

## Опыт проведения валидации методик определения радиохимических примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах

А. О. Малышева\*, Г. Е. Кодина, Е. А. Лямцева, Н. А. Таратоненкова, А. С. Лунев

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Государственный научный центр Российской Федерации —  
Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна»  
Федерального медико-биологического агентства,  
Живописная ул., д. 46, Москва, 123098, Российская Федерация

**Резюме.** Важнейшими показателями качества любого радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП) являются его радиохимическая чистота (РХЧ) или содержание радиохимических примесей (РХП), значения которых нормированы. Однако в настоящее время не существует единого подхода к валидации аналитических методик в условиях работы с высокорadioактивными образцами. **Цель работы:** формирование подхода к валидации методики определения содержания РХП в РФЛП. **Материалы и методы:** количественное определение РХП в радиофармацевтической композиции, содержащей комплекс технеция-99м с метилendifосфоновой кислотой, проводили радиометрическим методом после разделения примесей и основного соединения с помощью тонкослойной хроматографии в системе силикагель—метилэтилкетон для определения натрия пертехнетата и в системе силикагель — 13,6% раствор натрия ацетата для определения гидролизованного восстановленного технеция-99м. Регистрация радиоактивности проводилась с помощью хроматограмм-сканера с детектором, регистрирующим гамма-кванты с энергией от 0,05 до 1,5 МэВ. **Результаты:** рассмотрены и проанализированы существующие нормативные подходы к валидации аналитических методик в сравнении с результатами описанных в литературе экспериментальных исследований, проведена оценка валидационных параметров на соответствие критериям приемлемости, предъявляемым действующими нормативными документами. Доказана селективность хроматографического определения примесей в выбранных условиях анализа. Коэффициенты вариации при выполнении тестов «Повторяемость, воспроизводимость и правильность» не превышали 4,5; 2,8 и 8,9% соответственно при относительной погрешности не более 10,5%. Продemonстрирована линейность сигнала при разведении в 10 раз модельного раствора натрия пертехнетата, доказано соответствие нанесенной и детектируемой радиоактивности при анализе в диапазоне содержания примесей 0,5–5%. Показано, что выполнение процедуры валидации связано со значительными радиационными нагрузками на персонал лаборатории контроля качества. **Выводы:** предложен методологический подход к валидации методик определения содержания РХП в РФЛП на основе технеция-99м, который в дальнейшем может быть использован при разработке отдельного документа по валидации аналитических методик определения РХЧ или РХП для РФЛП или внесения соответствующих разделов в действующие документы.

**Ключевые слова:** радиофармацевтический лекарственный препарат; валидация; фармакопея; радионуклид; технеций-99м; радиохимические примеси; контроль качества; эквивалентная доза

**Для цитирования:** Малышева АО, Кодина ГЕ, Лямцева ЕА, Таратоненкова НА, Лунев АС. Опыт проведения валидации методик определения радиохимических примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):244–256. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-244-256>

\***Контактное лицо:** Малышева Анна Олеговна; an-malysheva@yandex.ru

## Experience in Validation of Methods for Determination of Radiochemical Impurities in Radiopharmaceuticals

A. O. Malysheva\*, G. E. Kodina, E. A. Lyamtseva, N. A. Taratonenkova, A. S. Lunev

State Research Center—Burnasyan Federal  
Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency,  
46 Zhivopisnaya St., Moscow 123098, Russian Federation

**Abstract.** Most important quality attributes of any radiopharmaceutical (RPh) are its radiochemical purity (RCP) or content of radiochemical impurities (RCIs) that have to comply with respective norms and limits. However, at present, there is no unified approach to validation of analytical methods in the context of highly radioactive samples. **The aim** of the study was to develop an approach to validation of methods for determination of RCI content in RPhs. **Materials and methods:** the authors determined the content of RCIs in a radiopharmaceutical formulation containing a complex of technetium-99m and methylenediphosphonic acid by the radiometric method after isolation of impurities from the main compound by thin-layer chromatography using silica gel and methyl ethyl ketone (for sodium pertechnetate determination) and silica gel and 13.6% sodium acetate solution (for determination of hydrolysed reduced technetium-99m). The radioactivity was registered by a chromatogram scanner with a detector of gamma-rays with energies from 0.05 to 1.5 MeV. **Results:** the paper analyses existing official approaches to validation of analytical procedures and compares them with the results of experimental studies described in available publications. It assesses the validation parameters for compliance with the acceptance criteria set forth in the current regulations and substantiates selectivity of chromatographic determination of impurities under the selected test conditions. Coefficients of variation for repeatability,

reproducibility, and accuracy did not exceed 4.5, 2.8, and 8.9%, respectively, given the relative error of not more than 10.5%. The study demonstrated signal linearity for the 10-fold dilution of the standardised sodium pertechnetate solution, it also demonstrated correspondence between the applied and detected radioactivity when performing the test in the impurity content range of 0.5–5%. The validation procedure was associated with significant radiation burden for the personnel of the quality control laboratory. **Conclusions:** the authors suggested a methodological approach to validation of methods for determination of RCI content in technetium-99m-based RPhs. This approach may be used in the development of a guideline on validation of analytical methods for RCP/RCI determination in RPhs, or for introduction of relevant sections into existing documents.

**Key words:** radiopharmaceutical; validation; pharmacopoeia; radionuclide; technetium-99m; radiochemical impurities; quality control; equivalent dose

**For citation:** Malysheva AO, Kodina GE, Lyamtseva EA, Taratonenkova NA, Lunev AS. Experience in validation of methods for determination of radiochemical impurities in radiopharmaceuticals. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):244–256. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-244-256>

\*Corresponding author: Anna O. Malysheva; an-malysheva@yandex.ru

Одним из основных средств ядерной медицины является радиофармацевтический лекарственный препарат (РФЛП)<sup>1</sup>, представляющий собой композицию, включающую радиоактивный изотоп в определенной химической форме и лиганд, отвечающий за доставку радиоактивного изотопа в тот или иной орган пациента. Ядерно-физические свойства технеция-99м (характер излучения и период полураспада) обуславливают возможность его применения в диагностике (получение изображений и функциональных характеристик органов и систем организма, имеющих различный характер в норме и при наличии патологического процесса). РФЛП на основе технеция-99м (<sup>99m</sup>Tc) готовят в медицинских организациях путем введения раствора натрия пертехнетата (Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>), который получают при элюировании генератора <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc, во флакон с лиофилизированной смесью восстановителя (обычно SnCl<sub>2</sub>) и комплексобразующего вещества. Технеций в семивалентном состоянии (в виде натрия пертехнетата) не склонен к комплексообразованию, в то время как технеций с более низкими степенями окисления является реакционноспособным и образует комплексные соединения<sup>2</sup>. Восстановитель переводит <sup>99m</sup>Tc в необходимое окислительное состояние, а комплексобразующее вещество обеспечивает возможность накопления технеция в тканях для визуализации конкретного патологического очага. В результате изготовления РФЛП в его составе могут присутствовать следующие радиохимические примеси (РХП): Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>, не восстановленный двухвалентным оловом и не вступивший в реакцию комплексообразования, и гидролизированный восстановленный технеций-99м (ГВТ).

Одним из важнейших параметров, определяющих качество РФЛП, является его радиохимическая чистота (РХЧ). В случае невозможности определения РХЧ проводят определение содержания радиохимических примесей (РХП)<sup>3</sup>. В настоящее время для определения РХЧ или РХП используют преимущественно тонкослойную хроматографию (ТСХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), бумажную хроматографию, электрофорез.

В соответствии с Федеральным законом<sup>4</sup> для государственной регистрации лекарственного средства заявитель представляет регистрационное досье, структура которого предусматривает наличие данных о валидации аналитических методик. Процесс валидации является важной частью системы обеспечения качества, обязательной в практике производства лекарственного средства.

Процесс валидации методик, используемых для определения качества лекарственных средств, регламентирован Государственной фармакопеей Российской Федерации<sup>5</sup>, Евразийской экономической комиссией также принято соответствующее Руководство<sup>6</sup>. В 2018 г. Европейским Директоратом по качеству лекарственных средств и здравоохранения (European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM) выпущено «Руководство по разработке монографий на радиофармацевтические препараты»<sup>7</sup>, которое содержит рекомендации по валидации методик, связанных с измерением радиоактивности, и учитывает некоторую специфику РФЛП по сравнению с лекарственными средствами других групп.

При валидации методики определения РХП унавливают относительное содержание примесей, которые образуются только в момент взаимодействия

<sup>1</sup> Здесь и далее использованы термины и аббревиатуры в соответствии с ОФС.1.11.0001.15 Радиофармацевтические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

<sup>2</sup> Тананаев ИГ, Ровный СИ, Мясоедов БФ. Технеций. Учебное пособие для вузов. Озерск: РИЦ ВРБ ФГУП «ПО «Маяк»; 2006.

<sup>3</sup> Общая фармакопейная статья ОФС.1.11.0001.15 Радиофармацевтические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

<sup>4</sup> Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «О лекарственных средствах».

<sup>5</sup> Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

<sup>6</sup> Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств. Утверждено Решением Коллегии ЕЭК от 17 июля 2018 г. № 113.

<sup>7</sup> Guide for the elaboration of monographs on radiopharmaceutical preparations. EDQM; 2018.

$\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  с восстановителем и комплексообразующим веществом. Создать модельные смеси с заданным постоянным соотношением примесей невозможно. Необходимо учитывать, что со временем радионуклид распадается (изменяется его радиоактивность), и для определения межлабораторной прецизионности методики РФЛП сложно транспортировать. Кроме того, следует по возможности минимизировать эффективные дозы облучения персонала, выполняющего валидацию.

Цель работы — формирование подхода к валидации методики определения содержания радиохимических примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах.

Для достижения поставленной цели были реализованы следующие задачи:

1) провести сравнение оцениваемых характеристик для методик определения посторонних примесей в нерадиоактивных лекарственных средствах и радиофармацевтических препаратах;

2) предложить методологические подходы к оценке этих характеристик на примере экспериментальных данных по валидации методик определения РХП в радиофармацевтической композиции, содержащей комплекс технеция-99м с метилendifосфоновой (медроновой) кислотой.

Медронат технеция-99м является наиболее широко применяемым РФЛП для остеосцинтиграфии, основной задачей которой является поиск метастатических и оценка распространенности опухолевых поражений скелета<sup>8</sup>. Лиофилизат для изготовления этого препарата непосредственно в медицинских организациях выпускается многими радиофармацевтическими компаниями. Методики определения примесей медроната технеция-99м в лекарственной форме для инъекций описаны в фармакопее США<sup>9</sup> (для определения содержания  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  используется бумажная хроматография в 85% растворе метанола, а для определения содержания ГВТ — бумажная хроматография в 0,9% растворе натрия хлорида) и в Европейской фармакопее<sup>10</sup> (для определения содержания  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  используется ТСХ в метилэтилкетоне, а для определения содержания ГВТ — ТСХ в 13,6% растворе ацетата натрия).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Радиофармацевтическую композицию (РК) готовили путем добавления 4 мл раствора  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  с необходимой объемной активностью (185–1480 МБк/мл) во флакон, содержащий лиофилизированную смесь 10 мг метилendifосфоновой

кислоты (МДФК) (кат. № M9508 Merck, Германия), 1 мг олова дихлорида дигидрата (кат. № 31669 Sigma-Aldrich, США) и 2 мг аскорбиновой кислоты (кат. № 95212 Fluka, Швеция). Полученную РК инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин, после чего проводили определение содержания РХП ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  и ГВТ).

Раствор  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  получали путем элюирования генератора  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  (НИФХИ им. Л.Я. Карпова, г. Обнинск, Россия) 0,9% раствором натрия хлорида, входящим в комплект поставки генератора, в соответствии с инструкцией по его эксплуатации. Активность полученного элюата измеряли на дозкалибраторе РИС А1 (ООО «НТЦ Амплитуда», Россия). При необходимости элюат разбавляли 0,9% раствором натрия хлорида до требуемой объемной активности (185–1480 МБк/мл). Раствор  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  готовили непосредственно перед приготовлением РК.

Определение содержания  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  в синтезированной РК проводили методом ТСХ. Для этого использовали пластинки ITLC-SG (Agilent Technologies, США) из стекловолокна, импрегнированного силикагелем, размером 10×100 мм, в качестве подвижной фазы использовали метилэтилкетон (кат. № 1097081000 Merck, Германия). На линию старта хроматографических пластинок наносили по 2 мкл раствора РК. После подсушивания пятна на воздухе проводили хроматографирование восходящим методом<sup>11</sup>. Ориентировочное время хроматографирования составляло 6 мин. В указанном режиме хроматографирования примеси  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  соответствует пятно с  $R_f = 0,95 \pm 0,05$ . Содержание  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  в РК определяли как отношение активности участка хроматограммы 80–100 мм к активности всей хроматограммы. Содержание  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  должно быть не более 2%<sup>12</sup>.

Определение содержания ГВТ в синтезированной РК проводили методом ТСХ. Для этого использовали пластинки ITLC-SG (Agilent Technologies, США) из стекловолокна, импрегнированного силикагелем, размером 10×100 мм, в качестве подвижной фазы использовали 13,6% раствор натрия ацетата. Хроматографию проводили сразу же после нанесения пробы на линию старта, не давая пятну высохнуть. Ориентировочное время хроматографирования составляло 7 мин. В указанном режиме хроматографирования ГВТ остается на старте хроматограммы ( $R_f = 0 \pm 0,05$ ). Содержание ГВТ в препарате определяли как отношение активности участка хроматограммы 0–25 мм к активности

<sup>8</sup> Technetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits. Technical reports series no. 466, Vienna: International Atomic Energy Agency, 2008, p.68.

<sup>9</sup> Technetium, Tc99m medronate injection. United States Pharmacopoeia, 42-NF 37. V. 2. P. 4196.

<sup>10</sup> Technetium ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) medronate injection. European Pharmacopoeia. 10th ed. Suppl. 10.2, 07/2019:1253.

<sup>11</sup> Общая фармакопейная статья ОФС.1.2.1.2.0003.15 Тонкослойная хроматография. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

<sup>12</sup> Technetium ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) medronate injection. European Pharmacopoeia. 10th ed. Suppl. 10.2, 07/2019:1253.

всей хроматограммы. Содержание ГВТ в РК должно быть не более 5% при полном отсутствии  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ . Нормированное суммарное значение содержания примесей ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  и ГВТ) в РК не должно превышать 5%<sup>13</sup>.

Распределение радиоактивности по хроматограмме определяли радиометрическим методом путем сканирования хроматограмм на приборах Mini-Scan (Bioscan, США) или Scan-RAM (LabLogic Systems Ltd., Великобритания) при скорости сканирования 2 мм/с.

Процедура валидации включала оценку специфичности методик, повторяемости, прецизионности, правильности и линейности. При оценке специфичности, повторяемости и прецизионности проводили хроматографическое разделение компонентов РК с последующим сканированием полученных хроматограмм. После проведения хроматографии пластинки высушивали на воздухе при комнатной температуре, обклеивали с двух сторон лентой с липким слоем и проводили измерение радиоактивности на хроматограмм-сканере. При оценке правильности и линейности использовали модельные растворы и проводили сканирование хроматографических пластинок без предварительной хроматографии. При изучении линейности модельные растворы  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  с минимальной и максимальной объемной активностью разбавляли в 2, 4, 5 и 10 раз. На линию старта хроматографических пластинок наносили по 2 мкл разбавленных модельных растворов  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ , а на линию фронта — по 2 мкл растворов  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  с объемной активностью 185 МБк/мл (при валидации метода для растворов с минимальной объемной активностью) и 1480 МБк/мл (при валидации метода для растворов с максимальной объемной активностью). После подсушивания пятен пластинки обклеивали с двух сторон лентой с липким слоем и проводили измерение радиоактивности путем их сканирования. Математическую обработку полученных результатов и статистический анализ данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010.

Расчет эквивалентных доз облучения на глаза и руки (кончики пальцев) сотрудников проводили исходя из радиоактивности образцов, времени выполнения тестов и расстояния между облучаемым объектом и образцами<sup>14</sup>. Для уменьшения дозовых нагрузок на персонал при выполнении некоторых тестов, где это было возможно, использовали РК с минимальной допустимой по нормативным документам для РФЛП объемной активностью.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Оцениваемые характеристики.** Перечень характеристик, которые рекомендуется оценивать при валидации методик количественного определения примесей согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15<sup>15</sup> в сравнении с рекомендациями Руководства EDQM<sup>16</sup>, приведен в таблице 1.

В настоящее время Руководство EDQM переведено на русский язык и практически без изменений предложено к утверждению Фармакопейным комитетом ЕАЭС в качестве аналогичного Руководства, то есть в ближайшее время документ начнет действовать. Поэтому представлялось целесообразным провести сравнение оцениваемых характеристик, представленных в обоих документах. Показано, что для методик количественного определения посторонних примесей и радиохимической чистоты оба документа предписывают определение одних и тех же показателей, при этом для РХЧ (РХП) оценка прецизионности не является обязательной для РФЛП, содержащих относительно короткоживущий радионуклид. Оценка робастности методики также не является обязательной для количественного определения примесей.

**Специфичность.** При проведении теста «Специфичность» было доказано различное положение пиков, соответствующих примесям ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ , ГВТ) и комплексу технеция-99м с медроновой кислотой. Аналогичный подход используется в работах [1–4]. Если радиохимические примеси недоступны в качестве индивидуальных соединений (в нашем случае это ГВТ), но их можно получить путем проведения стресс-испытаний (подвергая РК воздействию повышенной температуры, влажности, pH и т.д.), то результаты этих испытаний могут использоваться для подтверждения специфичности методики [2, 3]. Раствор ГВТ получали путем растворения восстановителя (олова дихлорида) в растворе  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  в отсутствие медроновой и аскорбиновой кислот. Результаты проведения теста, представленные на рисунке 1, доказывают специфичность методики определения содержания  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ , а результаты, представленные на рисунке 3, доказывают специфичность методики определения содержания ГВТ в РК.

На хроматограмме раствора  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  в системе силикагель–метилэтилкетон имеется только один пик с  $R_f = 0,95 \pm 0,05$  (рис. 1а), в то время как при хроматографировании в этой же системе раствора РК детектируется один пик с  $R_f = 0 \pm 0,05$ , соответствующий комплексу технеция-99м с МДФК

<sup>13</sup> Technetium ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) medronate injection. European Pharmacopeia. 10th ed. Suppl. 10.2, 07/2019:1253.

<sup>14</sup> Generic procedures for assessment and response during a radiological emergency. Technical reports series No. 1162. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2000.

<sup>15</sup> Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

<sup>16</sup> Guide for the elaboration of monographs on radiopharmaceutical preparations. European Pharmacopeia. EDQM; 2018.



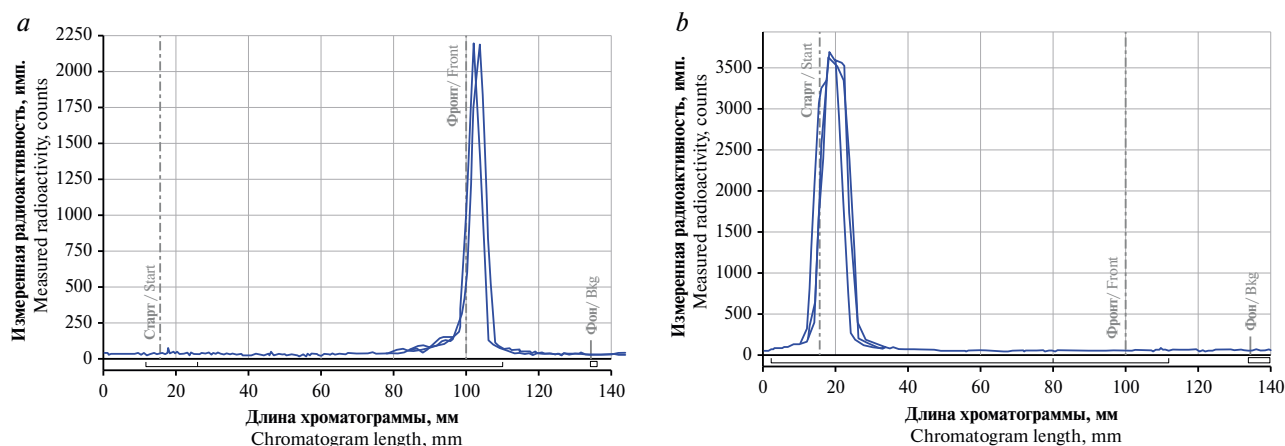
**Таблица 1.** Характеристики, оцениваемые при валидации методик определения посторонних примесей

**Table 1.** Characteristics assessed during validation of methods for determination of impurities

| Характеристика методики<br>Characteristic                                     | Количественное определение<br>посторонних примесей <sup>15</sup><br>Quantitative determination of impurities <sup>15</sup> | Радиохимическая чистота <sup>16</sup><br>Radiochemical purity <sup>16</sup> |
|---|--|---|
| Специфичность<br>Specificity  | +  | +   |
| Предел обнаружения<br>Detection limit   | —  | —   |
| Предел количественного определения<br>Quantification limit                    | +  | +   |
| Аналитическая область<br>Range  | +  | +   |
| Линейность<br>Linearity   | +  | +   |
| Правильность (точность)<br>Accuracy   | +  | +   |
| <b>Прецизионность:</b><br>Precision:  |  |   |
| - повторяемость (сходимость)<br>Repeatability                                 | +  | (+)   |
| - промежуточная (внутрилабораторная прецизионность)<br>Intermediate precision | +  | (+)   |
| Устойчивость<br>Robustness  | Определяется при необходимости<br>If necessary   | Определяется при необходимости<br>If necessary                              |

Примечание. «+» — определение предусмотрено; «—» — определение не предусмотрено; (+) — определение не всегда возможно (например, короткий период полураспада).

Note. + required; — not required; (+) not always possible (e.g. short half-life).

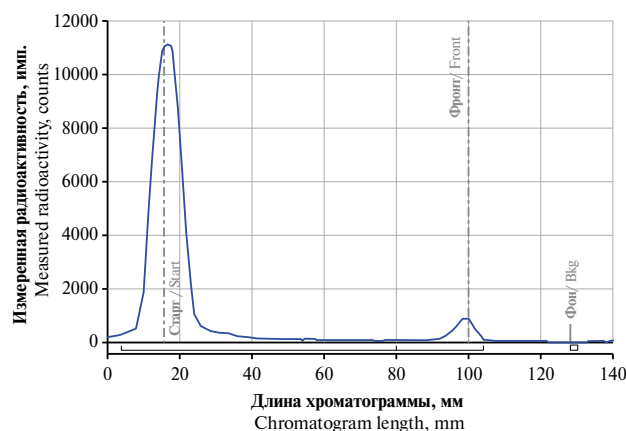


**Рис. 1.** Хроматограммы, полученные в системе силикагель—метилэтилкетон: (а) раствора  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  с объемной активностью 185 МБк/мл; (б) раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 185 МБк/мл, содержащего комплекс  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  с метилendisфосфоновой кислотой

**Fig. 1.** The chromatograms obtained using silica gel and methyl ethyl keton: (a) sodium pertechnetate ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) solution with volume radioactivity of 185 MBq/mL; (b) radiopharmaceutical formulation solution containing a complex of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  and medronic acid, with volume radioactivity of 185 MBq/mL

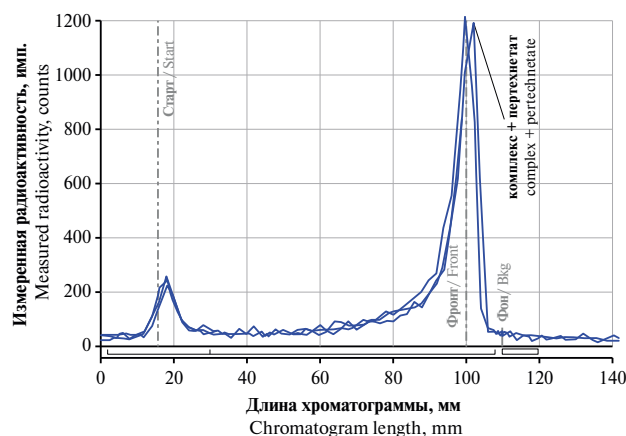
(рис. 1б). При наличии примеси  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  в РК на хроматограмме регистрируется второй пик с  $R_f = 0,95 \pm 0,05$ . Хроматограмма раствора РК с объемной активностью 186,6 МБк/мл, содержащего комплекс  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -МДФК и  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ , представлена на рисунке 2.

На хроматограмме модельного раствора ГВТ в системе силикагель — 13,6% раствор ацетата натрия имеется только один пик с  $R_f = 0 \pm 0,05$  (рис. 3а), в то время как при хроматографировании в этой же системе раствора РК детектируется один



**Рис. 2.** Хроматограмма раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 186,6 МБк/мл, содержащего комплекс  $^{99m}\text{Tc}$  с метилendisфосфоновой кислотой ( $R_f = 0 \pm 0,05$ ) и примесь  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  ( $R_f = 0,95 \pm 0,05$ ) в системе силикагель–метилэтилкетон

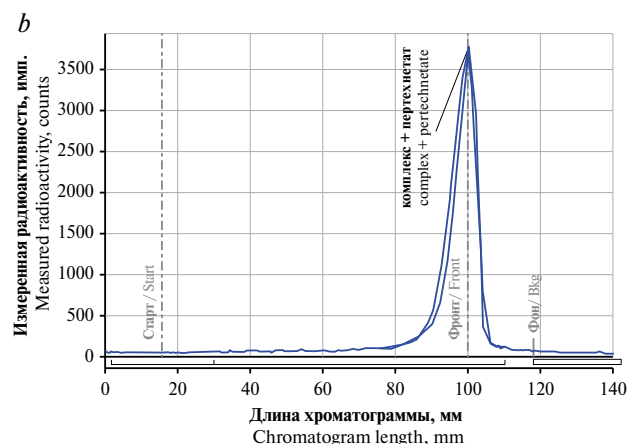
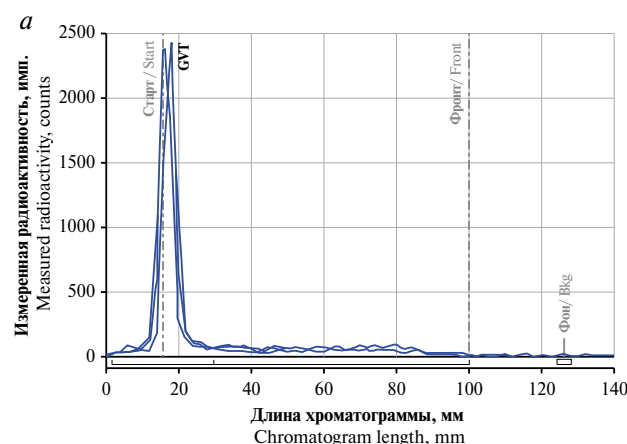
**Fig. 2.** The chromatogram of the radiopharmaceutical formulation solution containing a complex of  $^{99m}\text{Tc}$  and medronic acid ( $R_f = 0 \pm 0,05$ ), and  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  ( $R_f = 0,95 \pm 0,05$ ) as impurity, with volume radioactivity of 186.6 MBq/mL, obtained using silica gel and methyl ethyl keton



**Рис. 4.** Хроматограмма раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 186,6 МБк/мл, содержащего комплекс  $^{99m}\text{Tc}$  с метилendisфосфоновой кислотой ( $R_f = 0,95 \pm 0,05$ ) и примесь гидролизованного восстановленного технеция-99м ( $R_f = 0 \pm 0,05$ ) в системе силикагель — 13,6% раствор ацетата натрия

**Fig. 4.** The chromatogram of the radiopharmaceutical formulation solution containing a complex of  $^{99m}\text{Tc}$  and medronic acid ( $R_f = 0,95 \pm 0,05$ ), and hydrolysed reduced technetium-99m ( $R_f = 0 \pm 0,05$ ) as impurity, with volume radioactivity of 186.6 MBq/mL, obtained using silica gel and 13.6% sodium acetate solution

пик с  $R_f = 0,95 \pm 0,05$ , соответствующий комплексу технеция-99м с МДФК (рис. 3б). При наличии примеси ГВТ в РК на хроматограмме присутствует второй пик с  $R_f = 0 \pm 0,05$ . Хроматограмма раствора



**Рис. 3.** Хроматограммы, полученные в хроматографической системе силикагель — 13,6% раствор ацетата натрия: (а) раствора гидролизованного восстановленного технеция-99м с объемной активностью 185 МБк/мл; (б) раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 185 МБк/мл, содержащего комплекс  $^{99m}\text{Tc}$  с метилendisфосфоновой кислотой

**Fig. 3.** The chromatograms obtained using silica gel and 13.6% sodium acetate solution: (a) hydrolysed reduced technetium-99m solution with volume radioactivity of 185 MBq/mL; (b) radiopharmaceutical formulation solution containing a complex of  $^{99m}\text{Tc}$  and medronic acid, with volume radioactivity of 185 MBq/mL

РК с объемной активностью 186,6 МБк/мл, содержащего комплекс  $^{99m}\text{Tc}$ –МДФК и ГВТ, представлена на рисунке 4.

Для доказательства специфичности методики может использоваться добавление определенного количества примесей<sup>17</sup>. Однако такой подход может применяться не для всех РФЛП, поскольку не всегда можно приготовить модельные растворы, в которых содержание примесей не меняется с течением времени из-за протекающих реакций восстановления и комплексообразования технеция-99м, а также относительно быстрого обмена между различными формами комплексов и гидролизованных форм

<sup>17</sup> Mambilima N. Validation of radiochemical purity analysis methods used in two tertiary public hospitals in South Africa. Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science in Nuclear Medicine in the Faculty of Medicine and Health Sciences at Stellenbosch University; Stellenbosch University; South Africa, March, 2016; <https://scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/98859>.

**Таблица 2.** Результаты теста «Повторяемость», выполненного при валидации методик определения содержания радио-химических примесей в радиофармацевтической композиции**Table 2.** The results of repeatability testing performed during validation of methods for determination of radiochemical impurities in radiopharmaceutical formulations

| Характеристика методики<br>Characteristic  | Методика определения содержа-<br>ния $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ в радиофармацев-<br>тической композиции<br>Method for $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ determi-<br>nation in a radiopharmaceutical<br>formulation | Методика определения содержания гидро-<br>лизованного восстановленного технеция-99м<br>в радиофармацевтической композиции<br>Method for hydrolysed reduced<br>technetium-99m determination in a radio-<br>pharmaceutical formulation |
|--|---|--|
| Среднее значение содержания примеси, %<br>(для числа измерений $n = 9$ )<br>Mean impurity level, % ( $n = 9$ ) | 0,37  | 0,41   |
| Стандартное отклонение, %<br>Standard deviation, %   | 0,05  | 0,05   |
| Стандартное отклонение среднего значения, %<br>Standard deviation of the mean, %                               | 0,017   | 0,017  |
| Коэффициент вариации, %<br>Coefficient of variation, %   | 4,5   | 4,1  |
| Относительная погрешность, %<br>Relative error, %  | 10,5  | 9,5  |

восстановленного технеция-99м. Перед использо-  
ванием данного подхода необходимо тщательно изу-  
чить кинетические особенности химических реак-  
ций, которые протекают при получении РК.

**Прецизионность.** При проведении теста «Прецизионность» использовали растворы РК, из которых для проведения хроматографии в двух системах отбирали не менее 9 проб из каждой се-  
рии для теста «Повторяемость» и не менее 6 проб из каждой серии для теста «Внутрилабораторная прецизионность». После проведения хроматографии и определения содержания примесей в РК рассчитывали стандартное отклонение результата отдельного определения, стандартное отклонение среднего значения, относительную погрешность методики и коэффициент вариации. Результаты определения представлены в таблице 2.

Рассчитанные значения коэффициентов вариации для валидируемых методик составили 4,5 и 4,1% (табл. 2), что говорит о незначительной изменчивости вариационных рядов.

Перед вычислением статистических характери-  
стик была проверена однородность выборки с ис-  
пользованием критического значения контрольно-  
го критерия  $Q_{\text{крит.}}$ , которое равно 0,46 для  $n = 9$   
и доверительной вероятности 0,95<sup>18</sup>. Выборки счи-  
тали однородными, так как контрольные критерии  
для идентификации грубых ошибок  $Q_i$ , представ-  
ленные в таблице 3, не превышали критического  
значения контрольного критерия  $Q_{\text{крит.}}$

В отличие от теста «Повторяемость», который  
выполняли в одинаковых условиях, при проведе-  
нии теста «Внутрилабораторная прецизионность»

оценивали влияние случайных событий (дни вы-  
полнения испытаний, разные аналитики, использу-  
емое оборудование). Результаты теста представлены  
в таблице 4.

Коэффициент вариации для шести измере-  
ний у двух разных аналитиков (табл. 4) составил  
2,5 и 2,7% (для методики определения содержания  
 $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) и 1,6 и 2,8% (для методики определе-  
ния содержания ГВТ), что дает право утверждать,  
что методики валидированы по прецизионности.

**Предел количественного определения.** Мы счи-  
таем, что для подтверждения правильности, линей-  
ности, определения предела обнаружения и аналити-  
ческой области валидируемых методик не следует  
проводить хроматографическое разделение компо-  
нентов, поскольку методики основаны на радио-  
метрическом методе измерения радиоактивности  
соответствующих участков хроматографической  
пластинки, на которые наносится проба радио-  
нуклида. Детектирование проводится по радиону-  
клиду, при этом результаты детектирования радио-  
активности не зависят от того, в какой химической  
форме находится радионуклид, и в большинстве  
случаев не зависят от присутствия других хими-  
ческих компонентов в препарате, а определяются  
энергией гамма-квантов, испускаемых радионукли-  
дом, и применяемым детектором радиоактивности.  
Объем наносимой аликвоты раствора должен быть  
таким, чтобы можно было, используя выбранное  
средство измерения, статистически достоверно за-  
регистрировать по крайней мере 0,5% от нанесенной  
радиоактивности. Исходя из вышесказанного, был  
сделан следующий вывод: всегда можно определить

<sup>18</sup> Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0013.18 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

**Таблица 3.** Расчет контрольного критерия для идентификации грубых ошибок  $Q_i$  при валидации методик определения содержания радиохимических примесей в радиофармацевтической композиции

**Table 3.** Calculation of the control value for identification of gross errors  $Q_i$  when performing validation of methods for determination of radiochemical impurities in radiopharmaceutical formulations

| № измерения<br>Measurement | Содержание $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (X), %<br>$\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ content (X), % | Размах варьирования (R), %<br>Range of variation (R), % | $Q_i = \frac{ X_n - X_{n-1} }{R}$ | Содержание гидролизованного восстановленного технеция-99м, %<br>Hydrolysed reduced technetium-99m content, % | Размах варьирования (R), %<br>Range of variation (R), % | $Q_i = \frac{ X_n - X_{n-1} }{R}$ |
|----------------------------|---|---|-----------------------------------|--|---|-----------------------------------|
| 1                          | 0,21  | 0,39  | —                                 | 0,23   | 0,37  | —                                 |
| 2                          | 0,23  |   | 0,051                             | 0,24   |   | 0,027                             |
| 3                          | 0,25  |   | 0,051                             | 0,26   |   | 0,054                             |
| 4                          | 0,28  |   | 0,077                             | 0,33   |   | 0,189                             |
| 5                          | 0,32  |   | 0,103                             | 0,44   |   | 0,297                             |
| 6                          | 0,37  |   | 0,128                             | 0,46   |   | 0,054                             |
| 7                          | 0,49  |   | 0,308                             | 0,56   |   | 0,270                             |
| 8                          | 0,58  |   | 0,231                             | 0,59   |   | 0,081                             |
| 9                          | 0,60  |   | 0,051                             | 0,60   |   | 0,027                             |

Примечание. «—» — неприменимо для первого значения в ряду определяемых величин.  
Note. — not applicable to the first value in a set of measurements.

**Таблица 4.** Результаты теста «Внутрилабораторная прецизионность», выполненного при валидации методик определения содержания радиохимических примесей в радиофармацевтической композиции

**Table 4.** The results of intermediate precision testing performed during validation of methods for determination of radiochemical impurities in radiopharmaceutical formulations

| Характеристика методики<br>Characteristic  | Методика определения содержания $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ в радиофармацевтической композиции<br>Method for $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ determination in a radiopharmaceutical formulation |                             | Методика определения содержания гидролизованного восстановленного технеция-99м в радиофармацевтической композиции<br>Method for hydrolysed reduced technetium-99m determination in a radiopharmaceutical formulation |                             |
|--|---|-----------------------------|--|-----------------------------|
|  | аналитик 1*<br>analyst 1*   | аналитик 2**<br>analyst 2** | аналитик 1*<br>analyst 1*  | аналитик 2**<br>analyst 2** |
| Среднее значение содержания примеси, %<br>(для числа измерений $n = 6$ )<br>Mean impurity level, % ( $n = 6$ ) | 0,38  | 0,69                        | 1,03   | 0,51                        |
| Стандартное отклонение, %<br>Standard deviation, %   | 0,021   | 0,042                       | 0,037  | 0,032                       |
| Стандартное отклонение среднего значения, %<br>Standard deviation of the mean, %                               | 0,010   | 0,019                       | 0,017  | 0,014                       |
| Коэффициент вариации, %<br>Coefficient of variation, %   | 2,5   | 2,7                         | 1,6  | 2,8                         |

\* Результаты анализа получены с использованием хроматограмм-сканера Scan-RAM, «LabLogic Systems Ltd.» (Великобритания).  
\*\* Результаты анализа получены с использованием хроматограмм-сканера Mini-Scan «Bioscan» (США).  
\*The results were obtained using the chromatogram scanner Scan-RAM, LabLogic Systems Ltd. (Great Britain).  
\*\*The results were obtained using the chromatogram scanner Mini-Scan, Bioscan (USA).

достоверно содержание примеси в РК, зная ее объемную активность. Для этого необходимо выбрать объем наносимой аликвоты раствора натрия пертехнетата,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , который может быть от 1 до 5 мкл. Следовательно, при изложенном подходе не может быть установлено одного предела обнаружения примеси при использовании данной валидируемой методики. Предел количественного определения будет

зависеть от объемной активности раствора, объема аликвоты и содержания примеси в РК. А эти факторы зависят от чувствительности детектора. По нашему мнению, достаточно было бы указывать предел детектирования используемого оборудования или проводить валидацию хроматограмм-сканера вместо подтверждения предела количественного определения.



Авторы работы [2] определили предел обнаружения детектирования, равный 2 кБк для хроматограмм-сканера и 10 кБк — для дозкалибратора.

Расчет активности наносимой пробы раствора  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ , в зависимости от объемной активности РК, содержания в ней примеси и объема наносимой аликвоты, проводили по формуле:

$$A_{\text{ал}} = A_{\text{РК}} \times c \times V_{\text{ал}}, \quad (1)$$

где  $A_{\text{ал}}$  — активность нанесенной пробы, кБк;  $A_{\text{РК}}$  — объемная активность РК, кБк;  $c$  — содержание примеси, %;  $V_{\text{ал}}$  — объем нанесенной пробы, мл.

Результаты расчета, выполненные по формуле (1), представлены в таблице 5.

Таким образом, если значение предела обнаружения детектирования хроматограмм-сканера составляет 2 кБк, то для достоверного определения примеси в РК с объемной активностью 185 МБк/мл (минимальное нормированное значение) необходимо наносить на хроматографическую пластинку не менее 2 мкл анализируемой РК (табл. 5).

**Аналитическая область.** Авторы работы [5] считают, что количественное определение примесей свыше установленного нормативного значения

(например, содержание пертехнетат-ионов в остеотропном препарате на основе МДФК не должно превышать 2% от всей активности препарата) не имеет клинического значения, поскольку такой РФЛП не может быть использован для обследования пациентов. Обычно этот показатель устанавливается еще на стадии фармацевтической разработки при выяснении взаимосвязи РХЧ (или РХП) и биораспределения РФЛП. Следовательно, в проведении теста «Аналитическая область» нет необходимости, так как границы области уже продиктованы требованиями нормативного документа. По мнению авторов нескольких публикаций, эксперименты по определению аналитической области и доказательству линейности методик частично дублируют друг друга [2–6]. В нашем примере для РК на основе комплекса  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -МДФК границы аналитической области находятся в интервале 0–2,0% при определении содержания примеси  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  и 0–5,0% при определении содержания примеси ГВТ.

**Правильность.** При выполнении теста «Правильность (точность)» обычно рассчитывают процент обнаружения известной добавленной радиоактивности к пробе или разность между средним

**Таблица 5.** Результаты расчета радиоактивности наносимой пробы раствора  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$

**Table 5.** Calculation of radioactivity of the applied  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  solution aliquots

| Объемная активность радиофармацевтической композиции, МБк/мл<br>Volume activity of the radiopharmaceutical formulation, MBq/mL | Содержание примеси ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ), %<br>Impurity content ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ), % | Объем нанесенной пробы, мкл<br>Volume of the applied sample, $\mu\text{l}$ | Активность нанесенной пробы, кБк<br>Radioactivity of the applied sample, kBq |
|--|--|--|--|
| 185  | 0,5  | 1  | 0,9  |
|  |  | 2  | 1,9  |
|  |  | 3  | 2,8  |
|  |  | 4  | 3,7  |
|  |  | 5  | 4,6  |
|  | 2,0  | 1  | 3,7  |
|  |  | 2  | 7,4  |
|  |  | 3  | 11,1   |
|  |  | 4  | 14,8   |
|  |  | 5  | 18,5   |
| 500  | 0,5  | 1  | 2,5  |
|  |  | 2  | 5,0  |
|  |  | 3  | 7,5  |
|  |  | 4  | 10,0   |
|  |  | 5  | 12,5   |
|  | 2,0  | 1  | 10,0   |
|  |  | 2  | 20,0   |
|  |  | 3  | 30,0   |
|  |  | 4  | 40,0   |
|  |  | 5  | 50,0   |
| 1480   | 0,5  | 1  | 7,4  |
|  |  | 2  | 14,8   |
|  |  | 3  | 22,2   |
|  |  | 4  | 29,6   |
|  |  | 5  | 37,0   |
|  | 2,0  | 1  | 29,6   |
|  |  | 2  | 59,2   |
|  |  | 3  | 88,8   |
|  |  | 4  | 118,4  |
|  |  | 5  | 148,0  |

и принятым истинным значением с учетом доверительного интервала. Из-за невозможности приготовления стандартных образцов РК с известным содержанием примеси и использования метода добавок (добавление определенного количества радиоактивной примеси в раствор РК) подход к проведению этого теста тоже был изменен. При выполнении этого теста мы оценивали только точность (правильность) детектирования, а именно устанавливали соответствие между нанесенной на хроматографическую пластинку радиоактивностью аликвоты раствора  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  и измеренной радиоактивностью на этом же участке с помощью средств измерений. Разность между измеренной и нанесенной радиоактивностью не должна превышать установленную относительную погрешность валидируемой методики

(табл. 2). Тест проводили на трех уровнях содержания примеси (80, 100 и 120% от номинального содержания примеси в РК) в трех параллельных измерениях при минимальной объемной активности РК. В таблицах 6 и 7 представлены результаты проведения теста «Правильность» при валидации методик определения радиохимических примесей.

Полученные результаты, представленные в таблицах 6 и 7, еще раз подтвердили возможности детектирующего оборудования, но не зависели от хроматографического разделения компонентов, входящих в состав РК, а следовательно, от выполнения аналитической методики.

Если существует утвержденная фармакопейная методика определения содержания примесей, то может быть использован другой подход.

**Таблица 6.** Результаты проведения теста «Правильность» при валидации методики определения содержания натрия пертехнетата в радиофармацевтической композиции

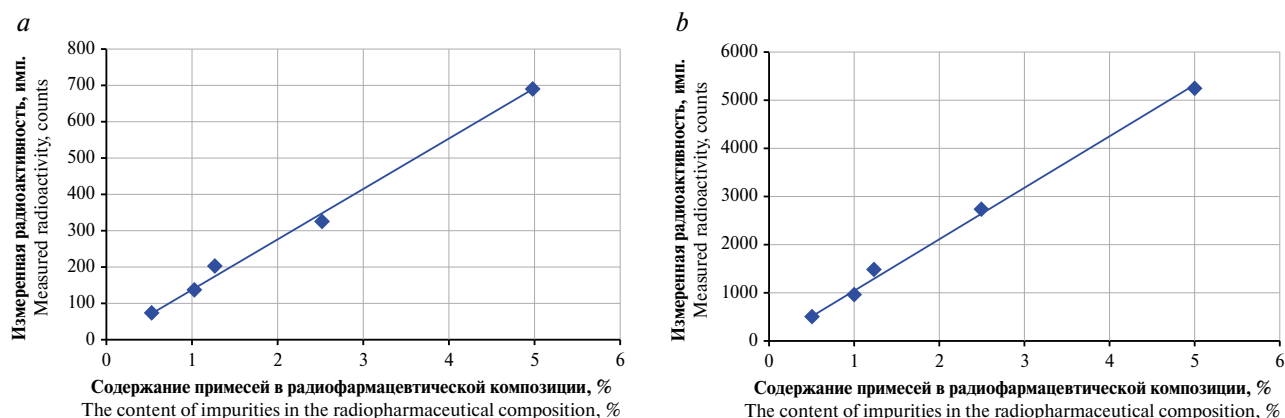
**Table 6.** The results of accuracy testing performed during validation of the method for determination of sodium pertechnetate in a radiopharmaceutical formulation

| Содержание $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ в радиофармацевтической композиции<br>Na <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> content in the radiopharmaceutical formulation |  | Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 185 МБк/мл<br>Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 185 MBq/mL |  |  | Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 1480 МБк/мл<br>Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 1480 MBq/mL |  |  |
|---|--|--|--|--|--|--|--|
| в процентах от номинального значения<br>percentage of the nominal value   | в процентах от активности радиофармацевтической композиции<br>percentage of the radiopharmaceutical formulation's activity | нанесенная активность, кБк (опорное значение)<br>radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)  | среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3)<br>mean measured activity, kBq (n = 3) | правильность, % (не более 10,5 %)<br>accuracy, % (not more than 10.5%) | нанесенная активность, кБк (опорное значение)<br>radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)  | среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3)<br>mean measured activity, kBq (n = 3) | правильность, % (не более 10,5 %)<br>accuracy, % (not more than 10.5%) |
| 80  | 1,6  | 5,92   | 6,34   | +7,1   | 47,36  | 47,10  | −0,5   |
| 100   | 2,0  | 7,40   | 7,67   | +3,6   | 59,20  | 61,88  | +4,5   |
| 120   | 2,4  | 8,88   | 9,67   | +8,9   | 71,04  | 68,47  | −3,6   |

**Таблица 7.** Результаты проведения теста «Правильность» при валидации методики определения содержания гидролизованного восстановленного технеция-99м (ГВТ) в радиофармацевтической композиции

**Table 7.** The results of accuracy testing performed during validation of the method for determination of hydrolysed reduced technetium-99m (HRT) in a radiopharmaceutical formulation

| Содержание ГВТ в радиофармацевтической композиции<br>HRT content in the radiopharmaceutical formulation |  | Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 185 МБк/мл<br>Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 185 MBq/mL |  |  | Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 1480 МБк/мл<br>Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 1480 MBq/mL |  |  |
|---|--|--|--|--|--|--|--|
| в процентах от номинального значения<br>percentage of the nominal value                                 | в процентах от активности радиофармацевтической композиции<br>percentage of the radiopharmaceutical formulation's activity | нанесенная активность, кБк (опорное значение)<br>radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)  | среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3)<br>mean measured activity, kBq (n = 3) | правильность, % (не более 9,5 %)<br>accuracy, % (not more than 9.5%) | нанесенная активность, кБк (опорное значение)<br>radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)  | среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3)<br>mean measured activity, kBq (n = 3) | правильность, % (не более 9,5 %)<br>accuracy, % (not more than 9.5%) |
| 80  | 4,0  | 14,8   | 14,1   | −4,7   | 118,4  | 117,9  | −0,5   |
| 100   | 5,0  | 18,5   | 18,8   | +1,5   | 148,0  | 148,9  | +0,6   |
| 120   | 6,0  | 22,2   | 22,7   | +2,0   | 177,6  | 177,3  | −0,1   |



**Рис. 5.** Зависимость площади пика радиохимической примеси от ее процентного содержания в радиофармацевтической композиции с объемной активностью: (а) 185 МБк/мл (уравнение регрессии:  $y = 137.1x$ ;  $R^2 = 0.9952$ ); (б) 1480 МБк/мл (уравнение регрессии:  $y = 1062.6x$ ;  $R^2 = 0.9969$ )

**Fig. 5.** Plot of the radiochemical impurity peak area versus its percentage content in the radiopharmaceutical formulation with volume radioactivity: (a) 185 MBq/mL (regression equation:  $y = 137.1x$ ,  $R^2 = 0.9952$ ), (b) 1480 MBq/mL (regression equation:  $y = 1062.6x$ ,  $R^2 = 0.9969$ )

Авторы работы [2] предлагают при проведении теста «Правильность» сравнивать данные, полученные с использованием как новой разрабатываемой методики, так и уже существующей на разных видах детектируемого оборудования (дозкалибратор или хроматограмм-сканер). Различие в значениях детектирования является критерием этого теста. Эта разность не должна превышать 2%. С нашей точки зрения данный подход не совсем верен, так как при этом испытании сравнивается точность детектирования с помощью различного оборудования, а по условиям теста должно проводиться сравнение измеренной (определяемой) одним и тем же детектором и нанесенной (известной) радиоактивности проб.

**Линейность.** При проведении теста должна быть установлена линейная зависимость аналитического сигнала от содержания примеси в анализируемой пробе. На количественное содержание примеси в РК не влияет ее объемная активность в интервале, указанном в нормативном документе. Построение графика зависимости объемной активности РК от заданного содержания в ней примесей является невыполнимой задачей потому, что невозможно приготовить для хроматографирования модельные растворы РК, содержащие определенное заданное количество примесей (например, невозможно приготовить РК с объемной активностью 200 МБк/мл, которая будет содержать 1,0%  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  и 2,5% ГВТ). Таким образом, выполнение этого теста опять связано с оценкой линейности детектора радиоактивности в диапазоне применения аналитической методики.

При выполнении этого теста строили график зависимости измеренной радиоактивности

(аналитический сигнал) участка пластинки, на который нанесена аликвота раствора примеси, от процентного содержания примеси в РК в интервале от 0,5 до 5%, т.е. фактически от расчетной величины нанесенной радиоактивности. Поскольку, согласно нормативному документу на препарат, утвержден интервал значений объемной активности, то для РК можно построить множество вариантов этой зависимости. Чтобы ограничить число вариантов и по возможности уменьшить дозовую нагрузку на персонал, было построено две зависимости: при минимальной (185 МБк/мл) и максимальной (1480 МБк/мл) объемной активности РК, указанной в нормативном документе. Графики зависимости представлены на рисунке 5.

Построенные зависимости имели линейный характер с коэффициентом корреляции, превышающим значение 0,995.

В соответствии с Руководством<sup>19</sup> коэффициент корреляции, полученный по графику, должен быть не менее 0,99 в случае прямого определения радиоактивности основного соединения. При определении радиоактивности после проведения аналитических процедур, например хроматографического разделения, или при определении примесей менее строгий коэффициент корреляции является приемлемым.

При доказательстве линейности методики может также использоваться другой подход<sup>20</sup>. Если валидируемая методика отличается от существующей фармакопейной методики, то можно построить график зависимости результатов, полученных с использованием этих двух методик при их сравнении. Зависимость должна иметь линейный характер с коэффициентом корреляции не менее 0,999.

<sup>19</sup> Guide for the elaboration of monographs on radiopharmaceutical preparations. EDQM; 2018.

<sup>20</sup> Там же.

**Таблица 8.** Оценка эквивалентной дозы при проведении валидации методик определения содержания радиохимических примесей в радиофармацевтической композиции

**Table 8.** Assessment of equivalent doses during validation of methods for determination of radiochemical impurities in radiopharmaceutical formulations

| Наименование методики<br>Method  | Наименование теста<br>Test  | Время выполнения теста, ч<br>Test run time, h | Оценка эквивалентной дозы<br>Assessment of equivalent doses |   |
|--|---|---|---|---|
|  |   |   | руки (кончики пальцев), мЗв<br>hands (finger tips), mSv     | хрусталики глаз, мкЗв<br>lenses of the eye, µSv |
| Методика определения $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$<br><br>Method for $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ determination | Специфичность<br>Specificity  | 2   | 201,93  | 1006,17   |
|  | Повторяемость<br>Repeatability  | 2   | 202,39  | 1008,16   |
|  | Внутрилабораторная прецизионность на 1 аналитика<br>Intermediate precision (one analyst)  | 1,7   | 177,07  | 819,73  |
|  | Правильность<br>- при минимальной активности<br>- при максимальной активности<br>Accuracy<br>- at minimal radioactivity<br>- at maximum radioactivity | 2,75<br>2,75                                  | 108,1<br>540,39   | 644,75<br>2777,56                               |
|  | Линейность<br>- при минимальной активности<br>- при максимальной активности<br>Linearity<br>- at minimal radioactivity<br>- at maximum radioactivity  | 2,8<br>2,8                                    | 110,66<br>563,02  | 650,56<br>2835,07                               |
|  | Суммарная эквивалентная доза<br>Total equivalent dose   | —   | 1903,56   | 9742,0  |
|  | Общее время, ч<br>Total time, h   | 16,8  | —   | —   |
| Методика определения ГВТ<br>Method for HRT determination   | Суммарная эквивалентная доза<br>Total equivalent dose   | —   | 1903,56   | 9742,0  |
|  | Общее время, ч<br>Total time, h   | 16,8  | —   | —   |
| Обе методики определения содержания РХП<br>Both methods for RCIs determination   | Суммарная эквивалентная доза<br>Total equivalent dose   | —   | 3807,12   | 19484   |
|  | Общее время, ч<br>Total time, h   | 33,6  | —   | —   |

Примечание. ГВТ — гидролизированный восстановленный технеций-99м; РХП — радиохимические примеси; «—» — неприменимо.  
Note. HRT—hydrolysed reduced technetium-99m; RCIs—radiochemical impurities; — not applicable.

Необходимо отметить еще одну особенность процедуры валидации методик, объектами которых являются композиции, содержащие радионуклиды. Это риск облучения персонала при выполнении тестов. В таблице 8 представлены результаты расчета эквивалентных доз при выполнении тестов при валидации методик определения содержания РХП в РК.

Показано, что при валидации методик определения РХП в РК эквивалентная доза облучения на глаза сотрудника может составить до 19,5 мЗв, а на кончики пальцев рук — до 3800 мЗв (табл. 8),

что почти в 7,5 раза превышает предел установленной годовой дозы облучения на кончики пальцев рук (500 мЗв<sup>21</sup>). Таким образом, выполнение всех тестов в полном объеме одним сотрудником с соблюдением установленных дозовых пределов по нормам радиационной безопасности<sup>22</sup> невозможно. Выполнение тестов «Правильность» и «Линейность» только на препаратах с минимальной объемной активностью позволяет снизить эквивалентную дозу облучения на руки сотрудника более чем в 2 раза (до 1600 мЗв), но даже при этом в валидации должны участвовать четыре сотрудника.

<sup>21</sup> СанПиН 2.6.1.2523-09 Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009). СП 2.6.1.2612-10 Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ 99/2010).

<sup>22</sup> Там же.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований показано, что разработка единого методологического подхода к валидации методики определения содержания радиохимических примесей в радиофармацевтических препаратах является актуальной задачей, поскольку достоверное определение радиохимических примесей необходимо для обеспечения качества радиофармацевтических препаратов. Выбор тестов при валидации подобных методик должен определяться с учетом соотношения между оценкой риска облучения персонала при выполнении тестов и их информативностью. Проведение тестов «Предел количественного определения» и «Аналитическая область» нецелесообразно из-за трудоемкости их выполнения и неинформативности, а также из-за использования в некоторых случаях радиоактивных растворов с большой объемной активностью, что может привести к необоснованному облучению персонала, выполняющего процедуру валидации. Вместе с тем не исключено, что при валидации методики определения радиохимической чистоты (а не радиохимических примесей) проведение этих тестов будет необходимым.

При валидации методики определения содержания радиохимических примесей следует проводить определение специфичности и прецизионности — тесты, подтверждающие правильность применения методики хроматографического разделения компонентов, и определение точности и линейности — тесты, подтверждающие правильность использования детектирующего оборудования. На основании анализа данных литературы показано, что необходима разработка отдельных требований и руководств

по валидации методик определения качества радиофармацевтических препаратов. Предложен методологический подход к валидации таких методик, который в дальнейшем может быть использован при разработке отдельного документа по валидации аналитических методик определения радиохимической чистоты и радиохимических примесей или для внесения соответствующих разделов в действующие документы.

**Вклад авторов.** *А. О. Малышева* — существенный вклад в концепцию работы, написание текста, анализ и интерпретация результатов работы; *Г. Е. Кодина* — идея, критический пересмотр содержания статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *Е. А. Лямцева* — редактирование текста, участие в выполнении экспериментов; *Н. А. Таратоненкова* — участие в выполнении экспериментов; *А. С. Лунев* — расчет эквивалентных доз.

**Authors' contributions.** *Anna O. Malysheva*—elaboration of the study concept, writing the text, analysis and interpretation of the study results; *Galina E. Kodina*—elaboration of the study idea, revision of the text, approval of the final version of the paper to be published; *Elena A. Lyamtseva*—editing of the text, participation in experimental work; *Nadezhda A. Taratonenkova*—participation in experimental work; *Aleksandr S. Lunev*—calculation of equivalent doses.

**Благодарности.** Работа проведена в рамках выполнения государственного задания Федерального медико-биологического агентства России (номер государственного учета НИР AAAA-A18-118020990098-3).

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project and was supported by the Federal Medical Biological Agency of Russia (R&D public accounting No. AAAA-A18-118020990098-3).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.  
**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Reisch G. Validation of analytical methods. *Conference "Radiopharmaceuticals — Quality, Safety and GMP Requirements"*. Vienna, February 26–27, 2019.
2. Straub M, Leresche M, Pilloud C, Devynck F, Stritt N, Hesselmann R. A new two-strip TLC method for the quality control of technetium-99m mercaptoacetyltriglycine ( $^{99m}\text{Tc}$ -MAG3). *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*. 2018;(3):5. <https://doi.org/10.1186/s41181-018-0040-5>
3. Calmanovici GP, Salgueiro MJ, Leonardi NM, Goldman CG, Nicolini JO, Boccio JR, et al. Quality control validation for exogenous natural surfactant labeled with  $^{99m}\text{Tc}$ . *J Nucl Med Technol*. 2005;33(4):234–7. PMID: 16322125
4. Santos R, Videira HS, Okamoto MRY, Guimarães MICC, Fonda US, Itikawa E et al. Validation of the analytical method of chemical purity of  $^{18}\text{F}$  radiopharmaceutical fludeoxyglucose (FDG) via thin layer chromatography. *Int J Develop Res*. 2019;9(4):27005–10.
5. Seetharaman S, Ballinger JR, Sosabowski MH. Simplified method for determining the radiochemical purity of  $^{99m}\text{Tc}$ -MAG3. *J Nucl Med Technol*. 2006;34(3):179–83. PMID: 16951288
6. Leonardi NM, Casale GA, Nicolini J, Zubata PD, Salgueiro MJ, Zubilaga MB. Validation of a paper chromatographic methodology as an alternative for determination of the radiochemical purity of  $\text{Na}^{18}\text{F}$ . *J Nucl Med Technol*. 2012;40(4):271–4. <https://doi.org/10.2967/jnmt.112.107664>

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Малышева Анна Олеговна.** *Anna O. Malysheva.* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9508-2840>

**Кодина Галина Евгеньевна,** канд. хим. наук, доцент. *Galina E. Kodina,* Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3415-4329>

**Лямцева Елена Александровна.** *Elena A. Lyamtseva.* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8651-9393>

**Таратоненкова Надежда Александровна.** *Nadezhda A. Taratonenkova.* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0028-8801>

**Лунев Александр Сергеевич,** канд. биол. наук. *Aleksandr S. Lunev,* Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8392-8343>

Статья поступила 21.05.2020

После доработки 27.08.2020

Принята к печати 04.12.2020

Article was received 21 May 2020

Revised 27 August 2020

Accepted for publication 4 December 2020