



Е.О. Чечетова 
Т.А. Батуашвили 
Н.П. Неугодова 

Анализ современных подходов к контролю содержания депрессорных веществ

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

✉ Чечетова Екатерина Олеговна; stepanuk@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Использование биологического сырья при получении лекарственных средств (ЛС) является причиной возможного загрязнения продукта депрессорными примесями, такими как гистамин, ацетилхолин, брадикинин, серотонин, простагландины и т.п. На территории Российской Федерации контроль качества ЛС по содержанию таких примесей проводят в соответствии с фармакопейным биологическим методом «Испытание на депрессорные вещества», которое выполняют на здоровых наркотизированных кошках. В связи с общемировой тенденцией исключения испытаний на животных рассмотрены подходы ведущих стран к определению гистаминоподобных веществ.

ЦЕЛЬ. Анализ российских и международных подходов к контролю содержания депрессорных веществ в биологических ЛС. Рассмотрение возможности применения инструментальных физико-химических методов определения гистаминоподобных примесей в качестве альтернативных биологическим методам с целью сокращения количества испытаний на животных.

ОБСУЖДЕНИЕ. Причиной сокращения применения животных в качестве тест-системы в испытаниях послужила Директива Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. В 2023 г. эксперты Европейской фармакопейной комиссии приняли решение о начале работ по удалению из фармакопеи показателей *in vivo* для определения содержания гистаминоподобных примесей. В Индии и Китае испытание на животных применяют в качестве основного для определения безопасности ЛС. На территории Российской Федерации проведение испытания на депрессорные вещества регламентируется ОФС 1.2.4.0008.18 Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ). С 2007 г. в ГФ РФ XII изд. включена ОФС 42-0063-07 «Испытание на гистамин» с целью контроля содержания гистамина в ЛС, которая позволяет сократить количество используемых в экспериментах кошек. В настоящее время российскими исследователями ведется поиск однонаправленных физико-химических или иммунохимических методов определения депрессорных веществ. Одним из путей решения этой проблемы может быть индивидуальный подход к назначению испытания для каждого контролируемого ЛС, что позволит минимизировать количество проводимых испытаний *in vivo* при сохранении надлежащего качества ЛС.

ВЫВОДЫ. Несмотря на общемировую тенденцию к сокращению применения метода *in vivo*, контроль содержания депрессорных веществ необходим и востребован. В мировом сообществе отсутствует единое мнение о необходимости использования животных для оценки депрессорных веществ. Отсутствие упоминания испытания в фармакопее как отдельной статьи (монографии) не отменяет факта повсеместного контроля гистаминоподобных примесей. Решение об исключении методов *in vivo* из Европейской фармакопеи является стимулом для поиска новых аналитических методов и внедрения дополнительных надзорных мер при производстве ЛС, которые позволят минимизировать риск загрязнения готовой продукции примесями. Рассмотрена возможность применения высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения содержания примеси гистамина в ограниченном количестве ЛС.

Ключевые слова: гистаминоподобные вещества; инструментальные физико-химические методы; принцип 3R; гистамин; гепарин; фармакопея; высокоэффективная жидкостная хроматография; ВЭЖХ; биологический метод; депрессорные примеси; контроль качества

Для цитирования: Чечетова Е.О., Батуашвили Т.А., Неугодова Н.П. Анализ современных подходов к контролю содержания депрессорных веществ. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(5):553–560. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-5-553-560>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00026-24-01 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200096-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Ekaterina O. Chechetova 
Tamara A. Batuashvili 
Natalia P. Neugodova 

Analysis of Current Approaches to Monitoring the Content of Depressor Substances

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

✉ Ekaterina O. Chechetova; stepanuk@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Raw materials of biological origin can contaminate medicines with depressor substances, such as histamine, acetylcholine, bradykinin, serotonin, and prostaglandins. In the Russian Federation, tests for the content of these impurities are conducted in anaesthetised healthy cats in accordance with the General Chapter Test for depressor substances of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. The global trend towards ending animal testing and the search for ways to eliminate animal tests for depressor substances motivate researchers to study international approaches to the determination of histamine-like substances.

AIM. This study aimed to analyse Russian and international approaches to the control of biologicals for depressor substances and to consider the applicability of alternative instrument-based physicochemical methods for the determination of histamine-like impurities, with a view to reducing animal testing.

DISCUSSION. The rationale for reducing the use of animals as test systems is set forth in Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. In 2023, the European Pharmacopoeia Commission initiated the removal of *in vivo* tests for histamine-like substances from the European Pharmacopoeia. However, China and India use animal testing as the basic method for assessing the safety of medicines. In the Russian Federation, the control of depressor substances is regulated under General Chapter 1.2.4.0008.18 of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Since the publication of General Chapter 42-0063-07 Test for histamine in edition XII in 2007, the State Pharmacopoeia of the Russian Federation has included a compendial text providing for a reduction in the number of cats used for testing. At present, Russian scientists are searching for targeted physicochemical and immunochemical methods for the determination of depressor substances. It has been demonstrated that a reasonable approach is to assess the need for testing a particular medicinal product in animals on a case-by-case basis. This approach will help minimise the number of *in vivo* tests and maintain an adequate quality of medicines at the same time.

CONCLUSIONS. Despite the global trend towards ending animal testing, it is still necessary and required to control medicines for the content of depressor substances. Nevertheless, there is no global consensus on the need to use animals for this purpose. The absence of a separate general chapter/monograph, or references to it, will not change the fact that histamine-like substances are controlled worldwide. The decision to exclude *in vivo* methods from the European Pharmacopoeia necessitates the search for alternative test methods and the implementation of additional manufacturing controls to minimise the contamination risk for finished medicinal products. Studies have shown that high-performance liquid chromatography can determine the content of histamine in a limited amount of a medicinal product.

Keywords: histamine-like substances; instrument-based physicochemical methods; 3R principle; histamine; heparin; pharmacopoeia; high-performance liquid chromatography; HPLC; animal testing; depressor substances; quality control

For citation: Chechetova E.O., Batuasvili T.A., Neugodova N.P. Analysis of current approaches to monitoring the content of depressant substances. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(5):553–560. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-5-553-560>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00026-24-01 (R&D Registry No. 124022200096-0).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Биологические испытания позволяют выявлять примеси, вызывающие нежелательные реакции организма, которые установить иными способами сложно. Одним из таких анализов является «Испытание на депрессорные вещества». Контроль по данному показателю особенно важен для безопасного применения лекарственных препаратов, получаемых с помощью микробиологического синтеза, например антибиотиков, ферментов, а также лекарственных средств (ЛС), которые получают из тканей и (или) органов животных. В случае нарушения технологии их производства или условий хранения сырья высок риск образования депрессорных примесей в субстанциях.

Депрессорные (гистаминоподобные) примеси — это вещества, способные в силу своих фармакологических свойств вызывать снижение артериального давления при внутрисосудистом введении. К ним относятся биологически активные вещества, имеющие разную химическую природу, в первую очередь — гистамин. В ЛС они присутствуют в незначительных количествах, но биологически активны даже в минимальных концентрациях.

С целью контроля содержания депрессорных веществ в ЛС в середине XX в. в ведущие фармакопеи мира был включен биологический метод для определения гистаминоподобных примесей на кошках. В настоящее время внедряемые в исследовательскую деятельность принципы гуманного использования животных в научных исследованиях (принципы 3R) предполагают поиск и разработку альтернативных методов контроля качества ЛС без использования животных.

Препятствием к исключению из Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) биологического показателя «Испытание на депрессорные вещества» является отсутствие полноценной замены методики контроля. Методика *in vivo* основывается на анализе реакции сердечно-сосудистой системы кошки, а именно изменения артериального давления в ответ на введение растворов гистамина в качестве стандарта и образцов испытуемого препарата. Данный вид животных обладает наиболее высокой чувствительностью к гистамину и подобным примесям по сравнению с другими видами [1, 2]. Существующие физико-химические методы в настоящее время не позволяют обнаружить в рамках одного эксперимента весь спектр гистаминоподобных примесей, поэтому ведутся поиски разных методов, позволяющих произвести данную оценку. Для решения вопроса о применении или исключении биологического показателя необходимо всестороннее рассмотрение.

Цель работы — анализ российских и международных подходов к контролю содержания депрессорных веществ в биологических ЛС. Рассмотрение возможности применения инструментальных физико-химических методов определения гистаминоподобных примесей в качестве альтернативных биологическим методам с целью сокращения количества испытаний на животных.

В обзор включены публикации, доступные к прочтению на порталах PubMed, ScienceDirect, NCBI. Для проведенного информационного анализа были использованы российские и зарубежные нормативные источники и методические руководства по оценке безопасности ЛС¹.

¹ European Pharmacopoeia 11th ed. Strasbourg: EDQM; 2024; United State Pharmacopeia. USP-NF. Rockville, MD; 2024; Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018; Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. Т. I. М.; 2024; [Guideline for Industry Heparin for Drug and Medical Device Use: Monitoring Crude Heparin for Quality. CGMP; 2013](#); [Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff Heparin-Containing Medical Devices and Combination Products: Recommendations for Labeling and Safety Testing, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health, 2015](#)

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Подходы к контролю гистаминоподобных веществ

В настоящее время единое мнение о необходимости выполнения биологического испытания на депрессорные вещества в мире отсутствует. Одни страны используют биологический метод как основной для контроля гистаминоподобных примесей, например Китай, Корея, Индия, Россия. Другие, такие как Япония, некоторые страны Европы, находятся на стадии его исключения и поиска альтернативных способов.

Так, в Китае, который является одним из лидеров по объемам производства фармацевтических субстанций биологических ЛС, в первую очередь гепаринов, исследование на наличие примесей, обладающих гипотензивным действием, проводят около 5000 испытаний на кошках в год [3]. В то же время Европейская фармакопейная комиссия в ноябре 2023 г. приняла решение о начале работ по исключению общих монографий для определения гистаминоподобных примесей — Histamine (2.6.10) и Depressor Substances (2.6.11) из Европейской фармакопеи (Ph. Eur.), а также о пересмотре частных статей, в которых есть ссылки на данные методы². Чтобы обеспечить контроль по данным показателям после исключения их из фармакопеи, в некоторых частных монографиях Европейской фармакопеи в разделе Production (Производство) появилось указание, что «для производства ЛС используются методы, позволяющие не допускать или снижать до минимума содержание депрессорных веществ»³. В монографии 04/2022:1468 Products of fermentation (Продукты ферментации) в разделе Down-stream processing (Последующая обработка) указано, что для очистки субстанций можно использовать различные процессы только в случае подтверждения, что выбранный способ позволяет исключить содержание гистамина и подобных веществ или минимизировать их. Взамен общих монографий 2.6.10 и 2.6.11 предполагается разработать раздел «Гистамин в активных веществах», в который будут включены физико-химические и иммунохимические методы идентификации гистамина⁴.

Согласно Фармакопее США (USP) используют метод определения содержания гистамина

с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)⁵. Методика была разработана для гентамицина сульфата, при внутривенном введении которого начиная с 2015 г. был зафиксирован рост нежелательных реакций [4]. Этот антибиотик получают путем ферментации *Micromonospora purpurea*, в качестве питательной среды используется субстрат с добавлением рыбного пептона — источника аминокислот и, в частности, гистидина. С одной стороны, такой богатый белком субстрат способствует активному росту микроорганизмов, что важно для промышленной ферментации, с другой стороны — при возможных нарушениях в технологическом процессе, например стерильных условий, из аминокислоты гистидин в результате реакции декарбоксилирования под действием L-гистидиндекарбоксилазы образуется гистамин [5]. Наличие свободного гистамина в ЛС опасно и приводит к спазму гладких мышц (включая мышцы бронхов и сосудов), расширению капилляров и понижению артериального давления, застою крови в капиллярах и увеличению проницаемости их стенок, выделению адреналина и учащению сердечных сокращений, вызывает отек окружающих тканей и сгущение крови⁶.

Помимо ВЭЖХ используют ЯМР-спектроскопию, которая позволяет сравнивать структурные особенности исследуемых образцов со стандартным образцом, например для идентификации субстанций эноксапарина и далтепарина [4].

На территории России первым шагом по сокращению применения биологического теста было утверждение ОФС «Испытание на гистамин» в ГФ РФ, где в качестве тест-объекта используют фрагмент подвздошной кишки морской свинки. Затем при пересмотре ОФС «Испытание на депрессорные вещества» в ОФС 1.2.4.0008.18 проведение испытания было регламентировано только для лекарственных препаратов, предназначенных для внутрисосудистого введения, и субстанций, из которых их производят, с целью контроля содержания гистамина в ЛС. В результате пересмотра ОФС «Испытание на депрессорные вещества» в 2018 г. (ГФ РФ XIV изд.) была опубликована новая редакция ОФС 1.2.4.0008.18, где проведение испытания было регламентировано только для лекарственных

² Outcome of the 177th session of the European Pharmacopoeia Commission. Strasbourg; 2023.

³ European Pharmacopoeia. 11th ed. Strasbourg: EDQM; 2024.

⁴ Bratos M, Kolaj-Robin O, Antoni M, Charton E. Ph. Eur. testing for histamine and depressor substances using guinea-pigs and cats: the end of an era Strategy for removal of animal tests for histamine and depressor substances and their vestiges from the Ph. Eur., EDQM, March 2024.

⁵ (426) Histamine test method. United State Pharmacopeia. USP-NF. Rockville, MD; 2024.

⁶ <http://arhimed-lab.ru/uslugi/bioximiya-krovi/gistamin.html>

препаратов, предназначенных для внутрисосудистого введения, и субстанций, из которых их производят. Одним из этапов сокращения количества применений теста стало решение об отмене испытания для готовой лекарственной формы, если тест «Испытание на депрессорные вещества» входит в перечень показателей нормативной документации для контроля субстанции. Требования по-прежнему распространяются на субстанции природного происхождения, используемые для изготовления лекарственных форм для внутрисосудистого введения, которые в своем составе могут иметь или получать в процессе производства примеси, обладающие депрессорным действием (субстанции микробиологического или животного происхождения)⁷.

В ГФ РФ XV изд. включены частные фармакопейные статьи на семь субстанций, содержащих показатель «Испытание на депрессорные вещества»: ФС.2.3.0007 Гепарин натрия, ФС.2.1.0404 Даунорубицина гидрохлорид, ФС.2.1.0674 Доксиклицилин гидрохлорид, ФС.2.1.0417 Доксорубицина гидрохлорид, ФС.2.1.0429 Канамицин сульфат кислый, ФС.2.1.05.07 Митомин, ФС.2.3.0002 Эноксапин натрия.

В настоящее время экспертами ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России выполняется научно-исследовательская работа по теме «Гармонизация подходов к стандартизации лекарственных средств с требованиями современных этических норм GLP и обоснование перехода от биологических и неселективных методик к высокоспецифичным инструментальным аналитическим методам», которая, в частности, направлена на разработку аналитических методик определения содержания депрессорных примесей в лекарственных формах. Параллельно с этим ведется теоретический анализ результатов испытаний образцов, прошедших экспертизу по показателю «Испытание на депрессорные вещества», за последние 10 лет с целью оценки необходимости и актуальности внедрения испытания для каждого конкретного ЛС.

Опыт применения физико-химических методов для определения депрессорных веществ

Основным инструментом, который позволяет сократить количество примесей, является надлежащее качество производства и наличие

строгого контроля всех стадий, особенно тех, где высок потенциальный риск появления загрязнений. Для изучения качества, состава и подлинности лекарственных препаратов в лабораториях и на производстве применяют метод ВЭЖХ, который позволяет идентифицировать не только активное вещество, но и возможные известные примеси. Главной задачей при разработке хроматографической методики является выбор условий анализа для каждого определяемого соединения индивидуально. Преимуществом использования данного метода является отсутствие лабораторных животных в качестве тест-системы, использование минимального количества образца, получение результатов через короткий промежуток времени⁸. За счет высокой чувствительности и специфичности именно данный метод рассматривается как основной метод определения примесей гистамина и ему подобных веществ в качестве альтернативы биологическому.

Рассмотрим опыт применения физико-химических методов на примере препаратов гепарина для внутрисосудистого введения, так как они относятся к самой большой группе ЛС животного происхождения. Впервые в чистом виде препарат был получен в 1922 г. из печени (hepar)⁹. На сегодняшний день гепарины производят из легких крупного рогатого скота или слизистой кишечника свиней, что представляет риск наличия гистаминоподобных примесей, связанный с особенностями производства. В тучных клетках соединительной ткани животных всегда содержатся и обновляются медиаторы — гликозаминогликаны, такие как гепарин, гепарансульфат, хондроитинсульфат А и С, а также биогенные амины гистамин, серотонин и другие биологически активные соединения, участвующие в синтезе и секреции медиаторов [5]. Риск потенциального загрязнения гистаминоподобными веществами происходит на стадии ферментативного гидролиза. Учитывая медицинские области применения — хирургия и кардиология, наличие такого побочного эффекта, как депрессорное действие, недопустимо. В программу контроля качества данных препаратов входит обязательное испытание на депрессорные вещества.

Осенью 2007 г. в результате применения партии нефракционированного гепарина, изготовленного из субстанции, загрязненной неизвестной примесью, погибло более 200 человек,

⁷ ОФС 1.0006.15 Фармацевтические субстанции. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. Т. 1. М.; 2024.

⁸ <https://millab.ru/press-tsentr/khromatografiya/>

⁹ https://revolution.allbest.ru/medicine/00405206_0.html

в основном жителей США и Германии. У пациентов на фоне проведения гемодиализа наблюдалась резкая гипотония, явившаяся причиной летального исхода. Перед тем как гепарин поступил на рынок, он прошел стандартный контроль по всем показателям качества (биологические загрязнители, включая белки, липиды, ДНК; идентификация, тяжелые металлы и т.п.) [6, 7]. Несмотря на проведенный анализ, выполненный в соответствии с нормативной документацией, не было обнаружено никаких отклонений от других партий гепарина. При дальнейшем изучении с привлечением ряда современных физико-химических методов удалось установить, что причина трагедии заключалась в присутствии в препаратах примеси — сверхсульфатированного хондроитинсульфата, который получают синтетическим путем сверхсульфатирования природного хондроитинсульфата А. Поскольку сверхсульфатированный хондроитинсульфат проявляет антикоагуляционную активность, загрязненные образцы гепарина прошли скрининг коагуляции цельной крови, проводимый производителем [8]. Механизм действия данной примеси отличается от традиционного гистаминоподобного, основанного на связывании с гистаминовыми рецепторами. Сверхсульфатированный хондроитинсульфат активирует кинин-калликреиновую систему, которая приводит к выработке брадикинина, обладающего депрессорным действием, вследствие чего происходит расширение сосудов и резкое падение давления. Кроме того, хондроитинсульфат индуцирует образование белков компонента (C) C3a и C5a — мощных анафилатоксинов [8]. Согласно литературным источникам, примесь была добавлена к уже готовой субстанции с умышленной целью фальсификации продукции [9, 10]. В течение нескольких месяцев проводились дополнительные исследования партий гепарина, обладающих нежелательными депрессорными реакциями, и с помощью спектроскопии ядерно-магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопии) удалось обнаружить и идентифицировать примесь [7].

Параллельно с изучением аналитическими методами (капиллярным электрофорезом, методом оптического вращения, ЯМР, ВЭЖХ) проводили исследования *in vivo* на свиньях, которым вводили чистый гепарин и загрязненный сверхсульфатированным хондроитинсульфатом [8].

Было показано, что у половины животных, которым вводили загрязненный гепарин, наблюдалось снижение артериального давления на 30% в течение первых 30 мин после инфузии, причем одно животное оставалось в гипотензивном состоянии более 15 мин. В группе, которой вводили контрольный препарат (чистый гепарин), снижения артериального давления не наблюдали. Дополнительно исследовали реакцию животных на введение чистого сверхсульфатированного хондроитинасульфата, которая оказалась более выраженной со стороны снижения не только артериального давления, но и частоты сердечных сокращений [8].

Этот случай наглядно показал, что в настоящее время отсутствует физико-химический метод, который способен полностью заменить биологическое испытание с использованием животных. Примесь не была обнаружена, поскольку выходной контроль проводился лишь физико-химическими методами, которые не подходят для определения неизвестной неожиданной примеси. Принцип биологической методики состоит в системном действии испытуемых образцов на организм млекопитающего животного, метаболизм которого схож с человеческим. Поэтому метод *in vivo* является неспецифичным и, следовательно, больше подходит для качественного анализа обнаружения гистаминоподобных примесей.

Для обеспечения безопасности цепочки поставок гепарина Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) рекомендовало дальнейшую разработку дополнительных физико-химических методик для анализа чистоты гепарина [11]. С 2013 г. Министерством здравоохранения США совместно с FDA опубликованы несколько руководств для производителей ЛС гепаринов, в которых описаны рекомендации по контролю качества в соответствии с фармакопейными требованиями и стандартами¹⁰.

Производственные процессы, включающие стадию ферментации, менее контролируемы, следовательно, при исключении показателя «Испытание на депрессорные вещества» необходимо подтверждать качество ЛС по содержанию этих веществ иными аналитическими методами¹¹. Принимая во внимание увеличение

¹⁰ Guideline for Industry Heparin for Drug and Medical Device Use: Monitoring Crude Heparin for Quality. CGMP; 2013.

¹¹ Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff Heparin-Containing Medical Devices and Combination Products: Recommendations for Labeling and Safety Testing. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health, 2015.

числа новых производственных площадок, а также появление большого количества воспроизводимых препаратов, необходимо обеспечить безопасность применения выпускаемой продукции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ показал, что, несмотря на разное отношение стран к использованию животных в испытаниях, контроль гистаминоподобных примесей востребован и необходим. Основываясь на опыте стран, не применяющих испытание на кошках, в Российской Федерации приступили к разработке физико-химических методик контроля депрессорных примесей. Однако о полном исключении биологического метода из ГФ РФ говорить преждевременно.

В настоящее время для сокращения проведения контроля качества с использованием теста «Испытание на депрессорные вещества» применяется индивидуальный подход:

- в случае контроля активной фармацевтической субстанции по данному показателю выполнение контрольного теста для готовой лекарственной формы не требуется, так как эти примеси могут образовываться только в субстанции;
- в случае доказательства отсутствия иных примесей, кроме гистамина, для его идентификации возможно использование метода ВЭЖХ в различных модификациях, разработанного для конкретного ЛС. В настоящее время проводятся исследования по разработке методики определения гистамина в препаратах гепарина.

Высокотехнологичный контроль с помощью чувствительных физико-химических методов, а также развитие и внедрение надлежащей производственной практики (GMP), которое способствует выпуску ЛС более высокого качества, позволят обоснованно говорить о полном отказе от использования биологической методики.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Макарова МН. Кошки в лабораторных исследованиях. Обзор литературы. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021;(1):86–104. Makarova MN. Cats in laboratory research. Literature review. *Laboratory Animals for Science*. 2021;(1):86–104 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-09>
2. Батуашвили ТА, Симутенко ЛВ, Неугодова НП, Шадрин ПВ. Методические подходы к определению депрессорных веществ в лекарственных средствах. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(2):137–41. Batuashevili TA, Simutenko LV, Neugodova NP, Shadrin PV. Methodological approaches to determination of depressor substances in medicinal products. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(2):137–41 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-137-141>
3. Huang G, Wu X, Wang F, Yao J, Huang R, Liang G, et al. Histamine sensitivity analysis of domestic cats for the examination of depressor substances. *Chin J Comp Med*. 2020;30(6):83–7.
4. Gaudiano MC, Valvo L, Rodomonte AL. A Q-TOF LC/MS method for identification and quantitation of histamine in the antibiotic gentamicin at ppm level: validation and uncertainty evaluation. *J Pharm Biomed Anal*. 2019;162:158–63. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.015>
5. Кондашевская МВ. Гепарин тучных клеток — новые сведения о старом компоненте (обзор литературы). *Вестник РАМН*. 2021;76(2):149–58. Kondashevskaya MV. Mast cells heparin — new information on the old component (review). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2021;76(2):149–58 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vramn1284>
6. Adam A, Montpas N, Keire D, Désormeaux A, Brown NJ, Marceau F, Westenberg B. Bradykinin forming capacity of oversulfated chondroitin sulfate contaminated heparin *in vitro*. *Biomaterials*. 2010;31(22):5741–8. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.03.074>
7. Guerrini M, Beccati D, Shriver Z, Naggi A, Viswanathan K, Bisio A, et al. Oversulfated chondroitin sulfate is a contaminant in heparin associated with adverse clinical events. *Nat Biotechnol*. 2008;26(6):669–75. <https://doi.org/10.1038/nbt1407>
8. Kishimoto TK, Viswanathan K, Ganguly T, Elankumaran S, Smith S, Pelzer K, et al. Contaminated heparin associated with adverse clinical events and activation of the contact system. *N Engl J Med*. 2008;358(23):2457–67. <https://doi.org/10.1056/nejmoa0803200>
9. Beni S, Limtiaco JF, Larive CK. Analysis and characterization of heparin impurities. *Anal Bioanal Chem*. 2011;399(2):527–39. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4121-x>
10. Mans DJ, Ye H, Dunn JD, Kolinski RE, Long DS, Phatak NL, et al. Synthesis and detection of N-sulfonated oversulfated chondroitin sulfate in marketplace heparin. *Anal Biochem*. 2015;490:52–4. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.08.003>
11. Leiden JM. Canaries, coal mines and the drug supply. *Nat Biotechnol*. 2008;26(6):624–6. <https://doi.org/10.1038/nbt0608-624>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Е.О. Чечетова* — сбор, анализ и систематизация литературных данных; анализ международных требований к тесту «Испытание на депрессорные вещества», формулировка выводов, редактирование текста рукописи; *Т.А. Батуашвили* — сбор и анализ экспериментальных данных, участие в формулировании выводов; критическое обсуждение и редактирование текста рукописи; *Н.П. Неугодова* — основная идея работы, редактирование текста рукописи, критическое обсуждение и утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Благодарности. Коллектив авторов благодарит О.В. Ваганову и Д.Н. Королеву за ценные консультации при обсуждении результатов работ.

Authors' contributions. All authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Ekaterina O. Chechetova* collected, analysed, and collated literature data; analysed international requirements for the test for depressor substances; formulated conclusions; and edited the manuscript. *Tamara A. Batuashvili* acquired and analysed experimental data, formulated conclusions, and critically discussed and edited the manuscript. *Natalia P. Neugodova* conceived the main idea of the study, critically discussed and edited the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication.

Acknowledgements. The team of authors thanks Olga V. Vaganova and Dmitry N. Korolev for valuable advice in the discussion of the results of this work.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Чечетова Екатерина Олеговна / Ekaterina O. Chechetova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>

Батуашвили Тамара Ариеловна, канд. биол. наук / **Tamara A. Batuashvili**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2656-8131>

Неугодова Наталия Петровна, канд. биол. наук / **Natalia P. Neugodova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>

Поступила 03.09.2024

После доработки 08.10.2024

Принята к публикации 18.10.2024

Received 3 September 2024

Revised 8 October 2024

Accepted 18 October 2024