

Неспецифические примеси в фармацевтических субстанциях: особенности методик их определения

Ю. Р. Биглова, Н. В. Гадасина, Т. Н. Боковикова*, Е. Л. Ковалева, С. А. Немыкина,
Т. В. Моргунова, Т. В. Мастеркова, Л. А. Стронова, Е. П. Герникова

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

Резюме. Одним из факторов эффективности и безопасности готовых лекарственных средств является качество используемых фармацевтических субстанций, критерии оценки чистоты которых обусловлены их составом и технологией получения, а также особенностями производства и применения лекарственных препаратов. Обязательному нормированию подлежат неспецифические примеси органической и неорганической природы, микробного происхождения, остаточные растворители. Цель работы — анализ особенностей методик определения неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях. Для оценки их содержания Государственная фармакопея Российской Федерации предусматривает использование различных химических, физических, физико-химических и биологических методов анализа. При определении неорганических катионов и анионов, как правило, проводится сравнение с растворами соответствующих эталонов или фиксируется отсутствие положительной реакции в испытуемом растворе. Для количественного анализа микропримесей достаточно широко используются высокоспецифичные и чувствительные методы: атомно-абсорбционная спектрометрия, атомно-эмиссионная и масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Содержание остаточных органических растворителей определяется методами газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для оценки чистоты и обеспечения безопасности применения фармацевтических субстанций используются биологические испытания: «Микробиологическая чистота», «Стерильность», «Пирогенность», «Бактериальные эндотоксины». Индивидуальные особенности методик проведения испытаний на содержание неспецифических примесей в различных фармацевтических субстанциях обусловлены физико-химическими свойствами исследуемых соединений, токсичностью анализируемых примесей и допустимыми пределами их содержания. Результаты работы позволяют сформулировать методологический подход к разработке критериев оценки качества фармацевтических субстанций, сочетающий обязательное соблюдение основных принципов стандартизации субстанций, индивидуальный выбор показателей качества, особых условий проведения испытаний и норм содержания примесей.

Ключевые слова: неспецифические примеси; фармацевтические субстанции; Государственная фармакопея; стандартизация; контроль качества

Для цитирования: Биглова ЮР, Гадасина НВ, Боковикова ТН, Ковалева ЕЛ, Немыкина СА, Моргунова ТВ, Мастеркова ТВ, Стронова ЛА, Герникова ЕП. Неспецифические примеси в фармацевтических субстанциях: особенности методик их определения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):153–161. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-153-161>

***Контактное лицо:** Боковикова Татьяна Николаевна; Vokovikova@expmed.ru

Nonspecific Impurities in Pharmaceutical Substances: Characteristics of Test Methods

Yu. R. Biglova, N. V. Gadasina, T. N. Bokovikova*, E. L. Kovaleva, S.A. Nemykina,
T. V. Morgunova, T. V. Masterkova, L. A. Stronova, E. P. Gernikova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. One of the prerequisites of efficacy and safety of finished pharmaceutical products is the quality of pharmaceutical substances used in their production. Criteria of assessment of pharmaceutical substance purity are determined by the substance composition and production technology, as well as by specific aspects of the finished pharmaceutical product production and use. It is necessary to control the content of nonspecific organic and inorganic impurities, impurities of microbial origin, and residual solvents. The aim of the study was to analyse characteristics of test methods used to determine nonspecific impurities in pharmaceutical substances. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation describes various chemical, physical, physicochemical and biological tests for the analysis of nonspecific impurities. Determination of inorganic cations and anions usually includes comparison of test solutions with solutions of the corresponding reference standards, or checking the absence of a positive reaction in the test solution. Quantitative analysis of trace impurities largely relies on highly specific and sensitive test methods, such as atomic absorption spectrometry, atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. The content of residual organic solvents is determined by gas chromatography or high-performance liquid chromatography. The purity and safety of pharmaceutical substances are ensured by biological tests: “Microbial quality”, “Sterility”, “Pyrogenicity”, “Bacterial endotoxins”. Specific characteristics of test methods used for determination of the content of nonspecific impurities in various pharmaceutical substances depend on physicochemical properties of the tested substances, toxicity of the analysed impurities, and content limits. The results of the study make it possible to formulate a methodological approach to the development of criteria for assessing the quality of pharmaceutical substances. This approach includes mandatory compliance with the basic principles of substance

standardisation, as well as case-by-case selection of quality parameters, specific test conditions and content limits for impurities.
Key words: nonspecific impurities; pharmaceutical substances; State Pharmacopoeia of the Russian Federation; standardisation; quality control

For citation: Biglova YuR, Gadasina NV, Bokovikova TN, Kovaleva EL, Nemykina SA, Morgunova TV, Masterkova TV, Stronova LA, Gernikova EP. Nonspecific impurities in pharmaceutical substances: characteristics of test methods. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):153–161. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-153-161>

***Corresponding author:** Tatiana N. Bokovikova; Bokovikova@expmed.ru

Совершенствование требований к стандартизации фармацевтических субстанций (далее — субстанций) и контроль их качества позволяют обеспечить производство эффективных и безопасных готовых лекарственных средств [1–7].

Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ) является гарантом качества лекарственных средств, начиная от фармацевтической разработки до их реализации [8], посредством предоставления соответствующих стандартизованных процедур для анализа лекарственных средств¹. В настоящее время в обращении на фармацевтическом рынке Российской Федерации находится около 1000 субстанций химического происхождения различных наименований [9, 10]. Важным требованием к качеству субстанций является их чистота. Контроль чистоты предусматривает оценку химических примесей (органических, неорганических, остаточных растворителей) и микробной контаминации [1, 4]. Для этого в ГФ РФ предусмотрено большое количество показателей и методов, используемых для их определения.

Требования к содержанию примесей зависят от природы субстанции и степени негативного влияния примеси на само действующее вещество или на организм пациента при приеме лекарственного средства². Контроль содержания примесей в лекарственных средствах чрезвычайно важен как в связи с их токсичностью для человека, так и с влиянием ряда примесей на стабильность лекарственного средства [11].

Цель работы — анализ особенностей методик определения неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- систематизация информации о методах определения неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях;
- сравнительный анализ особенностей индивидуальных методик, включенных в нормативную документацию;
- разработка критериев оценки чистоты субстанций, включающих выбор показателей качества, особых условий проведения испытаний и предъявляемых требований.

Источниками неспецифических примесей (НП) в субстанциях могут быть как недостаточно очищенное исходное сырье, в том числе и используемые реактивы (сильные кислоты и основания), катализаторы, оборудование, остатки фильтруемых материалов, так и нарушение технологического процесса или условий хранения; упаковочный материал несоответствующего качества [4].

Так, например, в нормативной документации на субстанцию аскорбиновой кислоты предусмотрено нормирование меди — не более 0,0005 % и железа — не более 0,0002 % (указанные НП могут содержаться в сырье: ацетон — не более $1 \cdot 10^{-6}$ % каждой примеси, олеум — не более 0,006 % железа, натрия гидроксид — не более 0,001 % железа, никель (II) сернокислый водный — не более 0,002 % меди, не более 0,003 % железа и др.).

Папаверина гидрохлорид анализируют на содержание в нем примесей железа (не более 0,003 %), легко карбонизируемых веществ (в соответствии с требованиями), присутствие которых в субстанции может быть связано с использованием дикалита (фильтрующий материал), палладия на углеводе 10 % (катализатор), кислоты хлористоводородной и раствора натрия гидроксида 30 %. В субстанции натрия кромогликата предусмотрено определение примеси оксалатов (не более 0,35 %), что обусловлено присутствием диэтилоксалата на одном из этапов его схемы синтеза. При контроле качества магния сульфата определяют содержание железа и марганца, которые могут содержаться в исходном продукте.

Методы оценки содержания примесей должны быть чувствительными, специфичными, воспроизводимыми и пригодными для установления допустимых их пределов. В некоторых случаях при оценке качества субстанций предусмотрены разные требования и методики проведения испытаний, если такие субстанции могут быть использованы для производства как нестерильных, так и стерильных лекарственных форм.

Большинство показателей качества субстанций предусматривают численное выражение норм содержания примесей, но существуют и условно нормируемые показатели («Растворимость», «Прозрачность раствора», «Цветность раствора»), которые

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>

² Там же.

служат для косвенной проверки качества субстанций, поскольку получаемые результаты могут свидетельствовать о деструкции вещества [9]. Изменение температуры плавления и удельного показателя поглощения также позволяет судить о наличии примесей и является дополнительной характеристикой чистоты субстанции.

Испытания по показателям «Прозрачность раствора» и «Цветность раствора» позволяют обнаруживать примеси различной природы, присутствие которых влияет на внешний вид раствора субстанции. Оценка качества по этим показателям осуществляется, как правило, в случае, если субстанция предназначена для производства жидких лекарственных форм [9]. Например, вещества, содержащие фенольный гидроксил или первичную ароматическую аминогруппу, легко окисляются, поэтому их растворы могут быть окрашены. Испытания обычно проводят в водных растворах субстанций, но возможно использование органических и смешанных растворителей. Концентрация испытуемых растворов должна быть приближена к концентрации действующего вещества в лекарственном препарате [3].

В общей фармакопейной статье «Фармацевтические субстанции» (ОФС.1.1.0006.15) указано, что определение цветности раствора особенно важно для оценки качества белых, почти белых или белых с оттенком субстанций, так как данный показатель характеризует их чистоту и, как правило, не включается в нормативную документацию, если субстанция окрашена. Однако встречаются исключения. Так, например, проводят оценку окраски 1 % раствора субстанции дротаверина гидрохлорида (порошок от светло-желтого до зеленовато-желтого цвета) по сравнению с эталонами цветности, которая должна быть не интенсивнее окраски эталона GY_3 и интенсивнее, чем окраска эталона GY_4 . В нормативной документации на субстанцию месна (белого или желтоватого цвета) сравнивают степень окраски 20 % раствора с эталоном цветности Y_7 .

Для субстанций, нерастворимых в воде, испытание прозрачности и цветности растворов проводят в растворителях, в которых они растворимы, например:

- разведенная уксусная кислота используется для сульпирида (практически нерастворимого в воде и легко растворимого в разведенной уксусной кислоте);
- спирт 96 % используется для ацетилсалициловой кислоты (малорастворимой в воде);
- метанол используется для диклофенака натрия (умеренно растворимого в воде и легко растворимого в метаноле);
- хлороформ — для нитразепама (практически нерастворимого в воде, умеренно растворимого в хлороформе);

- 0,1 М или 1 М растворы натрия гидроксида используются для ацикловира (малорастворимого в воде и очень малорастворимого в спирте 96 %) или для сульфадиметоксина и фталилсульфатиазола (практически нерастворимых в воде и малорастворимых в спирте 96 %) соответственно;

- 1,0 % раствор молочной кислоты или метилхлорид используются для галоперидола или дроперидола соответственно (практически нерастворимых в воде и малорастворимых в спирте 96 %).

Для определения цветности и прозрачности раствора кальция глюконата (легко растворимого в кипящей воде, умеренно и медленно растворимого в воде) субстанцию растворяют в воде при 60 °С или кипящей воде в зависимости от необходимой концентрации испытуемого раствора (2 и 10 % соответственно), при этом цветность раствора оценивают при 60 °С, а прозрачность — после охлаждения раствора до 20 °С.

Степень окраски растворов субстанций, как правило, оценивают по сравнению с соответствующими эталонами цветности. В некоторых случаях для этих целей измеряют величину оптической плотности при заданных длинах волн. Например, цветность раствора субстанции метамизол натрия определяется как при сравнении с эталоном цветности GY_6 , так и по величине оптической плотности при длине волны 400 нм (не более 0,1). Для определения цветности 10 % водного раствора ампициллина натриевой соли измеряют величину оптической плотности при длине волны 430 нм (не более 0,15); оптическая плотность 5 % раствора диклофенака натрия при длине волны 440 нм не должна превышать 0,05.

Определение величины оптической плотности или сравнение испытуемых растворов с эталонами цветности используется и при определении НП, основанном на их избирательном взаимодействии с какими-либо реактивами. Например, после проведения реакции с серной кислотой концентрированной интенсивность окраски раствора сульгина сравнивают с эталонами цветности B_5 или R_5 , а папаверина гидрохлорида — с эталонами цветности R_4 и Y_4 или специально приготовленным стандартом сравнения. Измерение величины оптической плотности используется при оценке качества субстанции мебеверина гидрохлорида как при определении растворимых в эфире соединений (не более 0,23 при длине волны 260 нм), так и при анализе субстанции на нетретичные амины (сравнивают величину оптической плотности испытуемого раствора и раствора сравнения при длине волны 405 нм).

Наличие НП кислотного или основного характера устанавливается при анализе по показателям «рН» и «Кислотность или щелочность». Величина рН, как правило, характеризует кислотно-основные свойства субстанции, а результат определения

кислотности (щелочности) может характеризовать наличие примесных соединений.

Определение кислотности (щелочности) в случае нерастворимых в воде субстанций имеет свои особенности пробоподготовки: субстанцию взбалтывают с водой и проводят испытание с фильтратом (как, например, для субстанции карбамазепина, практически нерастворимой в воде).

В других случаях, например, субстанцию кофеина растворяют в свежeproкипяченной горячей воде и проводят испытание с охлажденным раствором, так как субстанция умеренно и медленно растворима в воде, но легко растворима в горячей воде. Для субстанций малорастворимых в воде (сульфаниламид) или практически нерастворимых в воде (бария сульфат, сульфадиметоксин) испытание проводят с фильтратом смеси субстанции и воды после ее нагревания при температуре 60–70 °С и последующего охлаждения.

В качестве индикаторов при проведении испытаний кислотность/щелочность, как правило, используют растворы бромтимолового синего, фенолфталеина, метилового красного. Титрование проводят раствором натрия гидроксида или хлористоводородной кислоты до изменения окраски индикатора.

Полуколичественная оценка содержания НП проводится как по сравнению с растворами эталонов, так и по отсутствию положительной реакции в испытуемом растворе (при этом чувствительность химических реакций должна быть ниже предела обнаружения допустимых примесей). Так, например, в субстанции кальция глюконата предусмотрено определение посторонних органических примесей и борной кислоты в присутствии охлажденной серной кислоты концентрированной (не должно появляться желтого или коричневого окрашивания); после прибавления 0,005 % раствора хромотропа II В появляется фиолетовое окрашивание, которое не должно со временем переходить в темно-голубое окрашивание (интенсивность окрашивания сравнивают со стандартным раствором).

Для многих субстанций нормируется содержание побочных неорганических катионов и анионов (в том числе хлоридов, сульфатов и т. д.), выбор которых определяется технологией получения субстанции, и их допустимое содержание должно быть обосновано [3].

Большое число показателей, регламентирующих определение содержания НП, предусмотрено для субстанций, входящих в состав лекарственных средств для парентерального применения (натрия хлорид, кальция хлорид, калия хлорид, натрия гидрокарбонат и др.), которые могут быть использованы для производства лекарственных препаратов

для дезинтоксикации, восстановления водного и электролитного состава крови, для восполнения объема циркулирующей крови и т. п. (максимальный объем вводимого раствора — до 3 л в сутки)³.

В связи с этим для оценки качества субстанции натрия хлорида ГФ РФ предусматривает определение примесей бария, железа, щелочноземельных металлов и магния, мышьяка, сульфатов, фосфатов, ферроцианидов, нитритов, бромидов, йодидов, алюминия (2 метода), калия (2 метода), аммония, тяжелых металлов и др. В субстанции натрия гидрокарбоната определяется содержание карбонатов, железа, хлоридов, мышьяка, сульфатов, кальция, аммония, тяжелых металлов и др. В субстанции кальция глюконата определяются посторонние органические примеси и борная кислота, галогены, сульфаты, магний и щелочные металлы, оксалаты, тяжелые металлы, мышьяк и др.

При контроле качества фармацевтической субстанции бария сульфата, используемой для производства пасты, порошка, суспензии для приема внутрь с целью проведения рентгенологических исследований (глотки, пищевода, желудка и кишечника)⁴ также предусмотрено проводить анализ на содержание большого числа НП: кислоторастворимых веществ, растворимых солей бария, сульфидов, хлоридов, сульфатов, железа, фосфатов, мышьяка и др. В отличие от бария сульфата, который обладает низкой токсичностью, не всасывается из желудочно-кишечного тракта и, следовательно, не попадает в системный кровоток, растворимые соли бария высокотоксичны и должны отсутствовать в субстанции.

Особенность определения других НП бария сульфата (практически нерастворимого в воде, разведенных кислотах и щелочах, органических растворителях) в том, что для проведения испытаний, как правило, используются фильтраты, полученные после кипячения субстанции с водой (для определения хлоридов и сульфатов); с хлористоводородной кислотой (для определения железа и сульфидов); с азотной кислотой (для определения фосфатов); со смесью воды и уксусной кислоты ледяной (для определения кислоторастворимых веществ и тяжелых металлов).

ГФ РФ предусматривает проведение испытаний на чистоту и допустимые пределы примесей двенадцати катионов и анионов, если они не входят в состав субстанции. Кроме того, подготовлены проекты общих фармакопейных статей «Калий», «Магний и щелочноземельные металлы» для определения содержания указанных примесей в лекарственных средствах.

В ряде общих фармакопейных статей («Алюминий», «Аммоний», «Железо», «Кальций», «Ртуть»,

³ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru>

⁴ Там же.

«Селен», «Сульфаты», «Хлориды» и др.) предусмотрено проведение испытания с использованием эталонных растворов, которые содержат заданное количество определяемого катиона или аниона.

Определение хлоридов основано на реакции их взаимодействия с раствором серебра нитрата с появлением белого помутнения и образованием белого творожистого осадка или опалесценции (предельная чувствительность реакции 0,1 мкг/мл хлорид-иона, при концентрации 2 мкг/мл наблюдается хорошо заметная опалесценция)⁵.

В некоторых случаях методика ОФС.1.2.2.2.0009.15 «Хлориды» неприменима. Так, например, при проведении испытания с натрия тиосульфатом происходит образование белого осадка, маскирующего результат реакции на хлориды (при стоянии осадок чернеет — сульфид серебра), поэтому для определения используют фильтрат, полученный после осаждения серы при добавлении 32 % раствора азотной кислоты.

Дополнительная пробоподготовка необходима и при проведении испытаний с нерастворимыми в воде субстанциями. Например, парацетамол или теofilлин встряхивают с водой, а нифедипин нагревают до кипения со смесью раствора уксусной кислоты и воды, охлаждают и в фильтратах проводят определение хлорид-ионов. Для анализа субстанции карбамазепина образец растворяют в смеси диметилсульфоксида, спирта 96 %, воды и азотной кислоты (после прибавления раствора серебра нитрата опалесценция испытуемого раствора не должна превышать опалесценцию раствора сравнения).

В отдельных случаях проводят количественную оценку содержания хлоридов (например, в субстанции месалазина). Для этого навеску субстанции растворяют в муравьиной кислоте безводной, прибавляют воду и 2 М раствор азотной кислоты и титруют 0,005 М раствором серебра нитрата с фиксацией точки эквивалентности потенциометрическим способом (норма содержания хлоридов — не более 0,1 %).

Сульфат-ионы определяют по реакции взаимодействия с растворами солей бария с образованием нерастворимого в кислотах белого осадка или помутнения (предельная чувствительность реакции 3 мкг/мл сульфат-иона; при концентрации 10 мкг/мл наблюдают помутнение раствора)⁶.

Для органических субстанций малорастворимых или практически нерастворимых в воде определение сульфат-ионов проводится в фильтрате, например, после взбалтывания с водой (ацикловир), со смесью воды и хлористоводородной кислоты разведенной (диазолин) или со смесью воды и азотной кислоты разведенной (дроперидол).

Определение хлорид- и сульфат-ионов в фенобарбитале также требует особых условий проведения испытаний — используют раствор субстанции в смеси ацетона и воды в соотношении 1:1. Для проведения аналогичных испытаний в сульфацинаме натрия субстанцию растворяют в воде, к полученному раствору прибавляют азотную кислоту разведенную 16 % и хлористоводородную кислоту разведенную 8,3 %, взбалтывают и фильтрат используют для определения примесей ионов.

Определение фосфатов основано на их способности к образованию молибденовой сини с молибдат-ионами в присутствии восстановителя (олова (II) хлорида). Интенсивность синей окраски, появившейся в испытуемом растворе, не должна превышать интенсивность окраски эталонного раствора, для приготовления которого используют раствор, содержащий 5 мкг/мл фосфат-иона⁷.

Для субстанций умеренно и/или медленно растворимых в воде (легко в кипящей) проводят дополнительную пробоподготовку, например кальция глюконат кипятят до полного растворения, но не более 10 с. Для субстанций практически нерастворимых в воде (бария сульфат) приготовление испытуемого раствора проводят при нагревании до кипения в азотной кислоте и в фильтратах определяют содержание фосфат-ионов.

Испытание на мышьяк в субстанциях предусматривается⁸ в тех случаях, когда исходное сырье может содержать мышьяк или возможно загрязнение им в процессе получения субстанции [3]. В соответствии с ГФ РФ определение содержания мышьяка проводится двумя методами: метод 1 (Зангера—Блека) и метод 2 (Буго—Тиле). В ОФС.1.2.2.2.0004.15 «Мышьяк» подробно описаны особые условия пробоподготовки образцов и проведения испытаний.

Одним из часто включаемых в нормативную документацию на субстанции является показатель «Сульфатная зола». В тех случаях, когда в состав субстанций входят компоненты, которые не удаляются при прокаливании, например ионы металлов (в таких субстанциях, как кальция глюконат, метамизол натрия, диклофенак натрия или калия, сульфацинамид натрия и др.), определение сульфатной золы не проводится. Данное испытание используется для определения суммы неспецифических примесей, а именно минерализуемых неорганических примесей. Наиболее токсичными из них являются тяжелые металлы, для определения которых предусмотрен отдельный показатель «Тяжелые металлы» [12]. Предел содержания тяжелых металлов в субстанциях определяется⁹ максимальной суточной дозой препарата

⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1—4. М.; 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

⁶ Там же.

⁷ Там же.

⁸ Там же.

⁹ Там же.

(производимого из данной субстанции), способом и длительностью его применения [4, 11].

Классическим способом пробоподготовки для определения тяжелых металлов в органических соединениях, особенно нерастворимых в воде, является сжигание и прокалывание субстанции в муфеле при высоких температурах в присутствии серной кислоты концентрированной.

В неорганических и в некоторых случаях в органических субстанциях (например, мельдоний) определение тяжелых металлов проводится в водных растворах. Получаемые растворы должны быть прозрачными, бесцветными и не должны влиять на взаимодействие ионов металлов с сульфид-ионом вследствие наличия комплексообразующих свойств. В некоторых случаях (например, субстанция лозартана калия) с целью предотвращения образования осадка субстанции в слабощелочной среде в качестве растворителя используют спирт и далее открывают тяжелые металлы тиацетамидным (или сульфидным) методом.

Химический метод анализа тяжелых металлов имеет низкую специфичность и не позволяет получить информацию о содержании отдельных элементов в образце [13]. В настоящее время для этой цели достаточно широко используются различные физико-химические методы (атомно-абсорбционная спектрометрия, атомно-эмиссионная и масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой и др.), характеризующиеся высокой специфичностью и чувствительностью [14, 15], что особенно актуально, если в процессе синтеза соединения используются металлические катализаторы [4]. Для количественного определения микропримесей элементов эффективно используется масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой с универсальным способом подготовки образцов, основанным на микроволновом разложении в закрытых автоклавах. Преимущество данного способа пробоподготовки — отсутствие потерь летучих элементов, в особенности ртути [13].

Методом атомно-абсорбционной спектрометрии, например, определяется содержание НП в субстанции аскорбиновой кислоты (меди — не более 0,0005 %, железа — не более 0,0002 %) или в субстанции смектита диоктаэдрического (свинца — не более 0,0015 %). В субстанции кальция глюконата содержание железа (не более 5 ppm) определяется методом атомно-эмиссионной спектрометрии, а оксалатов (не более 100 ppm) — методом ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Все фармацевтические субстанции подлежат стандартизации и контролю качества по показателю «Остаточные органические растворители», если органические растворители используются при производстве или образуются в процессе получения субстанции, или в результате накопления продук-

тов разложения [4, 16]. Контроль и нормирование остаточных количеств органических растворителей регламентируются¹⁰ токсичностью растворителя, ежедневной допустимой дозой растворителя, максимальной суточной дозой лекарственного препарата и длительностью его применения [9].

Согласно ГФ РФ для определения остаточных органических растворителей в субстанциях могут быть использованы различные валидированные методики [16–18]. Наиболее часто определение проводится методом газовой хроматографии. В некоторых случаях используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (например, для определения диметилформамида).

Высокотоксичные (генотоксичные канцерогены) и негенотоксичные растворители 1 и 2 класса, соответственно, должны быть идентифицированы и определены количественно.

Для определения растворителей 3 класса (низкой токсичности), суммарное содержание которых составляет не более 0,5 %, допускается применение неспецифического метода «Потеря в массе при высушивании». Если суммарное содержание растворителей превышает 0,5 %, каждый из них должен быть идентифицирован и определен количественно. В этом случае условия проведения испытания должны быть описаны в соответствующем разделе нормативной документации¹¹. Проведение испытания по показателю «Потеря в массе при высушивании» позволяет определять суммарное содержание летучих веществ и гигроскопической влаги.

ГФ РФ предусматривает несколько способов определения потери в массе при высушивании. Для этой цели могут быть использованы и другие валидированные методики, особенности которых должны быть приведены в нормативной документации. Чаще всего высушивание проводят до постоянной массы при температуре 100–105 °С. В некоторых случаях, когда температура плавления субстанций незначительно отличается от указанной температуры высушивания (например, нихлоргин или фенирамина малеат — 107–112 и 104–109 °С соответственно), определение проводят, например, при температуре 55–65 °С до постоянной массы (для нихлоргина), или в течение 3 часов при температуре 60 °С и остаточном давлении не более 0,7 кПа (для фенирамина малеата), или в других подобных условиях. Определение потери в массе при высушивании субстанции сульфатиазол натрия пентагидрат, которая составляет 22–27 %, проводят при постепенном повышении температуры: сначала сушат при температуре 40 °С не менее 30 мин, затем повышают температуру до 100–105 °С и сушат до постоянной массы.

Вода в субстанциях может способствовать ускорению процессов разложения, поэтому ее содер-

¹⁰ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

¹¹ Там же.

жание нормируется. В субстанциях, для которых оценить содержание воды при определении потери в массе при высушивании невозможно (подвержены термическому разложению, являются кристаллогидратами или очень гигроскопичны), используют титриметрический метод. При этом установление количества адсорбированной влаги проводится как титриметрически, так и при определении потери в массе при высушивании, если субстанция не содержит кристаллизационную воду [9].

К неспецифическим примесям в субстанциях также можно отнести механические включения (частицы пыли, фильтрующих или вспомогательных материалов), которые могут присутствовать в сырье или попадают в субстанцию при несоблюдении санитарных и технологических требований при ее производстве.

Наличие механических включений в субстанциях определяют в том случае, если они используются в качестве стерильной распылки во флаконах (например, циклофосамид для производства лекарственного препарата «Циклофосфан, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения»).

ГФ РФ регламентирует содержание механических включений видимого и невидимого диапазона и устанавливает определенные требования и нормы к их содержанию. Для оценки содержания невидимых механических включений в ГФ РФ предусмотрено использование счетно-фотометрического метода и метода микроскопии, кроме того, дополнительно (по сравнению с зарубежными фармакопеями) — метода Култера (метода электрочувствительных зон). Возможность использования метода Култера подтверждена сопоставимостью результатов оценки невидимых механических включений, полученных этим методом и счетно-фотометрическим методом [19].

Наряду с химическими и физико-химическими методами анализа для оценки чистоты и обеспечения безопасности применения субстанций используются биологические испытания, которые являются неотъемлемым дополнением при оценке качества субстанций, так как позволяют выявить НП, которые не определяются иными способами [4]. Для контроля качества субстанций предусмотрены такие показатели, как «Микробиологическая чистота» и «Стерильность».

Испытание субстанций на стерильность проводят в тех случаях, когда не предусмотрена процедура стерилизации при производстве стерильных лекарственных форм [4, 20] (например, циклофосамид). Для нестерильных лекарственных средств, в том числе содержащих живые микроорганизмы, а также для вспомогательных веществ, предусмотрена оценка качества по показателю «Микробиологическая чистота». Для исключения ложных результа-

тов по микробиологическим показателям проводят изучение возможного антимикробного действия субстанций и его нейтрализации в условиях испытания. В Российской Федерации обязателен контроль на микробиологическую чистоту всех производимых и ввозимых серий субстанций [4].

Субстанции, используемые в производстве лекарственных препаратов для парентерального применения, дополнительно стандартизируются по показателям «Пирогенность» и/или «Бактериальные эндотоксины» (ЛАЛ-тест). Пирогенность, как правило, имеет микробное происхождение (пирогенные реакции способны вызывать живые и погибшие микроорганизмы или продукты их распада). В настоящее время все чаще находят применение тест «Бактериальные эндотоксины», который является более чувствительным и точным методом [21]. Кроме того, ЛАЛ-тест можно использовать для контроля качества субстанций, нерастворимых в воде, а также он является валидируемой процедурой, в отличие от эксперимента на кроликах при определении по показателю «Пирогенность». Однако испытание на бактериальные эндотоксины не позволяет выявить ряд пирогенов, в том числе вещества небактериальной природы [4, 22].

Субстанции преимущественно природного происхождения, используемые в производстве готовых лекарственных форм в основном для парентерального применения, дополнительно проходят обязательный контроль по показателю «Аномальная токсичность» для выявления увеличения токсичности лекарственного средства по неизвестным причинам (испытание проводят на мышах) [4, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведены информационно-аналитические исследования и сравнительный анализ методик оценки содержания различных неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях химическими, физико-химическими и биологическими методами.

Выявлены особенности индивидуальных методик, включенных в нормативную документацию, что обусловлено физико-химическими свойствами конкретных исследуемых соединений, токсичностью примесей и допустимыми пределами их содержания. Для проведения испытаний предпочтительнее использование современных высокочувствительных и селективных методов анализа.

На основании результатов информационно-аналитических исследований сформулирован единый методологический подход к разработке критериев оценки качества фармацевтических субстанций, включающий следующие положения:

- выбор и обоснование показателей качества для определения чистоты фармацевтических субстанций с учетом природы и технологии их получения, а также особенностей производства,

назначения, дозировки и курса применения соответствующих лекарственных препаратов;

- согласование основных принципов стандартизации субстанций с индивидуальными особенностями методик оценки чистоты анализируемых соединений, условиями проведения испытаний и предъявляемыми требованиями.

Сочетание указанных положений позволяет обеспечить единый подход к оценке качества фармацевтических субстанций и осуществлять производство и выпуск эффективных и безопасных лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Олефир ЮВ, Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Сенченко СП, Зайцев СА, Бармин АВ. Стандартизация фармацевтических субстанций по разделу «Чистота». *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(8):56–60. [Olefir YuV, Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Senchenko SP, Zaytsev SA, Barmin AV. Standardization of pharmaceutical substances with respect to purity. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(8):56–60 (in Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-8-56-60>
- Ковалева ЕЛ. Стандартизация фармацевтических субстанций и препаратов в лекарственной форме «Таблетки». М.: Гриф и К; 2012. [Kovaleva EL. *Standardization of pharmaceutical substances and preparations in the tablet form*. Moscow: Grif i K; 2012 (In Russ.)]
- Багирова ВЛ, Ковалева ЕЛ, Шаназаров КС. Фармацевтические субстанции. *Химико-фармацевтический журнал*. 2007;41(1):35–7. [Bagirova VL, Kovaleva EL, Shanazarov KS. Pharmaceutical article «Pharmaceutical substances». *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2007;41(1):35–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2007-41-1-35-37>
- Ковалева ЕЛ, Багирова ВЛ, Шаназаров КС. Совершенствование методологических подходов к стандартизации фармацевтических субстанций. *Химико-фармацевтический журнал*. 2010;44(1):35–42. [Kovaleva EL, Bagirova VL, Shanazarov KS. Developing methodological approaches to standardization of pharmaceutical substances. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2010;44(1):35–42 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2010-44-1-35-42>
- Багирова ВЛ, Ковалева ЕЛ. К вопросу обеспечения фармакопейного качества исходных ингредиентов, используемых для получения лекарственных средств. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения Министертства здравоохранения Российской Федерации*. 2003;(1):46–8. [Bagirova VL, Kovaleva EL. On the issue of ensuring the pharmacopoeial quality of the original ingredients used to obtain drugs. *Vestnik Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya Ministerstva zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation*. 2003;(1):46–8 (In Russ.)]
- Арзамасцев АП, Титова АВ. Особенности системы стандартизации субстанций в условиях рыночной экономики. *Ремедиум*. 2006;(9):57–9. [Arzamastsev AP, Titova AV. The special features of substances standartisation in terms of market economy. *Remedium = Remedium*. 2006;(9):57–9 (In Russ.)]
- Матвеева ОА, Ковалева ЕЛ. Современные подходы к оценке содержания генотоксичных примесей в лекарственных средствах (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(11):41–8. [Matveeva OA, Kovaleva EL. Modern approach to estimating the content of genotoxic impurities in drugs (a review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(11):41–8 (In Russ.)]
- Наркевич ИА. Государственная фармакопея Российской Федерации в практике современного фармацевтического анализа. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;(2):35–7. [Narkevich IA. State Pharmacopoeia of Russian Federation in modern pharmaceutical analysis practice. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(2):35–7 (In Russ.)]
- domosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(2):35–7 (In Russ.)]
- Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Бармин АВ, Зайцев СА, Ярушок ТА. Фармацевтические субстанции. Требования государственной фармакопеи к их стандартизации. *Журнал Антибиотиков и химиотерапии*. 2017;62(5–6):63–7. [Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Barmin AV, Zaytsev SA, Yarushok TA. Pharmaceutical substances. Requirements of the State Pharmacopoeia for their standardization. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2017;62(5–6):63–7 (In Russ.)]
- Скорняков ЮВ, Скорнякова ОВ. Достижения и проблемы производства субстанций дженериков для фармацевтической промышленности. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2015;64(7):1696–9. [Skorniyakov YuV, Skorniyakova OV. The achievements and problems of the production of generic drug substances for pharmaceutical industry. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya = Russian Chemical Bulletin*. 2015;64(7):1696–9 (In Russ.)]
- Терешкина ОИ, Гуськова ТА. Международный опыт оценки безопасности примесных соединений в лекарственных препаратах. *Токсикологический вестник*. 2010;(5):32–5. [Teryoshkina OI, Guskova TA. International experience in the safety evaluation of impurities in drugs. *Toksikologicheskii vestnik = Toxicological Review*. 2010;(5):32–5 (In Russ.)]
- Ковалева ЕЛ, Беланова АИ, Панова ЛИ, Захарченко АА. Современные требования к оценке элементарных примесей (тяжелых металлов) в лекарственных средствах. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(1):54–9. [Kovaleva EL, Belanova AI, Panova LI, Zakharchenko AA. Current requirements for assessment of elemental impurities (heavy metals) in medicines. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(1):54–9 (In Russ.)]
- Виллс Д, Катчер Д, Ленорне Г. Определение примесей в медикаментах на масс-спектрометре с ИСП Thermo Scientific iCAP Qc. *Аналитика*. 2013;(6):36–43. [Wills J, Kutscher D, Lecornet G. Analysis of Pharmaceutical Products for Their Elemental Impurities Using the Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS. *Analitika = Analytics*. 2013;(6):36–43 (In Russ.)]
- Новоселов АН. Определение содержания свинца, кадмия, мышьяка и ртути в некоторых фармацевтических субстанциях методом атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией. *Наука и современность*. 2010;(4–2):9–14. [Novoselov AN. Determination of lead, cadmium, arsenic and mercury in some pharmaceutical substances by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. *Nauka i sovremennost' = Science and Modernity*. 2010;(4–2):9–14 (In Russ.)]
- Чернышова ОВ, Родионова ПА. Использование метода атомно-абсорбционной спектрометрии в анализе лекарственных средств, пищевых продуктов и других образцов. *Вестник фармации*. 2006;(4):85–92. [Chernyshova OV, Rodionova PA. Using the method of atomic absorption spectrometry in the analysis of drugs, food and other samples. *Vestnik farmatsii = Bulletin of Pharmacy*. 2006;(4):85–92 (In Russ.)]
- Терешкина ОИ, Гуськова ТА, Раменская ГВ, Самылина ИА. Фармакопейные подходы к нормированию остаточных органиче-

- ских растворителей в лекарственных средствах. *Фармация*. 2017;66(1):9–13. [Teryoshkina OI, Guskova TA, Ramenskaya GV, Samylyna IA. Pharmacopoeial approaches to rationing residual organic solvents in medicines. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2017;66(1):9–13 (In Russ.)]
17. Моисеев СВ, Крылов ВИ, Мастеркова ТВ, Яшкир ВА, Бунятян НД. Использование метода ЯМР-спектроскопии для подтверждения подлинности, идентификации и количественного определения посторонних примесей субстанции салициловой кислоты. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2014;(1):15–9. [Moiseev SV, Krylov VI, Masterkova TV, Yashkir VA, Bunyatyan ND. Nuclear magnetic resonance spectroscopy for drug identification, characterization and quantification of impurities in substance of salicylic acid. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2014;(1):15–9 (In Russ.)]
18. Беликов ВГ, Боровский БВ, Рассказов АГ. Определение остаточных органических растворителей в субстанции 4-амино-3-(пиридил-3)-бутановой кислоты методом газожидкостной хроматографии. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011;18(3):11–3. [Belikov VG, Borovsky BV, Rasskazov AG. Definition of residual organic solvents in some substances by means of gas-liquid chromatography method. *Zhurnal novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies*. 2011;18(3):11–3 (In Russ.)]
19. Воропаев АА, Фадейкина ОВ, Ермолаева ТН, Давыдов ДС, Волкова РА, Шведов ДВ. Разработка и валидация методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций с применением метода Култера (электрочувствительных зон). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(2):98–105. [Vоропаев АА, Fadeikina OV, Ermolaeva TN, Davydov DS, Volkova RA, Shvedov DV. Development and validation of a procedure for subvisible particles determination in water for injections by the Coulter principle (electrical sensing zone method). *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie = Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(2):98–105 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-98-105>
20. Качапут АИ. Выбор и обоснование метода стерилизации гормональных субстанций при получении лекарственных препаратов в форме суспензий для инъекций для применения в ревматологии. *Сибирский медицинский вестник*. 2017;(2):40–6. [Kachaput AI. Choice and justification of the method of bacterial purification of hormonal substances at production of medicinal preparations in suspension form for injections in rheumatology. *Sibirskiy meditsinskiy vestnik = Journal of Siberian Medical Sciences*. 2017;(2):40–6 (In Russ.)]
21. Шаповалова ОВ, Неугодова НП, Сапожникова ГА, Агаширинова АА, Гунар ОВ. Определение бактериальных эндотоксинов в лекарственных средствах: мешающие факторы и их устранение. *Фармация*. 2017;66(6):9–14. [Shapovalova OV, Neugodova NP, Sapozhnikova GA, Agashirina AA, Gunar OV. Detection of bacterial endotoxins in drugs: Disturbing factors and their elimination. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2017;66(6):9–14 (In Russ.)]
22. Устинникова ОБ, Гайдерова ЛА, Байкова МЛ, Лобанова ТН, Щербаченко ИМ, Голощапова ЕО, Бондарев ВП. Обзор методических подходов к оценке качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(3):152–7. [Ustinnikova OB, Gayderova LA, Baykova ML, Lobanova TN, Shcherbachenko IM, Goloshchapova EO, Bondarev VP. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie = Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(3):152–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2017-17-3-152-157>
23. Рябцева МС, Филимонова ИН, Осипова ИГ, Неугодова НП, Ковалева ЕЛ, Шаройкина МВ. Показатель качества «Аномальная токсичность» — одна из основных составляющих безопасности биологических лекарственных средств. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016;(9–2):232–7. [Ryabtseva MS, Filimonova IN, Osipova IG, Neugodova NP, Kovaleva EL, Sharoykina MV. Quality indicator «Abnormal toxicity» — one of the main components of safety of biological drugs. *Mezhdunarodny zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2016;(9–2):232–7 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Биглова Юлия Ремовна, канд. фарм. наук. *Yulia R. Biglova, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3928-742X>

Гадасина Наталия Вячеславовна. *Natalia V. Gadasina*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6702-5497>

Боковикова Татьяна Николаевна, д-р фарм. наук. *Tatiana N. Bokovikova, Dr. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1560-3424>

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук. *Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>

Немыкина Светлана Анатольевна. *Svetlana A. Nemykina*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8039-6487>

Моргунова Татьяна Владимировна. *Tatiana V. Morgunova*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1500-1586>

Мастеркова Татьяна Вячеславовна. *Tatiana V. Masterkova*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4116-2298>

Стронова Лариса Александровна, канд. фарм. наук. *Larisa A. Stronova, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5598-5132>

Герникова Евгения Петровна, канд. фарм. наук. *Evgenia P. Gernikova, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0942-7049>

Статья поступила 10.05.2018

После доработки 04.07.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 10 May 2018

Revised 4 July 2019

Accepted for publication 16 August 2019