях, корректно определять дозу действующего вещества в лекарственных препаратах эритропоэтинов и, соответственно, адекватно их дозировать при клиническом применении.



Спасибо за внимание!



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения