

Volume 10, No. 4 2020

ISSN 1991-2919 (Print)

ISSN 2619-1172 (Online)

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

**THE BULLETIN OF THE SCIENTIFIC CENTRE
FOR EXPERT EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS**

www.vedomostincesmp.ru

Том 10, №4 2020

Журнал индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных: Chemical Abstracts (CAS), Embase, Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), его архив включен в базы крупнейших агрегаторов научных ресурсов и библиотек EBSCO, WorldCat, DOAJ, Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), КиберЛенинка и др.

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Пятилетний импакт-фактор РИНЦ – 0,335.

К публикации принимаются статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала www.vedomostinicesmp.ru.

Все статьи проходят рецензирование не менее чем двумя рецензентами.

Используется модель двойного слепого рецензирования.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописи не взимается.

Ускоренная публикация не допускается.

Материалы заочных конференций не публикуются.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством Российской Федерации.

ВЕДОМОСТИ
НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ
СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в **2005** году

Главный редактор доктор медицинских наук Ю. В. Олефир

Москва

«Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» — рецензируемый научно-практический журнал ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Основан в 2005 г. В журнале освещаются передовые достижения по вопросам стандартизации и оценки качества лекарственных препаратов различных групп, разработки и совершенствования методик фармацевтического анализа, методологии экспертизы лекарственных средств, в том числе по установлению их взаимозаменяемости, обсуждаются новые высокотехнологичные методы доклинических и клинических исследований лекарственных средств, рассматриваются актуальные проблемы фармакологии, клинической медицины, вопросы рационального применения лекарственных препаратов на основе принципов персонализированной терапии.

К публикации в журнале принимаются обзорные и оригинальные статьи, краткие сообщения, методические материалы, тематика которых соответствует фармацевтическим и медицинским отраслям науки и следующим научным специальностям:

- 14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.04.01 Технология получения лекарств;
- 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология;
- 14.01.01 Акушерство и гинекология, 14.01.02 Эндокринология, 14.01.05 Кардиология, 14.01.06 Психиатрия, 14.01.09 Инфекционные болезни, 14.01.11 Нервные болезни, 14.01.12 Онкология, 14.01.22 Ревматология, 14.01.28 Гастроэнтерология.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Олефир Юрий Витальевич, главный редактор, д-р мед. наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Романов Борис Константинович, заместитель главного редактора, д-р мед. наук, доцент, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Корсун Лилия Владимировна, ответственный секретарь, канд. биол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Агатонович-Куштрин Снежана, д-р фарм. наук, проф., Университет Ла Троба (Бендиго, Австралия)

Аляутдин Ренат Николаевич, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Дурнев Андрей Дмитриевич, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., НИИ фармакологии им. В. В. Закусова (Москва, Россия)

Иванов Максим Борисович, д-р мед. наук, Институт токсикологии (Санкт-Петербург, Россия)

Киселева Нина Михайловна, д-р биол. наук, проф., РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва, Россия)

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Алешкин Владимир Андрианович, д-р биол. наук, проф., МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского (Москва, Россия)

Бобизода Гуломқодир Мукамал, д-р биол. наук, д-р фарм. наук, проф., ТГПУ им. С. Айни (Душанбе, Республика Таджикистан)

Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф., ФМБА России (Москва, Россия)

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Звартау Эдвин Эдуардович, д-р мед. наук, проф., Первый СПбГМУ им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия)

Калиничев Сергей Анатольевич, редактор, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Губарева Ольга Николаевна, редактор перевода, канд. филол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук, НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (Ленинградская область, Россия)

Ордабаева Сауле Кутымовна, д-р фарм. наук, проф., Южно-Казахстанская медицинская академия (Шымкент, Республика Казахстан)

Прокофьев Алексей Борисович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Прокофьева Вера Ивановна, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Пятигорская Наталья Валерьевна, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Саканян Елена Ивановна, д-р фарм. наук, проф., АО НПО «Микроген» (Москва, Россия)

Сюбаев Рашид Даутович, д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Сычев Дмитрий Алексеевич, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., РМАНПО (Москва, Россия)

Титова Анна Васильевна, д-р фарм. наук, ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора (Москва, Россия)

Ягудина Роза Исмаиловна, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Якушева Елена Николаевна, д-р мед. наук, проф., РязГМУ (Рязань, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Лепяхин Владимир Константинович, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия)

Петров Владимир Иванович, академик РАН, д-р мед. наук, проф., ВолгГМУ (Волгоград, Россия)

Хохлов Александр Леонидович, д-р мед. наук, проф., ЯГМУ (Ярославль, Россия)

Шимановский Николай Львович, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., РНИМУ им. Н. И. Пирогова (Москва, Россия)

Яворский Александр Николаевич, д-р мед. наук, проф., ПушГЕНИ (Пушино, Россия)

РЕДАКЦИЯ

Молчан Нина Валерьевна, научный редактор, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Хрущева Мария Леонидовна, научный редактор, канд. хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

“The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products” is a peer-reviewed journal covering topics related to applied sciences, which is published by the Federal State Budgetary Institution “Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products” of the Ministry of Health of the Russian Federation. The journal was founded in 2005. It covers the latest achievements in standardisation and quality control of various groups of medicines, development and improvement of pharmaceutical test methods, approaches to medicine quality evaluation, including approaches to establishment of medicine interchangeability. The journal discusses new high-tech methods used in pre-clinical and clinical studies, current pharmacological and clinical medicine issues, rational use of drugs based on personalised medicine principles.

The journal publishes original research articles, reviews, brief communications, and methodical approaches pertaining to one of the pharmaceutical and medical branches of science and following specialist fields:

- 14.04.02 Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy, 14.04.01 Formulation of medicines;
- 14.03.06 Pharmacology, clinical pharmacology;
- 14.01.01 Obstetrics and gynaecology, 14.01.02 Endocrinology, 14.01.05 Cardiology, 14.01.06 Psychiatry, 14.01.09 Infectious diseases, 14.01.11 Nervous diseases, 14.01.12 Oncology, 14.01.22 Rheumatology, 14.01.28 Gastroenterology.

EDITORIAL BOARD

Yuri V. Olefir, Editor-in-chief, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Boris K. Romanov, Deputy Editor-in-chief, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Lilia V. Korsun, Executive Editor, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Snezana Agatonovic-Kustrin, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., La Trobe University (Bendigo, Australia)

Renad N. Alyautdin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Andrey D. Durnev, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Zakusov Institute of Pharmacology (Moscow, Russia)

Maxim B. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Institute of Toxicology (Saint Petersburg, Russia)

Nina M. Kiseleva, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY» (Leningrad Oblast, Russia)

Saule K. Ordabaeva, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., South Kazakhstan Medical Academy (Shymkent, Republic of Kazakhstan)

Alexey B. Prokofiev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vera I. Prokofieva, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Natalia V. Pyatigorskaya, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Elena I. Sakanyan, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Scientific and Production Association Microgen (Moscow, Russia)

Rashid D. Syubaev, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Dmitry A. Sychev, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

Anna V. Titova, Dr. Sci. (Pharm.), Information and Methodological Center for Expertise, Accounting and Analysis of the Circulation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Roza I. Yagudina, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Elena N. Yakusheva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Ryazan State Medical University (Ryazan, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Vladimir A. Aleshkin, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology (Moscow, Russia)

Gulomkodir M. Bobizoda, Dr. Sci. (Biol.), Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Ayni Tajik State Pedagogical University (Dushanbe, Republic of Tajikistan)

Igor V. Borisevich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Federal Medical Biological Agency (Moscow, Russia)

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Edwin E. Zvartau, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia)

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vladimir K. Lepakhin, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

Vladimir I. Petrov, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

Alexander L. Khokhlov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl, Russia)

Nikolay L. Shimanovsky, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Alexander N. Yavorsky, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pushchino State Institute of Natural Sciences (Pushchino, Russia)

EDITORIAL OFFICE

Sergey A. Kalinichev, Editor, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Olga N. Gubareva, Translation Editor, Cand. Sci. (Philology), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Nina V. Molchan, Science Editor, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Maria L. Khrushcheva, Science Editor, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

Том 10, № 4 2020

ОБЗОРЫ

Современные требования к контролю качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов по показателю «Измельченность» 218
Е. Л. Ковалева, В. В. Шелестова, Л. Н. Фролова, О. В. Бондаренко, О. Б. Николаева, В. Ю. Кутейников

Лекарственные средства на основе морской воды: особенности технологии и стандартизации 228
Н. С. Терёшина, М. Н. Лякина, О. А. Наумова

Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов: клиническое применение и оценка эффективности терапии 236
А. Г. Солодовников, Е. Ю. Сорокина, Е. И. Морковин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Опыт проведения валидации методик определения радиохимических примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах 244
А. О. Малышева, Г. Е. Кодина, Е. А. Лямцева, Н. А. Таратоненкова, А. С. Лунев

Риск-ориентированный подход к оценке санитарного благополучия вивария и питомника, здоровья лабораторных животных и человека 257
Е. Д. Бондарева, К. Е. Боровкова, М. Н. Макарова

Практические аспекты применения валидационных параметров на примере методик определения количественного содержания микроорганизмов в лекарственных препаратах 267
И. А. Буйлова, О. В. Гунар

ЮБИЛЕЙ

Сауле Кутымовна Ордабаева (к 60-летию со дня рождения) 273

ИНФОРМАЦИЯ

Научно-практическая конференция «Современные подходы к экспертизе лекарственных средств» (РегЛек 2020) . . 275

Журнал «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.

Учредитель: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Адрес учредителя и редакции: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» – Т57942, в каталоге «Издания органов НТИ» агентства «Роспечать», агентства «Урал-Пресс» – 57942. Тираж 100 экз. Цена свободная.

Издатель ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5
Типография ООО «Буки Веди»: 115093, Москва, Партийный пер., д. 1, корп. 58, стр. 2.

Подписано в печать: 09.12.2020

<https://www.vedomostincesmp.ru>, e-mail: vedomosti@expmed.ru

VEDOMOSTI NAUCHNOGO TSENTRA EKSPERTIZY SREDSTV MEDITSINSKOGO PRIMENENIYA

[The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products]

CONTENTS

Volume 10, No. 4 2020

REVIEWS

Current Requirements for the Degree of Fineness of Herbal Substances and Herbal Medicinal Products 218
E. L. Kovaleva, V. V. Shelestova, L. N. Frolova, O. V. Bondarenko, O. B. Nikolaeva, V. Yu. Kuteynikov

Sea Water-Based Medicines: Manufacturing Technology and Standardisation 228
N. S. Teryoshina, M. N. Lyakina, O. A. Naumova

Thrombopoietin Receptor Agonists: Clinical Use and Evaluation of Treatment Efficacy 236
A. G. Solodovnikov, E. Yu. Sorokina, E. I. Morkovin

ORIGINAL ARTICLES

Experience in Validation of Methods for Determination of Radiochemical Impurities in Radiopharmaceuticals 244
A. O. Malysheva, G. E. Kodina, E. A. Lyamtseva, N. A. Taratonenkova, A. S. Lunev

**Risk-Based Approach to the Assessment of Sanitary Safety of Vivariums and Breeding Facilities,
and Health Status of Personnel and Laboratory Animals** 257
E. D. Bondareva, K. E. Borovkova, M. N. Makarova

Validation Parameters as Applied to Methods for Quantification of Microorganisms in Medicinal Products 267
I. A. Buylova, O. V. Gunar

ANNIVERSARY

Saule Kutymovna Ordabaeva (on the 60th Anniversary) 273

INFORMATION

Applied Research Conference “Current Approaches to Evaluation of Medicinal Products” (RegLek 2020) 275

Journal “Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products” is registered
in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications.
Certificate PI No. FS77-53169 dated March 14, 2013

Founder: Federal State Budgetary Institution “Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”
of the Ministry of Health of the Russian Federation

Postal address of the founder and editorial office: 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051

Subscription codes are provided in the catalogue “Pressa Rossii”—T57942, in the Rospechat agency’ catalogue
“Izdaniya organov NTI”, and in the catalogue of Ural-Press agency — 57942. Print run: 100 copies. Free price

Publisher “NEICON ISP” LLC: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow 115114

Printing office “Buki Vedi” LLC: 1/58 Partiyiny lane, Moscow 115093

Passed for printing: December 9, 2020

<https://www.vedomostincesmp.ru>, e-mail: vedomosti@expmed.ru

Современные требования к контролю качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов по показателю «Измельченность»

Е. Л. Ковалева, В. В. Шелестова*, Л. Н. Фролова, О. В. Бондаренко,
О. Б. Николаева, В. Ю. Кутейников

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

Резюме. В связи с введением в отечественную фармакопейную практику новых видов лекарственного растительного сырья (ЛРС), не описанных в предыдущих изданиях Государственной фармакопеи, а также в связи с появлением новой формы выпуска лекарственных растительных препаратов (ЛРП) в виде порошка возникла необходимость унификации требований по показателю «Измельченность». Цель работы — анализ требований к контролю измельченности ЛРС и ЛРП в отечественной и зарубежной фармакопейной практике. В результате проведенного анализа установлено, что согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания для измельченного ЛРС и порошка предусмотрено нормирование содержания частиц, проходящих и не проходящих сквозь сито с отверстиями установленного размера. Для цельного ЛРС предусмотрено нормирование содержания частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями установленного размера. В монографиях ведущих зарубежных фармакопей указаны общие требования по размеру частиц для всех порошков, полученных как из сырья синтетического, так и из сырья природного и минерального происхождения, при этом в частных статьях требования к контролю измельченности ЛРС отсутствуют. Требования национальных фармакопей государств — членов Евразийского экономического союза к контролю измельченности ЛРС также не являются достаточно полными. Результаты анализа установленных норм показали необходимость изменения контролируемого размера мелких и крупных частиц для некоторых видов ЛРС.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье; лекарственный растительный препарат; лекарственные растения; фармакопея; стандартизация; измельченность

Для цитирования: Ковалева ЕЛ, Шелестова ВВ, Фролова ЛН, Бондаренко ОВ, Николаева ОБ, Кутейников ВЮ. Современные требования к контролю качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов по показателю «Измельченность». *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):218–227. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-218-227>

***Контактное лицо:** Шелестова Валентина Васильевна; ShelestovaW@expmed.ru

Current Requirements for the Degree of Fineness of Herbal Substances and Herbal Medicinal Products

Е. Л. Kovaleva, V. V. Shelestova*, L. N. Frolova, O. V. Bondarenko, O. B. Nikolaeva,
V. Yu. Kuteynikov

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

Abstract. The introduction of monographs on new types of herbal substances, which were not included in the previous editions of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (Ph. Rus.), and the introduction of the new powder dosage form of herbal medicinal products require alignment of requirements for the degree of fineness of medicinal products. The aim of the study was to compare Russian and foreign pharmacopoeial requirements for the degree of fineness of herbal substances and herbal medicinal products. The analysis demonstrated that in the case of cut herbal substances and powder, the Ph. Rus., XIV edition, establishes limits for the percent of particles that pass through and particles that are retained by a sieve with a specified pore diameter. In the case of whole herbal substances, the Ph. Rus. establishes limits for the percent of particles that pass through a sieve with a specified pore diameter. The monographs of the world leading pharmacopoeias include general requirements for the size of particles in all powders produced from chemically synthesized substances, as well as from naturally occurring and mineral substances, while individual monographs have no requirements for the degree of fineness of herbal substances. The national pharmacopoeias of the Eurasian Economic Union member states also include requirements for the degree of fineness of herbal substances, but they are not sufficient. The results of the analysis of the established limits demonstrate the need to change the controlled size of small and large particles for some types of herbal substances.

Key words: herbal substance; herbal medicinal product; medicinal plants; pharmacopoeia; standardisation; fineness

For citation: Kovaleva EL, Shelestova VV, Frolova LN, Bondarenko OV, Nikolaeva OB, Kuteynikov VYu. Current requirements for the degree of fineness of herbal substances and herbal medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):218–227. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-218-227>

***Corresponding author:** Valentina V. Shelestova; ShelestovaW@expmed.ru

Для фармацевтического рынка Российской Федерации характерна тенденция к росту потребления лекарственных препаратов растительного происхождения, используемых в целях профилактики и лечения заболеваний различной этиологии [1]. Это вызвано целым рядом объективных причин: низкой токсичностью, мягким, но эффективным действием, безрецептурным отпуском большинства препаратов данной группы, доступностью цен по сравнению с синтетическими лекарственными препаратами [1–4].

Одним из наиболее важных показателей качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП) является показатель «Измельченность», который характеризует размер частиц в ЛРС/ЛРП. От степени измельченности ЛРС/ЛРП зависит количество биологически активных веществ, перешедших в экстракционный препарат (например, водное извлечение, экстракт, настойку) [5, 6].

Экстрагирование ЛРС — это физико-химический процесс, на протекание которого оказывают влияние различные факторы: гистологическое строение сырья, природа экстрагента, температурный режим, продолжительность экстракции [7]. Немаловажное значение в этом процессе имеет характер измельчения сырья. Чем больше разрушена клеточная структура сырья, тем быстрее происходит процесс экстракции вследствие увеличения поверхности экстрагирования и скорости вымывания веществ из разрушенных клеток [8]. Большое содержание мелких частиц сопровождается увеличением числа клеток, имеющих разрушенную оболочку. Повышенная измельченность ЛРС, особенно содержащего крахмал, слизи, пектиновые вещества, способствует слеживанию мелких частиц и образованию комков, что также затрудняет проникновение экстрагента в клетку, замедляя процесс извлечения биологически активных веществ (БАВ) и способствуя получению мутного и плохо фильтрующегося извлечения [9, 10].

При больших размерах частиц растворитель должен проникать через много слоев клеточных оболочек, поэтому экстракция БАВ из крупных частиц может проходить медленно и не полностью. Кроме того, при одновременном содержании как крупных, так и мелких частиц нарушается их распределение в слое ЛРП, приводящее к неоднородности его дозирования и, как следствие, неравномерному

экстрагированию БАВ. В связи с этим для различных видов ЛРС/ЛРП должны быть установлены рациональные обоснованные нормы для степени измельчения [11].

Цель работы — анализ требований к контролю измельченности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в отечественной и зарубежной фармакопейной практике.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1) провести сравнительную оценку требований Государственной фармакопеи СССР X и XI изд.¹, Государственных фармакопей Российской Федерации XIII и XIV изд.² к измельченности ЛРС и ЛРП;

2) провести сравнительный анализ требований к контролю измельченности ЛРС и ЛРП ведущих зарубежных фармакопей³;

3) выполнить сравнительный анализ требований к контролю измельченности ЛРС и ЛРП национальных фармакопей государств — членов ЕАЭС⁴;

4) на основании анализа установленных норм измельченности ЛРС/ЛРП оценить необходимость контроля качества ЛРС и ЛРП по данному показателю.

В работе использовали информационно-аналитический метод исследования. Материалами для исследования служили Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации (ГРЛС) и официальные документы, определяющие номенклатуру и требования к качеству лекарственных средств:

- Государственная фармакопея СССР X изд. (ГФ X) и XI изд. (ГФ XI), Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд. (ГФ РФ XIII) и XIV изд. (ГФ РФ XIV);

- национальные фармакопеи государств — членов Евразийского экономического союза (ЕАЭС): Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ), Государственная фармакопея Республики Казахстан (ГФ РК);

- ведущие зарубежные фармакопеи: Европейская фармакопея (Ph. Eur.), Британская фармакопея (BP), Фармакопея США (USP).

Измельченность ЛРС/ЛРП (цельного, измельченного или порошкообразного) оценивают по содержанию частиц, проходящих сквозь сито с определенным номинальным размером отверстий.

¹ Государственная фармакопея СССР. X изд. М.: Медицина, 1968.

Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 1, 2. М.: Медицина, 1990.

² Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015.

Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018.

³ European Pharmacopoeia 9.6. Strasbourg; 2016.

British Pharmacopoeia. London; 2018.

United States Pharmacopoeia. USP 41-NF36.

⁴ Государственная фармакопея Республики Беларусь. II изд. Т. 2. Минск: Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; 2016.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. Астана: Жибек жолы; 2015.

Согласно ГФ X помимо ситового анализа допускатся в отдельных случаях проводить определение измельченности путем ручного отбора⁵, в частных фармакопейных статьях на цельное, резаное, дробленое или обмолоченное ЛРС требования к размеру частиц в пределах одной и той же морфологической группы были различными.

В ГФ XI требования к измельченному ЛРС были описаны в общей фармакопейной статье (ОФС) «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье»⁶, приведена методика определения измельченности методом ситового анализа для цельного, резаного, дробленого и порошоканного сырья. В ОФС «Определение измельченности порошков и сита»⁷ описана методика проведения ситового анализа, классификация измельченных порошков (крупный, средnekрупный, среднемелкий, мелкий, мельчайший, наимельчайший) и характеристики используемых для их анализа сит (материал, номинальный размер и форма отверстий). Для анализа ЛРС было рекомендовано использовать сита с размером отверстий от 10,0 до 0,16 мм.

Из описанных в ГФ XI морфологических групп ЛРС не подлежали измельчению плоды, семена, почки, цветки (кроме цветков липы). Ситовой анализ цельного ЛРС был предусмотрен для 15 видов ЛРС (подорожника большого листья, крапивы листья, наперстянки пурпурной листья, липы цветки и др.), в основном для наиболее хрупкого и ломющегося сырья, измельчающегося в процессе хранения и транспортировки. Было предусмотрено нормирование только мелких частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 3, 2, 1 и 0,5 мм. Нормируемый размер отверстий зависел от хрупкости высушенного ЛРС. Нормы содержания мелких частиц варьировали от «не более 2%» до «не более 10%» в зависимости от вида ЛРС. Например, для крапивы листьев (цельное сырье) частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, должно было быть «не более 10%», для подорожника большого листьев (цельное сырье) частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, — «не более 5%», для липы цветков измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, — «не более 3%».

Для 62 из 83 видов ЛРС, включенных в ГФ XI, была предусмотрена оценка измельченного сырья: контроль крупных частиц (не проходящих сквозь сито с номинальным размером отверстий заданного размера) и мелких частиц (проходящих сквозь сито с номинальным размером отверстий заданного

размера). В частных статьях на ЛРС был указан размер отверстий для крупных частиц (как правило, 7; 5 или 3 мм) и для мелких частиц (0,5; 0,315; 0,25 или 0,2 мм). Исключение составляли липы цветки, ольхи соплодия, для которых допускался более крупный размер частиц (20 и 10 мм соответственно). Для подавляющего большинства наименований измельченного ЛРС нормы содержания как крупных, так и мелких частиц не превышали 10%. В сумме содержание мелких и крупных частиц не должно было превышать 20%, но в некоторых случаях допускалось большее их количество. Например, для хвоща полевого травы измельченной допустимый предел суммы мелких и крупных частиц составлял 25%, для чаги — 22%, для крапивы листьев — 25%, для ландыша травы и листьев — 30%, для ели обыкновенной шишек — 33,5%, а для пустырника травы — 34%.

Среди указанных видов ЛРС для морфологических групп «трава» и «листья» значительную долю составляли именно мелкие частицы (от 15 до 30%), что, по всей вероятности, связано с хрупкостью и ломкостью высушенного ЛРС, которое при транспортировании и хранении способно подвергаться чрезмерному измельчению. При механическом измельчении крупных, твердых кусков чаги и больших по размеру шишек ели обыкновенной появляется большое количество мелких частиц, что отражено при нормировании мелких частиц для измельченного ЛРС («частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм, не более 18%» для чаги и «частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 30%» для шишек ели обыкновенной).

За почти тридцатилетний период с момента выхода ГФ XI в отечественную фармацевтическую практику были введены новые ЛРП, полученные из ранее не используемых видов ЛРС, таких как Melissa лекарственной трава, Echinacea пурпурной трава, Erva шерстистой трава, Lophosiphon корни и др. Появилась новая дозированная форма выпуска ЛРП — «порошок», которая отличается удобством применения. ЛРП в виде порошка, как правило, измельчены до размера частиц 2 мм, расфасованы по 1,5 или 2 г в пакеты из специальной бумаги.

Стандартизация новых видов ЛРС осуществлялась в соответствии с требованиями фармакопейных статей (ФС), временных фармакопейных статей (ВФС) и фармакопейных статей предприятий (ФСП)⁸. Было выявлено, что ФС и ВФС либо не регламентируют оценку измельченности ЛРС, либо обоснованность вводимых пределов нормирования была недостаточной (табл. 1).

⁵ Общая фармакопейная статья «Определение измельченности, примесей и влаги в лекарственном растительном сырье». Государственная фармакопея СССР. X изд. М.: Медицина; 1968.

⁶ Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 1. Методы анализа лекарственного растительного сырья. М.: Медицина; 1990.

⁷ Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 2. Общие методы. М.: Медицина; 1990.

⁸ Термин «фармакопейная статья предприятия» в связи с вступившим в действие Федеральным законом от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» устарел и заменен на термин «нормативная документация».

Таблица 1. Требования фармакопейных статей (ФС) и временных фармакопейных статей (ВФС) к измельченности некоторых видов лекарственного растительного сырья (ЛРС)

Table 1. Pharmacopoeial/provisional monographs' requirements for the degree of fineness of some types of herbal substances

Наименование ЛРС, номер ФС/ВФС Herbal substance, pharmacopoeial/ provisional monograph No.	Вид измельчения Type of fineness	Степень измельченности Degree of fineness	Норма Requirements
Эрвы шерстистой трава (<i>Aeruae lanatae herba</i>) ФС 42-3635-98 Mountain knotgrass herb FS 42-3635-98	Трава цельная Whole herb	Отсутствие None	Отсутствие None
	Трава измельченная Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм Particles not passing through a 5 mm sieve Particles passing through a 0.25 mm sieve	Не более 7% Не более 5% Not more than 7% Not more than 5%
Мелиссы лекарственной трава (<i>Melissae officinalis herba</i>) ФС 42-3645-98 Melissa herb FS 42-3645-98	Трава цельная Whole herb	Отсутствие None	Отсутствие None
	Трава измельченная Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм Particles not passing through a 7 mm sieve	Не более 17% Not more than 17%
	Трава порошок Powdered herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 2 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 10% Не более 10% Not more than 10% Not more than 10%
Лопуха корни (<i>Arctii radices</i>) ВФС 42-2878-97 Burdock root VFS 42-2878-97	Корни цельные Whole root	Отсутствие None	Отсутствие None
Эхинацеи пурпурной трава (<i>Echinaceae purpureae herba</i>) ВФС 42-2371-94 Purple coneflower herb VFS 42-2371-94	Трава цельная Whole herb	Отсутствие None	Отсутствие None
	Трава измельченная Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.25 mm sieve	Не более 5% Не более 20% Not more than 5% Not more than 20%

Так, для мелиссы лекарственной травы, оценка качества которой осуществлялась согласно ФС 42-3645-98, помимо нормирования количества частиц, не проходящих сквозь сито с размером отверстий 7 мм для измельченного ЛРС, было предусмотрено нормирование количества частиц, проходящих и не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 и 0,25 мм соответственно для порошка. Однако для измельченного ЛРС приведены нормы содержания только для крупных частиц — «частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм, не более 17%», хотя указанное ЛРС относится к хрупким видам сырья и норма для мелких частиц должна была бы быть предусмотрена. Для порошка мелиссы лекарственной травы содержание как мелких ($\leq 0,18$ мм), так и крупных (≥ 2 мм) частиц не превышало 10% по отдельности.

Большое содержание («не более 20%») мелких частиц «размером $\leq 0,25$ мм» допускалось согласно ВФС 42-2371-94 «Эхинацеи пурпурной трава» в форме выпуска «трава измельченная», а для крупных частиц «размером ≥ 7 мм» была приведена норма «не более 5%».

По требованиям ФС 42-3635-98 «Трава эрвы шерстистой» для измельченного сырья содержание частиц размером ≥ 5 мм и частиц с размером $\leq 0,25$ мм регламентировалось «не более 7%» и «не более 5%» соответственно.

В ВФС 42-2878-97 «Лопуха корни» было описано только цельное ЛРС, контроль мелких частиц для цельного сырья не был предусмотрен. Отсутствие нормирования измельченности цельного сырья, видимо, связано с твердостью корней и невозможностью их измельчения без использования специальных средств.

Также значительные различия наблюдались у разных производителей при нормировании показателей измельченности ЛРП, произведенных из ЛРС одной морфологической группы (например, «трава», «листья») и для ЛРП, произведенных из одного вида ЛРС. Так, для зверобоя травы измельченной 9 из 11 производителей регламентировали количество частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,31 мм, а два других производителя требовали использовать в данном случае сита с размером отверстий 0,18 и 0,5 мм. Также

отдельные производители устанавливали различающиеся нормы по количеству частиц, проходящих и не проходящих сквозь сито с одинаковым размером отверстий для одного и того же вида ЛРС.

Таким образом, в связи с устаревшими нормами, установленными эмпирическим способом, для ситового анализа ЛРС в соответствии с ГФ XI, для которого различались требования как по контролируемому размеру мелких и крупных частиц, так и по содержанию этих частиц, в связи с появлением новой формы выпуска ЛРП в виде порошка, а также в связи с введением в фармакопейную практику новых видов ЛРС, не входивших ранее в ГФ XI, возникла необходимость унификации требований по показателю «Измельченность».

В ОФС.1.5.3.0004.15 (ГФ РФ XIII) «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» впервые включено понятие «измельченность» ЛРС/ЛРП, представляющее собой «показатель качества лекарственного растительного сырья/препарата (цельного, измельченного, порошка), который характеризует количество лекарственного растительного сырья/препарата, имеющего больший или меньший размер частиц в сравнении с установленным фармакопейной статьей для соответствующего вида лекарственного растительного сырья или препарата, и выражается в процентах». В разделе «Определение измельченности» для цельного ЛРС приведены общие требования к содержанию измельченных частиц («частиц меньшего размера»), проходящих сквозь сито с отверстиями установленного размера. Для измельченного ЛРС и порошка нормируется процентное содержание частиц, проходящих и не проходящих сквозь отверстия заданного размера. Для ЛРС (измельченного и порошка) установлены единые нормы для крупных и мелких частиц — «не более 5%», а для цельного ЛРС нормируется количество мелких частиц «не более 5%».

В зависимости от структуры, морфологических особенностей и размеров ЛРС для анализа измельченности цельного сырья предусмотрено использование сит с размером отверстий 3; 2; 1 и 0,5 мм. Для измельченного ЛРС и порошка указываются допустимые нормы содержания частиц, проходящих и не проходящих сквозь сито, определяемые с помощью двух сит (верхнего и нижнего). Для измельченного ЛРС согласно ОФС.1.5.3.0004.15, также, как и в ГФ XI, предусмотрены нормы содержания частиц размером не более 7; 5 или 3 мм, для порошка нормируется размер крупных частиц в пределах «не более 2 мм». Просеивание измельченного ЛРС осуществляют с помощью нижнего сита с размером отверстий 0,5 мм, что исключает использование

размеров сит 0,315; 0,25 и 0,2 мм, и только в ряде случаев, когда ЛРС достаточно ломкое, например ромашки цветки, мяты перечной листья, донника трава, требование по размеру отверстий нижнего сита составляет 0,18 мм. Для просеивания порошка предусмотрено использование нижнего сита с размером отверстий 0,18 мм.

Требования к ситовому анализу приведены в ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ», в которой представлена классификация типовых размеров сит по международному стандарту ISO 3310-1⁹ и указаны соответствующие номера сит, рекомендуемые USP, Ph. Eur. и Японской фармакопеей. В зависимости от свойств исследуемого порошка и поставленных задач ситовой анализ может выполняться методами механического, воздушнотруйного и звукового просеивания. Для просеивания ЛРС/ЛРП, как правило, используют механическое просеивание.

В ГФ РФ XIII включено 56 видов ЛРС, из них 36 видов входили ранее в ГФ XI. В ГФ РФ XIV включено еще 53 вида ЛРС, из которых 43 вида были описаны в ГФ XI, и 10 — новых. К новым, включенным в обе фармакопеи видам ЛРС, относятся: аронии черноплодной плоды свежие и сухие, березы листья, гинкго двулопастного листья, донника трава, земляники лесной листья, красавки трава, лапчатки прямостоячей корневища, лопуха корни, расторопши пятистой плоды, тополя почки, хмеля соплодия, шавеля конского корни, эрвы шерстистой трава, эхинацеи пурпурной листья, солодки корни, калины кора, кориандра плоды и др.

В ГФ РФ XIII и ГФ РФ XIV внесены изменения по нормам допустимого размера крупных и мелких частиц ЛРС, описанного ранее в ГФ XI, а для ЛРС, впервые включенного в ГФ РФ XIII и ГФ РФ XIV, нормы указаны в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Для ЛРС, содержащего сильнодействующие БАВ, например ландыша трава, листья, цветки; красавки трава; белены листья и др., используемого только для промышленной переработки в целях получения суммы очищенных БАВ, применяемых в составе ЛП для производства фармацевтических субстанций, контроль измельченности порошка не предусмотрен. Исключение составляют также требования к эфирномасличному ЛРС, которое не измельчается до порошка.

Следует отметить, что для некоторых видов ЛРС нормы размеров частиц и их содержания остались неизменными при включении в ГФ РФ XIV и перенесены из предыдущих фармакопейных статей. Так, например, из ФС 42-3645-98

⁹ ГОСТ Р 51568-99 (ИСО 3310-1-90). Сита лабораторные из металлической проволочной сетки. Технические условия. М.: Издательство стандартов; 2003.

«Трава мелиссы лекарственной» в ГФ РФ XIV ФС.2.5.0084.18 «Мелиссы лекарственной трава» для измельченного сырья перенесена норма содержания частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, — не более 17% (табл. 2). Мелиссы лекарственной трава имеет хрупкую структуру, в сухом виде очень легко подвергается измельчению, следовательно, норма для крупных частиц значительно завышена.

Не изменилась норма («не более 20%») для крупных частиц размером 7 мм и более в измельченном ЛРС «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» (ФС.2.5.0027.15) по отношению к норме, указанной в ГФ XI на данный вид ЛРС. Мать-и-мачехи обыкновенной листья имеют войлочное опушение, что способствует «сцепливанию» измельченных частиц и формированию «пушистых комочков», которые не позволяют проходить через нормируемые размеры сит. Сложность в оценке крупных частиц существует и для ЛРС «Эрвы шерстистой трава» (ФС.2.5.0054.15). Возможно, для данных видов сырья не следует нормировать содержание крупных частиц по аналогии с ЛРС «Бессмертника песчаного цветки» (ФС.2.5.0007.15), для которого в ГФ XIV отсутствует норма для частиц, не проходящих через верхнее сито.

На наш взгляд, необходимо изменение норм для таких видов сырья, как календулы лекарственной цветки, зверобоя трава. При переработке высушенные хрупкие цветки и листья очень легко ломаются, их дополнительное измельчение возможно также в процессе фасования, поэтому содержание частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм и более, не может соответствовать норме «не более 5%». Для производителя при таких требованиях к измельченности ЛРС и ЛРП не представляется возможным обеспечить качество продукции, так как в этом случае в отходы может попадать часть ЛРС, которая содержит значительное количество БАВ, обуславливающих фармакологическое действие ЛРП. Именно по этой причине два производителя ЛРП «Календулы лекарственной цветки измельченные» используют нижнее сито с отверстиями размером 0,18 мм; для зверобоя травы измельченной у двух производителей предусмотрен размер отверстий нижнего сита с отверстиями размером 0,315 мм и у одного — 0,31 мм с нормами содержания мелких частиц «не более 10%» и «не более 5%» соответственно.

Для солодки корней в ФС.2.5.004015 ГФ РФ XIV недостаточно четко изложены требования к измельченности ЛРС. В разделе «Внешние признаки» указано, что сырье представляет собой кусочки «различной формы, как правило, волокнистые, размером от 1 до 10 мм (для неочищенного сырья) или от 1 до 6 мм (для очищенного сырья) или проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм

(для лекарственных растительных препаратов)». Однако в показателе «Измельченность сырья» для неочищенного сырья нормируются «частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями размером 10 мм» и «частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм».

Для измельчения корней и корневищ зачастую используют ударные мельницы. При таком методе измельчения очень хрупкие и легко ломающиеся корни и корневища (например, аира обыкновенного корневища) при размалывании и порошоквании легко измельчаются, в результате большое количество качественного сырья уходит в отходы. В связи с этим для аира обыкновенного корневищ в форме выпуска «порошок» одним из производителей для крупных частиц, «не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм», предусмотрена норма «не более 10%», а для мелких частиц, «проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, — не более 15%».

Проведенный нами анализ частных монографий на ЛРС ведущих зарубежных фармакопей (Ph. Eur., BP, USP) показал отсутствие требований к контролю измельченности ЛРС/ЛРП.

В Ph. Eur. (монография 2.9.35 «Powder fineness»), USP (монография 811 «Powder fineness»), BP (монография «Particle Size of Powders», Volume V, Appendix XVII) приведены общие требования к размеру частиц для всех порошков, полученных как из сырья синтетического, так и из сырья природного и минерального происхождения. Классификация порошков по степени измельчения в указанных фармакопеях в целом совпадает. Для определения измельченности порошков, размер которых превышает 75 мкм, рекомендовано использовать метод ситового анализа.

В ОФС 2.8.3 «Техника макроскопического и микроскопического анализа» ГФ РФ приведена классификация ЛРС по степени измельченности: резаное и дробленое (должно полностью проходить через сито с размером отверстий 8000 мкм), крупный порошок (2000 мкм), среднетонкий порошок (1000 мкм), среднетонкий порошок (500 мкм), мелкий порошок (250 мкм), мельчайший порошок (180 мкм). В ОФС «Лекарственное растительное сырье цельное или измельченное фасованное» для ЛРС, предназначенного для изготовления водных извлечений, указана степень измельчения — 5600 мкм (для настоев и отваров), 2000 мкм (для приготовления чаев). В этом же документе отдельно указана степень измельчения для листьев толокнянки и брусники, используемых для настоев и отваров, — 2400 мкм, для побегов багульника болотного — 4000 мкм. Эти требования в целом совпадают с требованиями ГФ РФ XIV по размерам частиц для измельченного ЛРС, но в ГФ РФ отсутствуют нормы для мелких частиц.

Таблица 2. Требования к измельченности некоторых видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) в соответствии с нормативной документацией производителей

Table 2. Requirements for the degree of fineness of some types of herbal substances after the update of official standards

Наименование ЛРС Herbal substance	Вид измельчения (в скобках указано количество произво- дителей) Type of material (Number of manufacturers)	Степень измельченности Degree of fineness	Норма Requirements
Аира обыкновенного корневища (<i>Acori calami rhizomata</i>) Calamus rhizome	Корневища измельченные (1) Cut rhizome	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.5 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
	Корневища порошок (1) Powdered rhizome	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 2 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 10% Не более 15% Not more than 10% Not more than 15%
Бессмертника песчаного цветки (<i>Helichrysi arenarii flores</i>) Sandy everlasting flower	Цветки измельченные (1) Cut flower	Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Not more than 5%
Зверобоя трава (<i>Hyperici herba</i>) St. John's wort	Трава измельченная (1) Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,31 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.31 mm sieve	Не более 5% Не более 10% Not more than 5% Not more than 10%
	Трава измельченная (1) Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,315 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.315 mm sieve	Не более 5% Не более 10% Not more than 5% Not more than 10%
	Трава измельченная (1) Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,315 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.315 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
	Трава порошок (1) Powdered herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 2 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
Календулы лекарствен- ной цветки (<i>Calendulae officinalis flores</i>) Calendula flower	Цветки измельченные (2) Cut flower	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 5 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
	Цветки измельченные (2) Cut flower	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм Particles not passing through a 5 mm sieve Particles passing through a 0.5 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
	Цветки порошок (4) Powdered flower	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 2 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%

Продолжение таблицы 2
Table 2 (continued)

Наименование ЛРС Herbal substance	Вид измельчения (в скобках указано количество произво- дителей) Type of material (Number of manufacturers)	Степень измельченности Degree of fineness	Норма Requirements
Мать-и-мачехи обыкновенной листья (<i>Tussilaginis farfarae folia</i>) Coltsfoot leaves	Листья измельченные (1) Cut leaves	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.5 mm sieve	Не более 20% Не более 5% Not more than 20% Not more than 5%
	Листья измельченные (1) Cut leaves	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.5 mm sieve	Не более 17% Не более 5% Not more than 17% Not more than 5%
Мелиссы лекарственной трава (<i>Melissae officinalis herba</i>) Melissa herb	Трава измельченная (3) Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.5 mm sieve	Не более 17% Не более 5% Not more than 17% Not more than 5%
	Трава порошок (1) Powdered herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм Particles not passing through a 2 mm sieve Particles passing through a 0.25 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
Солодки корни (<i>Glycyrrhizae radices</i>) Licorice root	Корни измельченные (1) Cut root	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 7 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
	Корни измельченные (2) Cut root	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 10 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 10 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
	Корни порошок (1) Powdered root	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм Particles not passing through a 2 mm sieve Particles passing through a 0.18 mm sieve	Не более 5% Не более 5% Not more than 5% Not more than 5%
Эрвы шерстистой трава (<i>Aeruae lanatae herba</i>) Mountain knotgrass herb	Трава измельченная (1) Cut herb	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм Particles not passing through a 5 mm sieve Particles passing through a 0.25 mm sieve	Не более 7% Не более 5% Not more than 7% Not more than 5%

В разделе «Допустимые примеси» требования к измельченности ЛРС содержатся только в 10 частных фармакопейных статьях ГФ РБ и только для цельного ЛРС. Установлены требования лишь к размеру отверстий нижнего сита. Так, для арники цветков «частиц, проходящих сквозь сито 2000 мкм», должно быть «не более 6%», для бессмертника песчаного цветков нормы «частиц, проходящих сквозь сито 1400 мкм», составляют «не более 5%». Очень маленький размер частиц (≤ 710 мкм) установлен

для контроля измельченности ольхи черной листьев, синюхи корневищ с корнями, первоцвета корней — не более 3%, не более 5%, не более 5% соответственно.

В ОФС 2.9.12 «Ситовой анализ» ГФ РК приведены общие требования к измельченности порошков, полученных как из сырья синтетического, так и из сырья природного и минерального происхождения. Приведена классификация ЛРС по степени измельченности: грубый порошок, среднемелький

порошок, мелкий порошок и очень мелкий порошок, приведены допустимые нормы для частиц, проходящих и не проходящих сквозь отверстия заданного размера. Поскольку ЛРС не описано в ГФ РК, требования к контролю измельченности для отдельных видов ЛРС отсутствуют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты информационно-аналитического исследования требований к контролю качества ЛРС/ЛРП в отечественной и зарубежной фармакопейной практике свидетельствуют, что нормы по размеру частиц для порошков, полученных как из сырья синтетического, так и из сырья природного и минерального происхождения, установлены и в ведущих зарубежных фармакопеях, и в фармакопеях государств — членов ЕАЭС, но наиболее полно контроль качества по показателю «Измельченность» с указанием условий проведения анализа, размера мелких и крупных частиц и норм их содержания для всех видов ЛРС представлен в ГФ РФ XIV.

В отечественную фармакопейную практику контроль мелких частиц для цельного сырья, а также контроль крупных и мелких частиц для измельченного сырья впервые был включен в ГФ XI. В XIII и XIV издания ГФ РФ дополнительно включены общие требования к содержанию измельченных частиц для цельного ЛРС («частиц меньшего размера»), проходящих сквозь сито; для измельченного ЛРС и порошка регламентируется содержание как измельченных частиц, так и частиц «большого размера», не проходящих сквозь сито. В зависимости от структуры, морфологических особенностей и размеров ЛРС для цельного сырья предусмотрено использование сит с размером отверстий 3; 2; 1 и 0,5 мм.

По требованиям ГФ РФ XIV для всех видов ЛРС (цельного, измельченного и порошка) установлены нормы содержания крупных и мелких частиц — «не более 5%», в то время как в ГФ XI нормы были указаны в частных ФС, и в подавляющем большинстве случаев они составляли более 10%. Для измельченного ЛРС предусмотрен размер частиц не более 7, или не более 5, или не более 3 мм, для порошка нормируется содержание частиц «большого размера» — не более 2 мм.

Анализ требований отечественной фармакопеи, предъявляемых к различным морфологическим группам ЛРС по показателю «Измельченность», регламентирующим содержание частиц, проходящих и не проходящих сквозь отверстия указанного

размера, показал необходимость уточнения установленных норм для некоторых видов ЛРС. Так, на наш взгляд, требуется изменение контролируемого размера мелких и крупных частиц для хрупкого ЛРС (календулы лекарственной цветки, зверобоя трава); для ЛРС, имеющего войлочное опушение (мать-и-мачехи листья, эрвы шерстистой трава); требуется выявление других видов ЛРС, для которых нормы по суммарному содержанию мелких и крупных частиц значительно превышены.

Анализ требований к качеству ЛРС/ЛРП по показателю «Измельченность» необходим для пересмотра и разработки ОФС и ФС, формирующих Государственную фармакопею Российской Федерации последующих изданий.

Вклад авторов. Е. Л. Ковалева — идея, планирование исследования, ответственность за все аспекты работы, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; В. В. Шелестова — написание основного текста, решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи; Л. Н. Фролова — написание разделов «Введение» и «Заключение», редактирование текста, анализ и интерпретация результатов работы; О. Б. Бондаренко — сбор, анализ и обобщение данных литературы; О. Б. Николаева — сбор данных, работа с источниками литературы; В. Ю. Кутейников — сбор данных, подготовка и оформление табличного материала.

Authors' contributions. Elena L. Kovaleva—elaboration of the study concept, planning of the study, carrying responsibility for all aspects of the study, approval of the final version of the paper for publication; Valentina V. Shelestova—writing of the main text, ensuring data reliability and integrity of all parts of the paper; Larisa N. Frolova—writing the sections “Introduction” and “Conclusion”, editing of the text, analysis and interpretation of the study results; Olga V. Bondarenko—collection, analysis, and systematisation of literature data; Olga B. Nikolaeva—collection of data, literature review; Vladislav Yu. Kuteynikov—collection of data, preparation and formatting of tables.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Е. Л. Ковалева является членом редакционной коллегии журнала «Вестник НЦЭСМП», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Elena L. Kovaleva is a member of the Editorial Board of “The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Широкова И. Рынок фитопрепаратов — тенденции, проблемы, прогнозы. *Ремедиум*. 2013;(4):26–32. [Shirokova I. The market of herbal medicines: Trends, challenges and forecast. *Remedium = Remedium*. 2013;(4):26–32 (In Russ.)]
2. Кязимова АУ, Гусейнова ГА, Абдуллаева РМ. Фитотерапия при беременности: преимущества и недостатки. *Фармация*. 2018;67(6):9–12. [Kyazimova AU, Guseynova GA, Abdullaeva RM. Phytotherapy during pregnancy: Advantages and disadvantages. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2018;67(6):9–12 (In Russ.)]
3. Оковитый СВ, Напалкова СМ, Повыдыш МН, Лужанин ВГ, Гончаров МЮ, Яковлев ГП. Лекарственные растения как источник перспективных фармацевтических субстанций для коррекции

- нарушений углеводного обмена. *Фармация*. 2018;67(7):8–13. [Okovityi SV, Napalkova SM, Povydysh MN, Luzhanin VG, Goncharov MYu, Yakovlev GP. Medicinal plants as a source of promising pharmaceutical substances for the correction of carbohydrate metabolic disorders. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2018;67(7):8–13 (In Russ.)]
4. Фролова ВВ, Криштанова НА, Климкина ЕА, Тихомирова ОМ. Разработка геля цетрарии исландской для наружного применения. *Фармация*. 2020;69(1):28–32. [Frolova VV, Krishtanova NA, Klimkina EA, Tikhomirova OM. Design of Iceland moss (*Cetraria islandica*) gel for topical use. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2020;69(1):28–32 (In Russ.)]
5. Калинин АМ, Антонова НП, Прохвятилова СС, Шефер ЕП, Моргунов ИМ. Влияние измельченности на содержание дубильных веществ в лекарственных растительных препаратах и лекарственном растительном сырье. *Фармация*. 2018;67(2):27–30. [Kalinin AM, Antonova NP, Prokhvatilova SS, Shefer EP, Morgunov IM. Impact of grinding grade on tannin contents in medicinal plant preparations and medicinal raw materials. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2018;67(2):27–30 (In Russ.)]
6. Черкашина ЕА, Кусраева КВ, Терских АП. Определение степени измельченности лекарственного растительного сырья. *Молодежный инновационный вестник*. 2019;8(2):513–5. [Cherkashina EA, Kusraeva KV, Terskikh AP. Determination of the degree of grinding of medicinal plant materials. *Molodezhny innovatsionny vestnik = Youth Innovation Bulletin*. 2019;8(2):513–5 (In Russ.)]
7. Щеколдина ЗН, Кизим НФ. Влияние внешних факторов на извлечение антоцианов и дубильных веществ из плодов боярышника. *Известия Тульского государственного университета. Естественные науки*. 2017;(3):42–9. [Shchekoldina ZN, Kizim NF. Influence of the external factors of the extraction of anthocyanins and tannins from hawthorn fruits. *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennyye nauki = Izvestiya Tula State University. Natural Sciences*. 2017;(3):42–9 (In Russ.)]
8. Дубашинская НВ, Хишова ОМ, Шимко ОМ. Некоторые особенности экстрагирования лекарственного растительного сырья (часть 1). *Вестник фармации*. 2006;(3):62–72. [Dubashinskaya NV, Khishova OM, Shimko OM. Some features of extraction of vegetable matter (part 1). *Vestnik farmatsii = Pharmacy Bulletin*. 2006;(3):62–72 (In Russ.)]
9. Кейкибаев АН. Влияние степени измельчения сухого растительного сырья на процесс экстракции. *Фармация Казахстана*. 2004;(7):36–7. [Keykibaev AN. Influence of the degree of grinding of dry plant materials on the extraction process. *Farmatsiya Kazakhstana = Kazakhstan Pharmacy*. 2004;(7):36–7 (In Russ.)]
10. Беседина НА, Сорокина АА. Исследование водных извлечений порошкового лекарственного растительного сырья. В кн.: Пути и формы совершенствования фармацевтического образования: Материалы 3-й Всероссийской конференции «Фармобразование-2007». Часть 1. Воронеж; 2007. С. 71–4. [Besedina NA, Sorokina AA. Investigation of aqueous extracts of powdered medicinal plant materials. In: Ways and forms of improving pharmaceutical education: Materials of the 3rd All-Russian conference "Pharmaceutical education-2007". Part 1. Voronezh; 2007. P. 71–4 (In Russ.)]
11. Никонов ГК, Мануйлов БМ. *Основы современной фитотерапии*. М.: Медицина; 2005. [Nikonov GK, Manuylov BM. *Fundamentals of modern phytotherapy*. Moscow: Meditsina; 2005 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

- Ковалева Елена Леонардовна**, д-р фарм. наук. *Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>
- Шелестова Валентина Васильевна**, канд. фарм. наук. *Valentina V. Shelestova, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3850-5501>
- Фролова Лариса Николаевна**, канд. фарм. наук. *Larisa N. Frolova, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7170-7220>
- Бондаренко Ольга Владимировна**, канд. фарм. наук. *Olga V. Bondarenko, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8240-5201>
- Николаева Ольга Борисовна**, канд. фарм. наук. *Olga B. Nikolaeva, Cand. Sci. (Pharm.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8293-6053>
- Кутейников Владислав Юрьевич**. *Vladislav Yu. Kuteynikov*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6299-4261>

Статья поступила 30.07.2020

После доработки 23.09.2020

Принята к печати 04.12.2020

Article was received 30 July 2020

Revised 23 September 2020

Accepted for publication 4 December 2020

Лекарственные средства на основе морской воды: особенности технологии и стандартизации

Н. С. Терёшина*, М. Н. Лякина, О. А. Наумова

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

Резюме. Морская вода и получаемая из нее морская соль используются в качестве субстанций при производстве лекарственных препаратов для медицинского применения. В связи с тем что морская вода представляет собой раствор различных солей и имеет сложный состав, существует необходимость разработки единого стандарта качества на указанные лекарственные средства. Цель работы — анализ и обобщение данных литературы об источниках получения и современных методах анализа лекарственных средств на основе морской воды, а также разработка унифицированного подхода к оценке их качества. Описаны области применения морской воды в лечебных целях. Приведены сравнительные данные о химическом составе морской воды из различных природных источников, об особенностях технологии лекарственных средств на ее основе, а также о составе препаратов, получаемых из морской воды или морской соли. Систематизированы данные по использованию морской воды для получения лекарственных препаратов в различных лекарственных формах: каплях, спреях, аэрозолях. Выявлены качественные и количественные отличия по содержанию основных катионов и анионов в составе лекарственных препаратов. Проведен анализ данных по использованию различных химических и физико-химических методов для качественной и количественной характеристик препаратов. В результате проведенного исследования сделан вывод о целесообразности унификации методов оценки качества лекарственных средств на основе морской воды.

Ключевые слова: лекарственные средства; вода морская; химический состав; анализ катионов и анионов; стандартизация

Для цитирования: Терёшина НС, Лякина МН, Наумова ОА. Лекарственные средства на основе морской воды: особенности технологии и стандартизации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):228–235. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-228-235>

* **Контактное лицо:** Терёшина Наталья Сергеевна; tereshina@expmed.ru

Sea Water-Based Medicines: Manufacturing Technology and Standardisation

N. S. Teryoshina*, M. N. Lyakina, O. A. Naumova

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

Abstract. Sea water and sea salt obtained from it are widely used as substances in the production of medicinal products. Complex chemical composition of sea water which contains various salts, calls for the development of a common quality standard for sea water-based medicines. The aim of the study was to analyse and summarise available data on the sources of sea water-based medicines, and on the current test methods, as well as to develop a unified approach to quality control. The paper summarises information on the use of sea water for medical purposes. It presents comparative data on the chemical composition of sea water obtained from different sources, manufacturing technologies of sea water-based medicines, and composition of medicines produced from sea water or sea salt. The paper summarises data on the use of sea water for the production of various dosage forms: drops, sprays, aerosols. The study revealed qualitative and quantitative differences in the content of major cations and anions in drug products. The authors analysed the use of various chemical and physico-chemical test methods for qualitative and quantitative characterisation of medicines. It was concluded that there is a need to harmonise quality control methods for sea water-based medicines.

Key words: medicinal products; sea water; chemical composition; cation and anion analysis; standardisation

For citation: Teryoshina NS, Lyakina MN, Naumova OA. Sea water-based medicines: manufacturing technology and standardisation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):228–235. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-228-235>

* **Corresponding author:** Natalia S. Teryoshina; tereshina@expmed.ru

Морская вода широко используется в лечебных целях. В качестве лечебных процедур еще в Древней Греции использовались купания в морской воде, а с XVIII века и прием морской воды внутрь [1, 2]. В настоящее время доказано, что препараты морской воды, в частности, предназначенные для приема внутрь, успешно применяются для стимуляции иммунитета, нормализации кишечной флоры, лечения аллергии, легочных и других заболеваний [3], также активно развивается во всем мире лечебное купание в морской воде — талассотерапия [4]. Морская вода, применяемая в качестве лекарственного средства, оказывает многостороннее действие при лечении заболеваний носа, в том числе улучшает физиологическое состояние слизистой. Химические элементы, входящие в состав препаратов, оказывают противовоспалительное воздействие, при этом улучшается состояние эпителия, стимулируются процессы восстановления, что вызывает повышение сопротивляемости слизистой оболочки к проникновению бактерий и вирусов [2, 5–7].

Морская вода и получаемая из нее морская соль используются в качестве субстанций для получения лекарственных препаратов для медицинского применения, а также в косметологии. В связи с тем что морская вода представляет собой раствор различных солей и имеет сложный состав, существует необходимость разработки единого стандарта качества на указанные лекарственные средства. Качество лекарственных препаратов на основе морской воды во многом зависит от природного источника получения самой субстанции.

Цель работы — анализ и обобщение данных литературы об источниках получения и современных методах анализа лекарственных средств на основе морской воды, а также разработка унифицированного подхода к оценке их качества.

Было установлено, что воды океанов имеют достаточно однородный состав, в то время как состав воды морей существенно различается [8, 9]. Вода морей и океанов содержит в своем составе в основном сумму солянокислых, сернокислых, гидрокарбонатных, бромидных солей натрия, калия, кальция, магния, среди которых преобладает натрия хлорид. На рисунке 1 представлен ионно-солевой состав океанической воды [10, 11]. На рисунке 2 приведены сравнительные данные минерализации и плотности воды морей. Плотность морской воды в различных морях достаточно постоянна и отличается незначительно, при этом степень минерализации имеет отличия. Наиболее минерализованной является вода Красного моря, наименее минерализованными — воды Азовского и Черного морей [9, 12]. Современными физико-химическими методами анализа, в том числе атомно-адсорбционным, нейтронно-активационным,

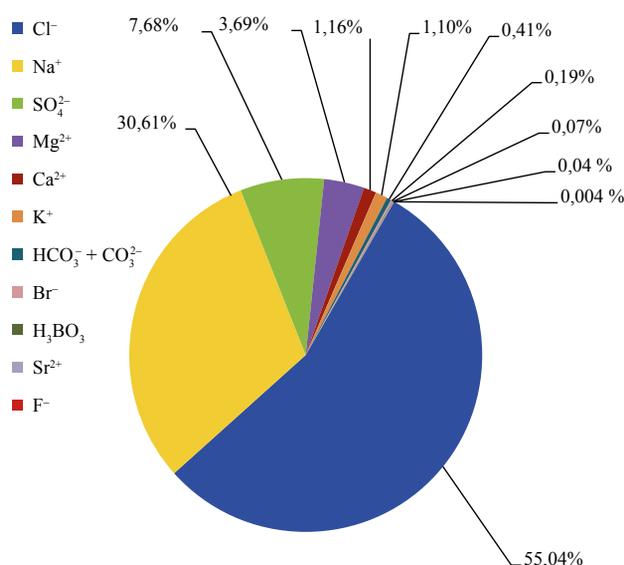


Рис. 1. Ионно-солевой состав океанической воды, в процентах (по данным J. Lyman и соавт. [11])

Fig. 1. Ion and salt composition of ocean water, % (adapted from J. Lyman et al. [11])

капиллярного зонного электрофореза, изотохофореза, рентгенофлуоресцентной спектроскопии, ионной хроматографии, катодной инверсионной вольтамперометрии, был более детально определен состав морской воды. Установлено наличие в морской воде анионов: NO₂⁻, NO₃⁻, Br⁻, I⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, F⁻, HPO₄²⁻, HCO₃⁻, CO₃²⁻, IO₃⁻, катионов: Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺, Na⁺, Pb²⁺, Mn²⁺, Mn³⁺. Кроме того, найдены элементы: Li, Sr, Co, Cd, Cu, Fe, Zn, As, Sb, Se, Cr, Pb, Ni, Tl, U, лантаноиды (La, Lu, Ce, Sm, Eu, Yb) [8, 10–25].

На рисунке 3 представлены сравнительные данные по количественному ионному составу воды 10 морей [12]. В монографии К. Grasshoff подробно рассмотрены процедуры отбора проб, определения солёности, pH, определения основных составляющих (органических и неорганических соединений), а также освещены основные методы анализа морской воды (электрохимические, рентгеновской флуоресценции, спектрофотометрии, плазменной эмиссионной спектрометрии, хроматографические) [26].

Одним из важных показателей качества морской воды является величина pH. Морская вода имеет слабощелочную реакцию, что обусловлено составом содержащихся в ней солей, которые образованы сильными основаниями (гидроксиды калия, натрия и др.) и слабыми кислотами (уксусная, фосфорная и др.). В Мировом океане величина pH воды составляет 7,6–8,4, в морях за счет изменчивости состава этот показатель имеет более широкий диапазон — от 7 до 8,6. pH морской воды определяется потенциометрическим методом¹ [27].

¹ РД 52.10.735-2018. Водородный показатель морских вод. Методика измерений потенциометрическим методом. М.; 2018.

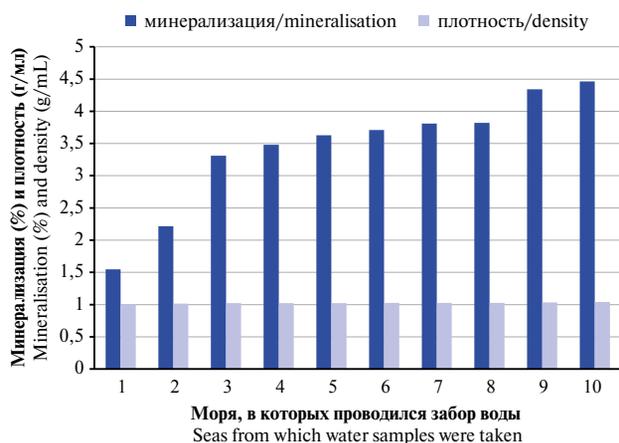


Рис. 2. Физико-химические показатели образцов воды морей (по данным Т.Н. Цыбуковой и соавт. [12]): Азовского (1); Черного (2); Баренцева (3); Адриатического (4); Японского (5); Южно-Китайского (6); Эгейского (7); Ионического (8); Средиземного (9); Красного (10)

Fig. 2. Physical and chemical properties of sea water samples (adapted from T.N. Tsybukova et al. [12]): Azov Sea (1); Black Sea (2); Barents Sea (3); Adriatic Sea (4); Sea of Japan (5); South China Sea (6); Aegean Sea (7); Ionian sea (8); Mediterranean Sea (9); Red Sea (10)

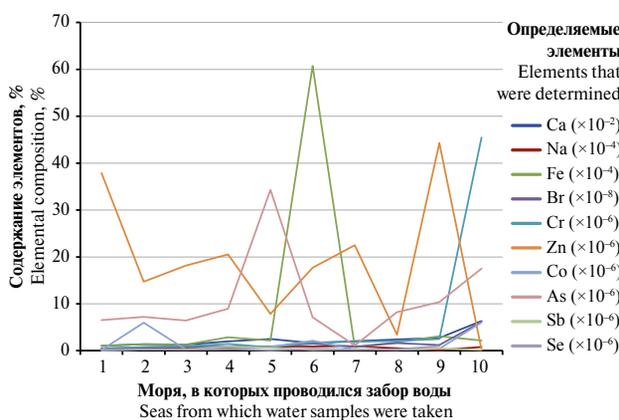


Рис. 3. Содержание элементов в воде некоторых морей (по данным Т.Н. Цыбуковой и соавт. [12]): Азовского (1); Черного (2); Баренцева (3); Адриатического (4); Японского (5); Южно-Китайского (6); Эгейского (7); Ионического (8); Средиземного (9); Красного (10)

Fig. 3. Elemental composition of water in some of the seas (adapted from T.N. Tsybukova et al. [12]): Azov Sea (1); Black Sea (2); Barents Sea (3); Adriatic Sea (4); Sea of Japan (5); South China Sea (6); Aegean Sea (7); Ionian sea (8); Mediterranean Sea (9); Red Sea (10)

Качество морской воды в Российской Федерации регламентируется несколькими нормативными документами, согласно которым определяются содержание элементов², общая щелочность воды³ и массовая концентрация карбонатов⁴. Качество морской воды в отношении токсичности определяется в соответствии с международными требованиями⁵.

Вода, предназначенная для получения лекарственных препаратов, не должна нарушать жизнедеятельность организма на клеточном и молекулярном уровнях и вызывать токсические эффекты. Имеются данные, что воды внутренних морей могут оказывать на организм токсическое воздействие, которое объясняется влиянием значительной антропогенной нагрузки и недостаточным водообменом с Мировым океаном. В связи с этим более предпочтительным является использование вод внешних морей [28].

Таким образом, при получении лекарственных препаратов необходимо учитывать географию источника получения исходной субстанции — морской воды или морской соли.

Лекарственные препараты на основе морской воды включены в Государственный реестр лекарственных средств⁶. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано 8 лекарственных препаратов.

Данные препараты по составу можно условно классифицировать в две группы: препараты, содержащие только морскую воду, и препараты, содержащие смесь морской и пресной воды⁷. «Морская вода» (группировочное наименование) в качестве фармацевтической субстанции используется рядом производителей для получения препаратов в лекарственных формах капель назальных, спреев назальных и аэрозолей назальных.

Технология получения препаратов из морской воды включает несколько этапов. С целью уменьшения антропогенных загрязнений забор морской воды для фармацевтических целей производится вдали от крупных населенных районов, сельскохозяйственных площадей и промышленных зон. Вода морей является сырьем для получения лекарственных препаратов. С целью получения фармацевтической субстанции после забора морская вода подвергается ступенчатой процедуре очистки и стерилизации. Если в качестве фармацевтической субстанции для производства лекарственных препаратов используется «Соль морская», ее получают упариванием морской воды. Затем последующим

² ГОСТ Р 57165-2016 (ИСО 11885:2007). Вода. Определение содержания элементов методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (Переиздание). М.: Стандартинформ; 2019.

³ ИРД 52.10.743-2010. Общая щелочность морской воды. Методика измерений титриметрическим методом. М.; 2010.

⁴ ГОСТ 31957-2012. Вода. Методы определения щелочности и массовой концентрации карбонатов и гидрокарбонатов. М.: Стандартинформ; 2019.

⁵ ГОСТ Р 53910-2010 (ИСО 10253:2006). Вода. Методы определения токсичности по замедлению роста морских одноклеточных водорослей *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin и *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. М.: Стандартинформ; 2011.

⁶ <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

⁷ О классификации препаратов, содержащих морскую воду. Решение Комиссии Таможенного союза от 23 сентября 2011 г. № 787.

Таблица 1. Лекарственные препараты на основе морской воды

Table 1. Sea water-based medicinal products

Торговое наименование / Производитель Trade name / Manufacturer	Используемая субстанция / Состав Substance / Composition
Аква Марис® Стронг, спрей назальный / АО «Ядран Галенски Лабораторий», Хорватия Aqua Maris Forte, nasal spray / Jadran Galenski Laboratories SA, Croatia	Стерильный гипертонический раствор воды Адриатического моря — 100% Sterile hypertonic solution of Adriatic sea water, 100%
Флуимарин, спрей назальный / Замбон С.п.А., Италия Fluimarin, nasal spray / Zambon S. p. A., Italy	Вода морская — 290 мл; вода для инъекций до 1000 мл Sea water, 290 mL; water for injection, up to 1000 mL
Физиомер®, спрей назальный для детей / Лаборатория де ля Мер, Франция Physiomer, nasal spray for children / Laboratoire de la MER, France	Стерильная изотоническая морская вода — 100% Sterile isotonic sea water, 100%
Физиомер®, спрей назальный / Лаборатория де ля Мер, Франция Physiomer, nasal spray / Laboratoire de la MER, France	Стерильная изотоническая морская вода — 100% Sterile isotonic sea water, 100%
Маример, аэрозоль назальный / Лаборатория Жильбер, Франция Marimer, nasal spray / Laboratoire de la MER, France	Стерильный изотонический раствор морской воды — 31,82 мл; вода очищенная до 100 мл Sterile isotonic sea water solution, 31.82 mL; purified water, up to 100 mL
Маример, капли назальные / Лаборатория Жильбер, Франция Marimer, nasal drops / Laboratoire de la MER, France	Стерильный изотонический раствор морской воды — 31,82 мл; вода очищенная до 100 мл Sterile isotonic sea water solution, 31.82 mL; purified water, up to 100 mL
Мореназал, капли назальные / ОАО «Синтез», Россия Morenazal, nasal drops / Sintez OJSC	Соль морская (в пересчете на сухое вещество) — 1,08 г; вода для инъекций до 100 мл Sea salt (on the dries basis), 1.08 g; water for injection, up to 100 mL
Сиалор® аква, капли назальные / АО «ПФК Обновление», Россия Sialor Aqua, nasal drops / AO PFK Obnovlenye, Russia	Морская вода, субстанция-раствор — 5 мл; вода очищенная до 100 мл Sea water substance, solution, 5 mL; purified water, up to 100 mL

разбавлением субстанции «Соль морская» водой для инъекций получают субстанцию-раствор «Вода морская». Все фармацевтические субстанции морской воды, будь то природная «Морская вода», «Соль морская» или «Вода морская», подлежат обязательному контролю качества согласно соответствующим нормативным документам. Перечисленные выше фармацевтические субстанции подлежат дальнейшим технологическим операциям для получения лекарственных препаратов в соответствующей лекарственной форме.

Ряд зарубежных производителей используют природную морскую воду, ее смеси с водой очищенной или водой для инъекций; отечественные производители используют в качестве субстанции «Соль морская» (субстанция-порошок), а также получаемую на ее основе субстанцию «Вода морская» (субстанция-раствор) (табл. 1)⁸ [29].

Все зарегистрированные в Российской Федерации лекарственные препараты, в которых основным компонентом является морская вода или морская соль, предназначены для использования в оториноларингологии и относятся к фармакологической группе органотропные средства → респираторные средства → антиконгестанты.

Как правило, все назальные лекарственные формы, представляющие собой водные растворы, в том числе капли, аэрозоли и спреи, должны быть

изотоничны. Однако лекарственные препараты на основе морской воды в зависимости от количества растворенных солей могут представлять собой растворы двух видов: изотонический или гипертонический. Изотонический раствор имеет концентрацию солей, близкую по составу к жидкостям организма, гипертонический раствор отличается более высокой концентрацией.

Отличия качественного и количественного состава препаратов, производимых с использованием морской воды из разных источников, представлены в таблице 2. Показано, что качество 7 из 8 препаратов оценивают по содержанию катионов натрия, кальция и магния, из анионов все производители за исключением одного нормируют содержание хлоридов, кроме того, в отдельных случаях нормируются бромиды, сульфаты и гидрокарбонаты.

Для оценки качества препаратов из морской воды / морской соли, зарегистрированных в России, используется ряд химических и физико-химических методов (табл. 3). Эти же методы применяются для анализа исходных субстанций. В некоторых случаях определение подлинности отдельных ионов проводят одновременно с их количественным определением. Например, это возможно при использовании таких методов, как атомно-эмиссионная спектроскопия и атомно-абсорбционная спектроскопия, которые можно рассматривать как наиболее

⁸ <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

Таблица 2. Содержание отдельных катионов и анионов в препаратах на основе морской воды

Table 2. The content of individual cations and anions in sea water-based medicines

Название препарата Product	Нормируемое содержание ионов, мг/мл Ion content according to the specification, mg/mL							
	натрий sodium	кальций calcium	магний magnesium	калий potassium	хлориды chlorides	суль- фаты sulfates	бромиды bromides	гидрокар- бонаты hydrocar- bonates
Аква Марис® Стронг, спрей назальный Aqua Maris® Forte, nasal spray	не менее 7,5 not less than 7.5	не менее 0,25 not less than 0.25	не менее 1,00 not less than 1.00	не менее 0,20 not less than 0.20	не менее 16,50 not less than 16.50	не менее 1,80 not less than 1.80	не менее 0,04 not less than 0.04	не менее 0,10 not less than 0.10
Флуимарин, спрей назальный Fluimarin, nasal spray	—	—	—	—	5,2–6,4	—	—	—
Физиомер®, спрей назальный Physiomer®, nasal spray	2,1–2,6	0,28–0,39	1,10–1,50	0,042– 0,059	5,7–6,0	—	—	—
Физиомер®, спрей назальный для детей Physiomer®, nasal spray for children	2,1–2,6	0,28–0,39	1,10–1,50	0,042– 0,059	5,7–6,0	—	—	—
Маример, аэрозоль назальный Marimer, nasal spray	не менее 2,5 not less than 2.5	не менее 0,08 not less than 0.08	не менее 0,35 not less than 0.35	—	не менее 5,0 not less than 5.0	—	—	—
Маример, капли назальные Marimer, nasal drops	не менее 2,5 not less than 2.5	не менее 0,08 not less than 0.08	не менее 0,35 not less than 0.35	—	не менее 5,0 not less than 5.0	не менее 5,0 not less than 5.0	—	—
Мореназал, капли назальные Morenazal, nasal drops	не менее 2,5 not less than 2.5	не менее 0,008 not less than 0.008	не менее 0,35 not less than 0.35	не менее 0,10 not less than 0.10	—	—	—	не менее 0,30 not less than 0.30
Сиалор® аква, капли назальные Sialor Aqua, nasal drops	не менее 2,5 not less than 2.5	не менее 0,008 not less than 0.008	не менее 0,35 not less than 0.35	не менее 0,10 not less than 0.10	не менее 3,5 not less than 3.5	не менее 1,5 not less than 1.5	—	не менее 0,030 not less than 0.030

Примечание. «—» — определение не предусмотрено.
Note. — determination not required.

перспективные и пригодные для унификации при анализе катионов в составе лекарственных средств на основе морской воды. Для анализа анионов в этих препаратах могут быть использованы титриметрические методы.

Одной из задач мониторинга морской воды, проводимого соответствующими службами, является определение тяжелых металлов. Наиболее токсичными металлами, поступающими в воду в результате антропогенного воздействия, являются свинец, хром, кадмий, медь, никель и кобальт. Также необходимо учитывать содержание железа и марганца при проведении анализа морской воды. Для определения металлов в морской воде ранее применялся спектрографический метод⁹. В последнее время для определения металлов получил распространение метод атомно-абсорбционной спектроскопии, который может использоваться

как для количественного определения основных компонентов морской воды, так и для определения примесей тяжелых металлов. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. определение тяжелых металлов в лекарственных средствах проводится с помощью качественных реакций. Степень окрашивания продуктов реакции оценивают по сравнению с окраской стандартного раствора свинец-иона¹⁰.

Для назальных лекарственных форм обязательным является определение микробиологической чистоты или стерильности. Большинство препаратов в лекарственных формах спреи и капли, указанных в таблице 1, оцениваются как стерильные, аэрозоли должны соответствовать по микробиологической чистоте требованиям, предъявляемым к препаратам категории 2.

⁹ Друзов ЮС, Родин АА. Анализ загрязненной воды. Практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2012.

¹⁰ ОФС.1.2.2.2.0012.15. Тяжелые металлы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

Таблица 3. Методы, применяемые для качественного и количественного анализа препаратов из морской воды / морской соли

Table 3. Test methods used for qualitative and quantitative analysis of sea water / sea salt-based medicines

Название метода анализа Test method	Количество препаратов, для которых предусмотрен анализ по показателям «Подлинность» / «Количественное определение» следующих ионов: Number of medicines for which Identification/Assay of the following ions is required:								
	натрий sodium	кальций calcium	магний magnesium	калий potassium	хлориды chlorides	сульфаты sulfates	бромиды bromides	гидрокарбонаты hydrocarbonates	свинец lead
Ионная хроматография Ion chromatography	1 / 1	1 / 1	1 / 1	1 / 1	1 / 1	1 / 1	1 / 1	—	—
Качественные реакции Qualitative reactions	5	4	1	—	5	7	—	1	2
Атомно-эмиссионная спектрометрия Atomic emission spectrometry	2 / —	1 / —	—	2 / 2	—	—	—	—	—
Атомно-абсорбционная спектрометрия Atomic absorption spectrometry	— / 2	— / 2	— / 2	— / 2	—	—	—	— / 2	—
Титрование по методу Мора Titration by Mohr's method	—	—	—	—	2 / 4	—	—	—	—
Титрование 0,01 М раствором серной кислоты Titration with 0.01 M sulfuric acid	—	—	—	—	—	—	—	— / 1	—
Комплексонометрическое титрование Complexometric titration	—	2 / 4	2 / 2	—	—	—	—	—	— / 1
Потенциометрическое титрование Potentiometric titration	—	—	—	—	— / 1	—	—	—	—

Примечание. «—» — определение не предусмотрено ни для одного препарата в рассматриваемой группе лекарственных средств.
Note. — determination not required for any of the products in this specific group.

Для жидких лекарственных форм обязательным показателем является определение pH, значение которого для препаратов на основе морской воды нормируется в диапазоне от 6,5 до 9,0 и для препаратов на основе морской соли — от 6,0 до 9,5.

Препараты, получаемые на основе фармацевтической субстанции «Морская вода», оцениваются по показателю «Плотность», который нормируется в диапазоне от 0,958 до 1,058 г/см³. Для препаратов, получаемых из соли морской, предусмотрено определение сухого остатка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотрены современные методы получения и анализа лекарственных средств на основе морской

воды, показана взаимосвязь показателей качества препаратов на основе морской воды с источником получения фармацевтической субстанции. Перечислены методы, используемые для оценки качества лекарственных средств на основе морской воды, показана целесообразность их унификации. На основании проведенного анализа установлено, что для подтверждения подлинности основных компонентов состава целесообразно использовать комплекс качественных реакций в сочетании с испытанием методом атомно-абсорбционной спектрометрии, который также может быть использован для количественного определения основных катионов наряду с титриметрическими методами определения основных анионов.

Вклад авторов. *Н. С. Терёшина* — обобщение данных литературы, анализ и систематизация данных, графическое оформление рукописи; *М. Н. Лякина* — редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *О. А. Наумова* — сбор данных литературы.

Authors' contributions. *Natalia S. Teryoshina*—preparing summary of literature data; analysis and systematisation of data; design and formatting of the paper; *Marina N. Lyakina*—editing of the text, approval of the final version of the paper for publication; *Olga A. Naumova*—collection of literature data.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

№ 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

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

- Sakula A. Doctor Brighton: Richard Russell and the sea water cure. *J Med Biogr.* 1995;3(1):30–3. <https://doi.org/10.1177/096777209500300105>
- Лучшева ЮВ, Изотова ГН. Применение препаратов морской воды в оториноларингологии. *Русский Медицинский Журнал.* 2011;(24):1483–7. [Luchsheva YuV, Izotova GN. *Application of seawater preparations in otorhinolaryngology. Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal.* 2011;(24):1483–7 (In Russ.)]
- Хохлов АН, Моргунова ГВ, Рындина ТС, Колл Ф. Предварительные исследования потенциального геропротектора «Quinton Marine Plasma» в экспериментах на культивируемых клетках. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология.* 2015;(1):9–13. [Khokhlov AN, Morgunova GV, Ryndina TS, Coll F. Pilot study of a potential geroprotector “Quinton Marine Plasma” in experiments on cultured cell. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16: Biologiya = Bulletin of Moscow University. Series 16: Biology.* 2015;(1):9–13 (In Russ.)]
- Герашченко ИН, Зиновьева ЛВ. Европейский опыт и развитие талассотерапии на черноморском побережье Краснодарского края. *Курорты. Сервис. Туризм.* 2019;(1):55–60. [Gerashchenko IN, Zinoveva LV. European experience and development of thalassotherapy on the Black Sea coast of Krasnodar Krai. *Kurorty. Servis. Turizm. = Resorts. Service. Tourism.* 2019;(1): 55–60 (In Russ.)]
- Кунельская НЛ, Лучшева ЮВ, Изотова ГН, Красникова ДИ. Терапевтические и профилактические возможности средств на основе морской воды. *Медицинский совет.* 2014;(3):61–3. [Kunel'skaya NL, Luchsheva YuV, Izotova GN, Krasnikova DI. Therapeutic and prevention potential of seawater medicines. *Meditsinskiy sovet = Medical Council.* 2014;(3):61–3 (In Russ.)]
- Крамарев СА, Выговская ОВ. Опыт применения препарата на основе гипертонического раствора морской воды в практике педиатра, семейного врача. Обзор литературы. *Современная педиатрия.* 2014;(2):15–9. [Kramarev SA, Vygovskaya OV. Experience of the use of preparation based on hypertonic saline seawater in the pediatrician practice, family doctor. Literature review. *Sovremennaya pediatriya = Modern Pediatrics.* 2014;(2):15–9 (In Russ.)]
- Рязанцев СВ. Средства на основе морской воды — первое десятилетие в России. Подведение предварительных итогов. *Российская оториноларингология.* 2015;(5):119–26. [Ryazantsev SV. Medicines based on seawater — first decade in Russia. Preliminary results. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian otorhinolaryngology.* 2015;(5):119–26 (In Russ.)]
- El-Manharawy S, Hafez A. Could seawater be under saturation and acidic? *Desalination.* 2004;165:43–69. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2004.06.005>
- Цыбукова ТН, Батырева ВА. Элементный состав морской воды, найденный нейтронно-активационным методом. *Международный научный институт «EDUCATIO».* 2015;9(16):50–4. [Tsybukova TN, Batyreva VA. The elemental composition of sea water founded using neutron. *Mezhdunarodny nauchny institut "EDUCATIO". = International Scientific Institute "EDUCATIO".* 2015;9(16):50–4 (In Russ.)]
- Толкачев АП. Особенности химического состава морской воды. *Шаг в науку.* 2019;(3):115–7. [Tolkachev AP. Features of the chemical composition of sea water. *Shag v nauku. = Step to Science.* 2019;(3):115–7 (In Russ.)]
- Lyman J, Fleming RH. Composition of sea water. *J Mar Res.* 1940;3:134–46.
- Цыбукова ТН, Тихонова ОК, Зейле ЛА. Содержание химических элементов в морских водах. В кн.: *Экологические, гуманитарные и спортивные аспекты подводной деятельности. Сборник материалов V Российской научно-практической конференции.* Томск: Издательство научно-технической литературы; 2019. С. 77–81. [Tsybukova TN, Tikhonova OK, Zeile LA. The content of chemical elements in marine waters. In: *Environmental, humanitarian and sporting aspects of underwater activities. Collection of materials of the V Russian scientific and practical conference.* Tomsk: Publishing house of scientific and technical literature; 2019. P. 77–81 (In Russ.)]
- Тимербаев АР, Фукushi К. Analysis of seawater and different highly saline natural waters by capillary zone electrophoresis. *Marine Chemistry.* 2003;82(3–4):221–38. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(03\)00071-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(03)00071-9)
- Трубачева ЛВ, Лоханина СЮ. Определение содержания ионов кальция (II) в водах различного типа с помощью металлоиндикаторов. *Вестник Удмуртского университета. Серия Физика и химия.* 2006;(8):211–22. [Trubacheva LV, Lohanina SYu. Determination of calcium ions (II) content in different types of water with metalloindicators. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Fizika i himiya = Bulletin of Udmurt University. Series Physics and Chemistry.* 2006;(8):211–22 (In Russ.)]
- Сухарев СН, Сухарева ОЮ, Мишанич НИ, Сливка МВ. Атомно-абсорбционное определение меди в морской воде и природных рассолах. *Химия и технология воды.* 2004;26(6):567–73. [Sukharev SN, Sukhareva OYu, Mishanich NI, Slivka MV. Atomic absorption determination of copper in seawater and natural brines. *Himiya i tekhnologiya vody = Chemistry and Technology of Water.* 2004;26(6):567–73 (In Russ.)]
- Yokota K, Fukushi K, Takeda S, Wakida S-I. Simultaneous determination of iodide and iodate in seawater by transient isotachopheresis-capillary zone electrophoresis with artificial seawater as the background electrolyte. *J Chromatogr A.* 2004;1035(1):145–50. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.02.041>
- Стащук МФ, Тищенко ПЯ, Бычков АС, Павлова ГЮ, Кропотов ВА, Грамм-Осипов ЛМ и др. *Химия морской воды и аутигенное минералообразование.* М.: Наука; 1989. [Stashchuk MF, Tishchenko PYa, Vyckhov AS, Pavlova GYu, Kropotov VA, Gramm-Osipov LM, et al. *Chemistry of seawater and authigenic mineral formation.* Moscow: Nauka; 1989 (In Russ.)]
- Соболев НА, Иванченко НЛ, Кожевников АЮ. Прямое определение свинца в морской воде методом атомно-абсорбционной спектроскопии высокого разрешения с использованием смешанного модификатора нитрат бария — фтороводородная кислота. *Журнал аналитической химии.* 2019;74(5):350–5. [Sobolev NA, Ivanchenko NL, Kozhevnikov AYu. Direct determination of lead in sea water by high-resolution atomic absorption spectroscopy using a mixed modifier barium nitrate–hydrofluoric acid. *Journal of Analytical Chemistry.* 2019;74(5):444–8]. <https://doi.org/10.1134/S1061934819020126>
- Малков АВ, Кожевников АЮ, Косяков ДС, Кошелева АЕ. Определение Ni, Co и Cu в морской воде методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии полного внешнего отражения. *Журнал аналитической химии.* 2017;72(6):521–9. [Malkov AV, Kozhevnikov AYu, Kosyakov DS, Kosheleva AE. Determination of Ni, Co and Cu in seawater by total external reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Journal*

- of Analytical Chemistry. 2017;72(6):608–16]. <https://doi.org/10.1134/S1061934817060107>
20. Kojuncu Y, Bundalevska JM, Ay U, Cundeva K, Stafilov T, Akçin G. Atomic absorption spectrometry determination of Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn, and Tl traces in seawater following flotation separation. *Sep Sci Technol.* 2004;39(11):2751–65. <https://doi.org/10.1081/SS-200026751>
21. Bolanča T, Cerjan-Stefanović Š, Regelja M, Štanfel D. Development of an ion chromatographic method for determination of inorganic cations in seawater used in the OTC pharmaceutical industry. *J Liq Chromatogr R T.* 2005;28(2):233–43. <https://doi.org/10.1081/JLC-200041309>
22. Okamoto H, Okamoto Y, Hirokawa T, Timerbaev A. Trace ion analysis of sea water by capillary electrophoresis: determination of strontium and lithium pre-concentrated by transient isotachopheresis. *Analyst.* 2003;128(12):1439–42. <https://doi.org/10.1039/B310345P>
23. van den Berg Constant MG. Chemical speciation of iron in seawater by cathodic stripping voltammetry with dihydroxynaphthalene. *Anal Chem.* 2006;78(1):156–63. <https://doi.org/10.1021/ac051441+>
24. Rong L, Takeuchi T. Determination of iodide in seawater and edible salt by microcolumn liquid chromatography with poly(ethylene glycol) stationary phase. *J Chromatogr A.* 2004;1042(1–2):131–5. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.032>
25. García-Fernández R, García-Alonso JI, Sanz-Medel A. Simultaneous determination of inorganic anions, calcium and magnesium by suppressed ion chromatography. *J Chromatogr A.* 2004;1033(1):127–33. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.01.024>
26. Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M. *Methods of Seawater Analysis. Third, Completely Revised and Extended Edition.* Weinheim: Wiley-VCH; 1999.
27. Шуваев АВ, Зарубина СА. Стандартизация измерений величин pH морской воды по ацетатному буферному раствору. *Вестник Сибирского государственного университета путей сообщения.* 2014;(30): 97–107. [Shuvaev AV, Zarubina SA. Standardization of pH measurements of sea water using acetate buffer solution. *Vestnik Sibirskogo gosudarstvennogo universiteta putey soobshcheniya = Siberian Transport University Bulletin.* 2014;(30):97–107 (In Russ.)]
28. Успенская ЕВ, Балышев АВ, Сыроешкин АВ. О биологической активности и супрамолекулярной структуре морских вод: проблемы использования природных вод в составе лекарственных средств. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.* 2008;(3):14–18. [Uspenskaya EV, Balyshev AV, Syroeshkin AV. About biological activity and the water structure of supramolecular level of sea and fresh waters: the problems of structure of natural waters for pharmaceutical preparations. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Medicina = Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series: Medicine.* 2008;(3):14–18 (In Russ.)]
29. Пшеничников ВГ. Назальное лекарственное средство «Мореназал». Патент Российской Федерации № 2369397; 2009. [Pshenichnikov VG. Nasal medicine "Morenazal". Patent of the Russian Federation No. 2369397; 2009 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Терёшина Наталья Сергеевна, д-р фарм. наук, старший научный сотрудник. *Natalia S. Teryoshina, Dr. Sci. (Pharm.), Senior Research Associate.*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8421-197X>

Лякина Марина Николаевна, д-р фарм. наук, старший научный сотрудник. *Marina N. Lyakina, Dr. Sci. (Pharm.), Senior Research Associate.*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8220-1054>

Наумова Ольга Анатольевна, канд. фарм. наук. *Olga A. Naumova, Cand. Sci. (Pharm.). ORCID:* <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>

Статья поступила 22.09.2020

После доработки 19.11.2020

Принята к печати 04.12.2020

Article was received 22 September 2020

Revised 19 November 2020

Accepted for publication 4 December 2020

Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов: клиническое применение и оценка эффективности терапии

А. Г. Солодовников^{1,2,*}, Е. Ю. Сорокина¹, Е. И. Морковин^{1,3,4}

¹ ООО «Статэндокс»,

ул. Белореченская, д. 34, к. 2, Екатеринбург, 620102, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Репина, д. 3, Екатеринбург, 620028, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

пл. Павших Борцов, д. 1, Волгоград, 400131, Российская Федерация

⁴ Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр», пл. Павших Борцов, д. 1, Волгоград, 400131, Российская Федерация

Резюме. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, или первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП), — орфанное заболевание, сопровождающееся тромбоцитопенией. Одним из новых и перспективных методов лечения ИТП в последние годы стало использование агонистов рецепторов тромбопоэтина (ТПО), сфера применения которых стремительно расширяется, что делает перспективной разработку не только оригинальных препаратов, но и воспроизведенных или биоподобных препаратов из данной группы. Цель работы — оценка роли агонистов рецепторов ТПО в терапии ИТП, методологических подходов к их разработке и приемлемости использования показателя количества тромбоцитов в качестве фармакодинамического маркера при проведении исследований биологической эквивалентности лекарственных средств из группы пептидных агонистов рецепторов ТПО у здоровых добровольцев. При изучении новых препаратов для лечения тромбоцитопении проводят сравнительные клинические исследования в параллельных группах длительностью около года. Стандартный подход к исследованиям биоэквивалентности, основанный на результатах сравнительных исследований фармакокинетики, может быть применен при регистрации воспроизведенных лекарственных средств, относящихся к непептидным агонистам ТПО, в то время как для пептидных агонистов ТПО актуальны специфические требования, предъявляемые к биоподобным препаратам. При этом орфанный статус ИТП, существенно ограничивающий возможный размер исследуемой популяции, не влияет на стратегию разработки и дизайн необходимых исследований. В отсутствие общепризнанных суррогатных биомаркеров эффективности, как правило, требуется подтверждение сопоставимой клинической эффективности биоподобного и референтного лекарственного препарата в рандомизированном параллельном, предпочтительно двойном слепом сравнительном исследовании. С другой стороны, подтверждение клинической сопоставимости биоподобного и референтного препаратов возможно в рамках сравнительных фармакодинамических исследований, если выбранный биомаркер является валидным и общепринятым суррогатным маркером и соотносится с клиническим исходом у пациентов. В обзоре показано, что так как количество тромбоцитов является ключевым критерием как диагностики, так и эффективности лечения заболеваний, сопровождающихся снижением тромбоцитов, уровень тромбоцитов может быть использован как фармакодинамический маркер в исследованиях биологической эквивалентности биоподобных лекарственных средств из группы пептидных агонистов рецепторов ТПО. Сделан вывод о том, что подобные исследования можно проводить с участием здоровых добровольцев, а не пациентов с соответствующим заболеванием, возможности по включению которых в клиническое исследование ограничены из-за орфанного статуса ИТП.

Ключевые слова: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура; тромбоцитопения; агонисты тромбопоэтиновых рецепторов; клиническая разработка; ромиплостим

Для цитирования: Солодовников АГ, Сорокина ЕЮ, Морковин ЕИ. Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов: клиническое применение и оценка эффективности терапии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):236–243. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-236-243>

* **Контактное лицо:** Солодовников Александр Геннадьевич; asolodovnikov@standdocs.com

Thrombopoietin Receptor Agonists: Clinical Use and Evaluation of Treatment Efficacy

A. G. Solodovnikov^{1,2,*}, E. Yu. Sorokina¹, E. I. Morkovin^{1,3,4}

¹ Standdocs LLC,

34/2 Belorechenskaya St., Ekaterinburg 620102, Russian Federation

² Ural State Medical University,

3 Repina St., Ekaterinburg 620028, Russian Federation

³ Volgograd State Medical University,

1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd 400131, Russian Federation

⁴ Volgograd Medical Research Centre,

1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd 400131, Russian Federation

Abstract. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP), or primary immune thrombocytopenia, is an orphan disease associated with thrombocytopenia. One of the most recent and promising approaches to ITP treatment is the use of thrombopoietin receptor agonists (TPO-RA). The scope of TPO-RA use is expanding rapidly, which stimulates the development of both innovator and generic (or biosimilar) medicines. The aim of the paper was to assess TPO-RA role in ITP treatment, methodological approaches to TPO-RA development, and feasibility of using the platelet count as a pharmacodynamic marker in bioequivalence studies of peptide TPO-RAs in healthy volunteers. Clinical development of new medicines for the treatment of thrombocytopenia includes comparative, parallel-group trials lasting about a year. The standard approach to bioequivalence studies, which is based on the results of comparative pharmacokinetic studies, can be used in marketing authorisation applications for generic non-peptide TPO agonists, while peptide TPO agonists have to comply with specific requirements for biosimilar products. The orphan status of ITP does not affect the development strategy and study design, but it limits the number of patients that could be included into the study. In the absence of valid surrogate biomarkers of efficacy, demonstration of comparable clinical efficacy of the biosimilar and reference drug is usually required in a randomised, parallel, preferably double-blind comparative study. On the other hand, clinical comparability of the biosimilar and reference drug can also be demonstrated in comparative pharmacodynamic studies, if the selected biomarker is a well-established and valid surrogate marker which correlates with patient clinical outcome. Platelet count is a key parameter in both diagnosis of diseases associated with low platelet levels and assessment of treatment efficacy. Therefore, it can be used as a pharmacodynamic marker in bioequivalence studies of biosimilar peptide TPO-RAs. It was concluded that such studies could be performed in healthy volunteers, and not in patients, whose participation in clinical trials is limited due to the orphan status of ITP.

Key words: idiopathic thrombocytopenic purpura; thrombocytopenia; thrombopoietin receptor agonists; clinical development; romiplostim

For citation: Solodovnikov AG, Sorokina EYu, Morkovin EI. Thrombopoietin receptor agonists: clinical use and evaluation of treatment efficacy. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):236–243. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-236-243>

* **Corresponding author:** Alexander Solodovnikov; asolodovnikov@statandocs.com

Тромбоцитопения представляет собой снижение содержания тромбоцитов в крови до уровня менее $150 \times 10^9/\text{л}$. По степени выраженности традиционно выделяют легкую ($(100-150) \times 10^9/\text{л}$), средней степени тяжести ($(50-99) \times 10^9/\text{л}$) и тяжелую (менее $50 \times 10^9/\text{л}$) тромбоцитопению [1]. Причинами тромбоцитопении могут быть снижение продукции тромбоцитов в костном мозге, усиленное их разрушение, секвестрация в селезенке и гемодилюция [2]. Распространенность тромбоцитопении в клинической практике достаточно высока. В частности, данный симптом отмечают у 26% пациентов, получающих интенсивную терапию в реанимационных отделениях, и у 11,6% беременных [1, 3]. По мере снижения количества тромбоцитов у пациентов повышается риск кровотечений. Наиболее сильная корреляция между риском кровотечений и числом тромбоцитов определяется при снижении количества последних ниже $10 \times 10^9/\text{л}$ [4]. При содержании тромбоцитов $(10-30) \times 10^9/\text{л}$ у пациентов возникают кровотечения при незначительных травмах, а снижение до уровня менее $5 \times 10^9/\text{л}$ может приводить к спонтанным кровотечениям [5].

Одним из заболеваний, сопровождающихся тромбоцитопенией, является идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, или первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП), входящая в перечень редких (орфанных) заболеваний¹. Согласно А.Л. Меликян и соавт., заболеваемость ИТП в отдельных регионах России составляет от 1,4 до 4,2 на 100 тысяч взрослого населения в год [6]. Ключевым критерием для диагностики заболевания признана тромбоцитопения (уровень

тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$), однако терапевтические подходы к пациентам с ИТП, описанные в рекомендациях, разработанных Национальным гематологическим обществом², нацелены на то, чтобы поддерживать содержание тромбоцитов на «безопасном» уровне (не менее $50 \times 10^9/\text{л}$), достаточном для купирования геморрагического синдрома. В случаях, когда количество тромбоцитов составляет $(30-50) \times 10^9/\text{л}$, лечение проводят только при наличии геморрагических проявлений, в то время как более низкий уровень тромбоцитов требует проведения патогенетической терапии. Выбор конкретных линий терапии ИТП зависит не только от количества тромбоцитов и наличия геморрагического синдрома, но и от ряда индивидуальных факторов: возраста больного, длительности заболевания, факторов риска (наличия артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки). Основные способы патогенетической терапии ИТП включают применение кортикостероидов, внутривенное введение высоких доз иммуноглобулина G, спленэктомию, а также использование стимуляторов тромбопоэза — агонистов тромбопоэтиновых рецепторов (ТПО) [6, 7].

Препараты агонистов рецепторов ТПО, появившиеся сравнительно недавно, позволяют улучшить прогноз ИТП, поскольку их применение снижает необходимость в кортикостероидах и уменьшает потребность в спленэктомии, что увеличивает продолжительность и качество жизни пациентов с ИТП [6, 7]. Несмотря на возможные перспективы, широкому применению агонистов рецепторов ТПО может

¹ Перечень редких (орфанных) заболеваний. Министерство здравоохранения Российской Федерации. <https://minzdrav.gov.ru/documents/8048-perechen-redkih-orfannyh-zabolevaniy>

² Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018.

препятствовать их высокая стоимость, обусловленная необходимостью существенных финансовых вложений при разработке инновационных препаратов для лечения орфанных заболеваний. Таким образом становится актуальной разработка воспроизведенных антагонистов рецепторов ТПО, появление которых способствовало бы повышению доступности для пациентов современных методов терапии ИТП. Классические подходы, применяющиеся при разработке воспроизведенных лекарственных препаратов, основанные на сопоставлении фармакокинетических профилей воспроизведенного и референтного препаратов, неприменимы для биологических лекарственных препаратов, к которым относятся пептидные агонисты рецепторов ТПО, что требует использования подходов, основанных на подтверждении терапевтической (фармакодинамической) эквивалентности. Орфанный статус и сложности диагностики ИТП [8] ограничивают возможности включения в клинические исследования пациентов с данной патологией, что ведет к необходимости проведения подобных исследований с участием здоровых добровольцев.

Цель работы — оценка роли препаратов агонистов рецепторов ТПО в терапии ИТП, методологических подходов к их разработке и приемлемости использования показателя количества тромбоцитов в качестве фармакодинамического маркера при проведении исследований биоэквивалентности лекарственных средств из группы пептидных агонистов рецепторов ТПО у здоровых добровольцев.

РОЛЬ АГОНИСТОВ ТРОМБОПОЭТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ТЕРАПИИ ТРОМБОЦИТОПЕНИЙ

Поддержание уровня тромбоцитов может быть достигнуто терапевтическим или профилактическим способом [1]. Терапевтическое воздействие направлено на восполнение количества тромбоцитов при активном кровотечении. Эффективность трансфузии тромбоконцентрата, способной немедленно восполнить пул тромбоцитов, ограничена периодом полужизни тромбоцитов, который может существенно сокращаться при развитии рефрактерности к трансфузии [9]. Трансфузии тромбоконцентрата для лечения ИТП из-за риска аллоиммунизации можно применять лишь при массивном некупируемом кровотечении³. Поэтому схемы терапии ИТП, как правило, включают применение высоких доз иммуноглобулина G и спленэктомии, однако данные способы лечения используют при уровне тромбоцитов $(30-50) \times 10^9/\text{л}$ при наличии геморрагического синдрома или в случаях, когда данный показатель становится ниже $20 \times 10^9/\text{л}$ независимо от наличия геморрагий [6, 7].

Поскольку агонисты рецепторов ТПО начинают существенно повышать уровень тромбоцитов лишь через несколько дней после введения, при активном кровотечении их применение неэффективно [1]. В то же время именно применение агонистов рецепторов ТПО стало новой тенденцией в профилактическом подходе к лечению ИТП.

Рецепторы ТПО расположены на всех клетках мегакариоцитарного ростка, а также на небольшом количестве стволовых клеток крови [10]. В среднем на поверхности тромбоцита находится 56 ± 17 рецепторов с аффинностью к эндогенному ТПО 163 ± 31 пмоль/л [11]. Связывание ТПО с его рецептором активирует сигнальный каскад, реализуемый при участии Янус-киназы, передатчика сигнала и активатора транскрипции и митоген-активируемой протеинкиназы, что приводит к дифференцированию стволовых клеток крови по пути мегакариоцитарного ростка, росту (увеличению размера и плоидности) и предупреждению апоптоза мегакариоцитов (рис. 1). Таким образом, в конечном счете увеличивается количество тромбоцитов [12, 13].

После выделения молекулы эндогенного ТПО в 1994 г. различные исследовательские группы начали активно синтезировать экзогенные агонисты рецепторов ТПО, некоторые из которых были зарегистрированы в Российской Федерации (рис. 2). К основным преимуществам агонистов ТПО можно отнести благоприятный профиль безопасности препаратов и хорошую эффективность. Агонисты рецепторов ТПО первого поколения представляют собой рекомбинантные формы эндогенного ТПО: один из препаратов является точной копией эндогенного тромбопоэтина (Shenyang Sunshine, Китай), разработка другого препарата — пегилированного рекомбинантного ТПО (Amgen Inc., США) — началась в 1995 г., но была остановлена из-за формирования перекрестно реагирующих нейтрализующих антител к эндогенному ТПО и развития тяжелой амегакариоцитарной тромбоцитопении у добровольцев [14]. Затем появились препараты второго поколения, которые можно разделить на пептидные и непептидные соединения. Пептидные агонисты тромбопоэтиновых рецепторов отличаются меньшей, чем у эндогенного тромбопоэтина, длиной молекулы: в их структуру должен быть включен белок-носитель, обеспечивающий димеризацию. В настоящее время зарегистрирован лишь один пептидный агонист тромбопоэтиновых рецепторов — ромиплостим (США) [15]. Непептидные агонисты рецепторов ТПО представляют собой малые молекулы. Первым препаратом из данной группы, одобренным Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA), был элтромбопаг

³ Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018.

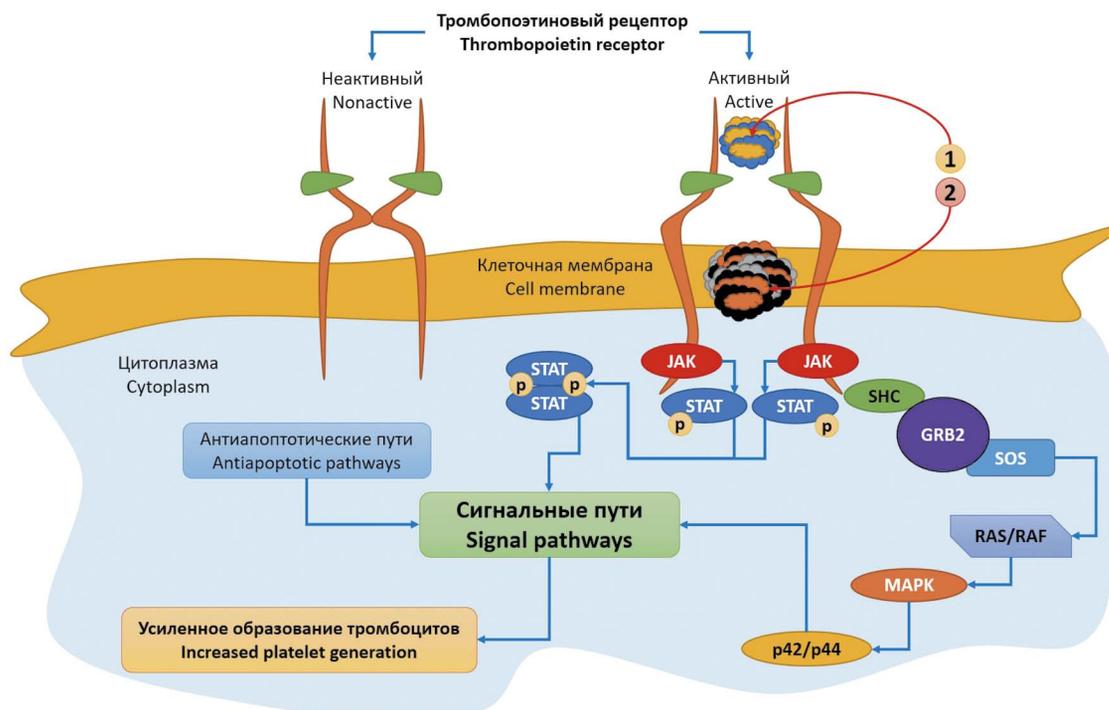


Рис. 1. Механизм действия тромбопоэтина и экзогенных агонистов тромбопоэтиновых рецепторов.

1 — тромбопоэтин и ромиплостим; 2 — элтромбопаг, аватромбопаг, лусутромбопаг; JAK — Янус-киназа; STAT — передатчик сигнала и активатор транскрипции; P — фосфорилирование; SHC — киназа семейства Src; GRB2 — связанный с рецептором фактора роста белок 2; SOS — фактор обмена гуаниновых нуклеотидов; MAPK — митоген-активируемая протеинкиназа; RAS/RAF — компоненты сигнального пути, активирующего MAPK; p42/p44 — виды MAPK.

Fig. 1. Mechanism of action of thrombopoietin and exogenous thrombopoietin receptor agonists.

1—thrombopoietin and romiplostim; 2—eltrombopag, avatrombopag, lusutrombopag; JAK—Janus kinase; STAT—signal transducer and activator of transcription; P—phosphorylation; SHC—Src family kinase; GRB2—growth factor receptor-bound protein 2; SOS—guanine nucleotide exchange factor; MAPK—mitogen-activated protein kinase; RAS/RAF—components of the signal pathway that activates MAPK; p42/p44—types of MAPK.

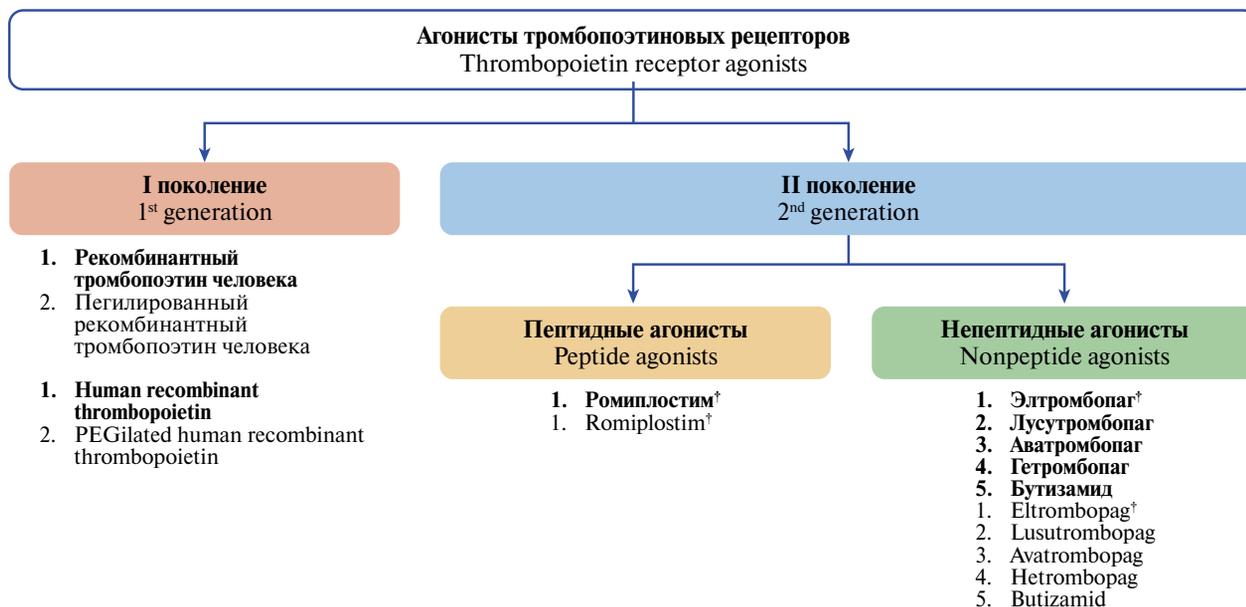


Рис. 2. Классификация агонистов тромбопоэтиновых рецепторов.

† — препараты, зарегистрированные на территории Российской Федерации.

Fig. 2. Classification of thrombopoietin receptor agonists.

† products registered in the Russian Federation.

(Великобритания, Швейцария), зарегистрированный в 2008 г. Два других — аватромбопаг (США) и лусутромбопаг (Япония) — были зарегистрированы в США в 2018 г.⁴

Фармакодинамические эффекты агонистов ТПО зависят от используемой дозы. Напротив, время достижения эффекта от нее не зависит, что обусловлено способностью лекарственных средств из данной группы связываться с рецептором ТПО мегакариоцитов: активация данного рецептора приводит к стимулированию тромбопоэза и увеличению количества тромбоцитов в крови⁵. В частности, у здоровых добровольцев (мужчины в возрасте 19–49 лет) однократное подкожное или внутривенное введение ромиплостима приводило к дозозависимому повышению уровня тромбоцитов, которое было наиболее существенным на 13–15 сут с момента введения исследуемого препарата [16].

Наиболее выраженный ответ отмечали у здоровых добровольцев, которым однократно подкожно вводили ромиплостим в дозе 2 мкг/кг, на 13 сут с момента введения; при этом уровень тромбоцитов повышался в 1,5 раза и более (от $(216 \pm 46) \times 10^9$ до $(532 \pm 153) \times 10^9$ /л). Повышение уровня тромбоцитов было кратковременным: к 28 сут от начала исследования содержание тромбоцитов в крови добровольцев из всех групп возвращалось к исходному уровню [16].

Аналогичным образом ромиплостим влияет на уровень тромбоцитов и при выраженной тромбоцитопении. Согласно Y. Shirasugi и соавт., характер изменения количества тромбоцитов у пациентов с ИТП (средняя длительность заболевания — 10,3 года) и исходным уровнем тромбоцитов менее 50×10^9 /л (в среднем — $11,8 \times 10^9$ /л), получавших ромиплостим в дозах 1, 3 или 6 мкг/кг подкожно 1 раз в неделю ($n = 4$ в каждой из групп), был дозозависим [17]. Максимальный прирост содержания тромбоцитов в периферической крови на фоне применения ромиплостима в низкой, средней или высокой дозе достиг $(44 \pm 24,6) \times 10^9$ /л, $(145,8 \pm 80,8) \times 10^9$ /л и $(374,3 \pm 202,1) \times 10^9$ /л. Время максимального ответа существенно не зависело от дозы и составляло 11,5–14 сут от начала терапии. Таким образом, как у здоровых добровольцев, так и у пациентов с ИТП ромиплостим дозозависимо стимулирует тромбопоэз, а время достижения максимального эффекта может напрямую зависеть от фармакокинетики действующего вещества.

Агонисты рецепторов ТПО в первую очередь предназначены для увеличения количества тромбо-

цитов у пациентов с персистирующей ИТП (в качестве препаратов второй линии). Данное показание к применению зарегистрировано для рекомбинантного тромбопоэтина, ромиплостима и элтромбопага⁶. Аватромбопаг успешно прошел исследование III фазы (NCT01438840)⁷, однако на данный момент ИТП в качестве показания для применения еще не зарегистрирована, а лусутромбопаг завершил только исследование II фазы у пациентов с ИТП. Другими показаниями для применения препаратов данной группы являются тромбоцитопения у пациентов с гепатитом С, которым показана терапия интерферонсодержащими схемами (показание для применения элтромбопага), апластическая анемия при отсутствии ответа на иммуносупрессивную терапию (показание для применения элтромбопага), тромбоцитопения вследствие хронической печеночной недостаточности перед инвазивными вмешательствами (показание для применения аватромбопага и лусутромбопага). На данный момент эффективность и безопасность препаратов из данной группы также изучают у пациентов с тромбоцитопенией при химиотерапии солидных опухолей (NCT03937154), при миелоаблативной химиотерапии (NCT03701217), после трансплантации костного мозга (NCT01980030, NCT03437603, NCT03902041).

Агонисты рецепторов ТПО не используют для нормализации уровня тромбоцитов, так как они потенциально могут увеличивать риск развития тромбозов. В клиническом исследовании применения элтромбопага у пациентов с печеночной недостаточностью на фоне цирроза печени риск портального тромбоза был выше в группе пациентов, получавших исследуемый препарат: отношение шансов составило 3,04 (95% доверительный интервал: 0,62–14,82), при этом у 5 из 6 пациентов с портальным тромбозом уровень тромбоцитов был выше 200×10^9 /л [18]. Пациенты с ИТП более склонны к венозным и артериальным тромбозам, поэтому рекомендуется контролировать количество тромбоцитов у этих пациентов на уровне не выше 200×10^9 /л. В то же время применение агонистов рецепторов ТПО не приводило к увеличению риска тромбозов у пациентов с ИТП [19, 20]. Более того, B. Wang и соавт., опубликовавшие результаты исследования фармакодинамики ромиплостима у 48 здоровых добровольцев, нежелательных явлений данного типа также не регистрировали [16].

При лечении ИТП дозы агонистов рецепторов ТПО титруют в соответствии с текущим уровнем тромбоцитов. Общая схема выглядит следующим

⁴ FDA Drug Approvals Databases. <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases>

⁵ Nplate — Product Information. European Medicines Agency. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nplate-epar-product-information_en.pdf

⁶ Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018.

⁷ Здесь и далее в скобках указаны идентификаторы исследований на сайте <https://clinicaltrials.gov/>

образом: при уровне тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ дозу препарата увеличивают, при $(50-200) \times 10^9/\text{л}$ поддерживают постоянную дозу, а при увеличении содержания тромбоцитов более $200 \times 10^9/\text{л}$ дозу агонистов рецепторов ТПО снижают. Эффективность терапии также оценивают исходя из уровня тромбоцитов у пациентов:

1) полный ответ: количество тромбоцитов $100 \times 10^9/\text{л}$ и более при двух измерениях с интервалом в 7 дней, кровотечения отсутствуют;

2) ответ на терапию: количество тромбоцитов $30 \times 10^9/\text{л}$ и более и двукратное увеличение количества тромбоцитов по сравнению с исходным уровнем, кровотечения отсутствуют;

3) отсутствие ответа: количество тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$ или менее чем двукратное увеличение количества тромбоцитов от исходного уровня или наличие кровотечений;

4) потеря полного ответа: количество тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$ при двух измерениях с интервалом в сутки и/или наличием кровотечений;

5) потеря ответа: количество тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$ или менее чем двукратное увеличение количества тромбоцитов от исходного уровня или наличие кровотечений. Уровень тромбоцитов должен быть измерен двукратно с минимальным интервалом в одни сутки [21].

При лечении препаратами агонистов рецепторов ТПО при определении эффективности терапии необходимо ориентироваться на пороговый уровень тромбоцитов, составляющий $50 \times 10^9/\text{л}$ [20, 22], превышение которого в ряде клинических исследований сопровождалось минимальным риском спонтанных кровотечений 2–4-й степени [4, 23, 24]. Напротив, при уровне тромбоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$ риск спонтанных кровотечений 2–4-й степени был наибольшим [25]. Аналогичные конечные точки указаны и в Руководстве Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) в качестве валидных конечных точек эффективности в клинических исследованиях агонистов ТПО⁸. Таким образом, уровень тромбоцитов вне зависимости от способов коррекции тромбоцитопении можно рассматривать в качестве надежного и общепризнанного фармакодинамического маркера эффективности, изменения которого соотносятся с исходом у пациентов в такой степени, что подтверждение аналогичного влияния на биомаркер будет обеспечивать аналогичное влияние на клинический исход.

⁸ European Medicines Agency. Guideline on the clinical development of medicinal products intended for the treatment of chronic primary immune thrombocytopenia. EMA/CHMP/153191/2013.

⁹ Там же.

¹⁰ Там же.

¹¹ Энглеит, порошок для приготовления раствора для подкожного введения (регистрационное удостоверение ЛСР-007739/09) https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=796c0c8a-23aa-4a73-abb4-bf9e0e94ae3b&t=

¹² Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

¹³ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

ВОЗМОЖНЫЕ ПОДХОДЫ К КЛИНИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКЕ АГОНИСТОВ ТРОМБОПОЭТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Согласно Руководству ЕМА⁹, при изучении новых препаратов для лечения тромбоцитопении проводят сравнительные исследования в параллельных группах длительностью около года (6 мес. терапии и до 6 мес. периода наблюдения). При этом возможна оценка длительности ремиссии в периоде наблюдения: в Руководстве ЕМА подобные конечные точки обозначены как потеря клинического ответа (снижение уровня тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$ или возникновение кровотечения) и потеря ответа (снижение уровня тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$, снижение их количества в 2 раза по сравнению с исходным или возникновение кровотечения)¹⁰.

Стандартный подход к исследованиям биоэквивалентности, основанный на результатах сравнительных исследований фармакокинетики, может быть применен для регистрации воспроизведенных лекарственных средств, относящихся к непептидным агонистам ТПО, в то время как для пептидных агонистов ТПО, например ромиплостима, применимыми становятся специфические требования, предъявляемые к биоподобным препаратам. Несмотря на то что ромиплостим предназначен для лечения хронической ИТП¹¹, орфанный статус данного заболевания по российскому законодательству не влияет на стратегию разработки, объем и дизайн необходимых исследований препарата¹². Согласно Правилам регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденным Решением Совета Евразийской экономической комиссии¹³, при регистрации орфанных препаратов необходимо обосновать причины, по которым невозможно предоставить полную информацию о результатах доклинических и клинических исследований, но руководства по их разработке не опубликованы.

При отсутствии валидных суррогатных биомаркеров эффективности, как правило, необходимо подтверждение сопоставимой клинической эффективности биоподобного и референтного лекарственного препарата в рандомизированном параллельном, предпочтительно двойном слепом сравнительном исследовании. Исследуемая популяция должна отражать зарегистрированное показание к применению референтного лекарственного препарата и быть чувствительной к выявлению потенциальных различий

между биоподобным и референтным лекарственным препаратом¹⁴.

Регистрационные исследования ромиплостима включали как минимум две субпопуляции (в зависимости от проведения спленэктомии в анамнезе) [20, 26, 27]. Согласно Руководству ЕМА¹⁵ и Национальным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у взрослых¹⁶ при стратификации нужно учитывать исходный уровень тромбоцитопении (менее $30 \times 10^9/\text{л}$ и $(30-50) \times 10^9/\text{л}$), сопутствующее лечение (стероиды, азатиоприн, даназол, циклоспорин, микофенолата мофетил), предыдущую терапию, а также проведение спленэктомии в анамнезе (то есть наличие рефрактерной ИТП). Помимо этого, необходима стратификация в соответствии с клинической формой ИТП: персистирующей (3–12 мес.), хронической (более 12 мес.) или рефрактерной (потеря клинического эффекта после спленэктомии).

Необходимый клинический ответ на применение препарата — поддержание уровня тромбоцитов не менее $50 \times 10^9/\text{л}$ ($(50-200) \times 10^9/\text{л}$). В соответствии с методологией исследований оригинального препарата первичная конечная точка (при длительности терапии 24 недель) представляла собой количество пациентов со стойким тромбоцитарным ответом ($(50-200) \times 10^9/\text{л}$) в течение 6 и более недель из последних 8 недель терапии. Данную конечную точку применяли как в отношении пациентов, перенесших спленэктомию, так и в отношении пациентов с сохраненной селезенкой [20].

С другой стороны, подтверждение клинической сопоставимости биоподобного и референтного препаратов возможно в рамках сравнительных фармакодинамических исследований, если выбранный биомаркер является общепринятым суррогатным маркером и соотносится с исходом терапии у пациентов¹⁷. Механизм действия ромиплостима основан на его способности связываться с рецептором ТПО мегакариоцитов. Действие на данный рецептор приводит к стимулированию тромбопоэза и увеличению количества тромбоцитов в крови¹⁸, поэтому количество тромбоцитов можно рассматривать в качестве надежного суррогатного биомаркера для стимуляторов тромбопоэза, что также отражено в Руководстве ЕМА по клиническому исследованию препаратов для лечения тромбоцитопении¹⁹. Следовательно,

при подтверждении эквивалентного влияния биоподобного и референтного препаратов на уровень тромбоцитов возможно сделать выводы об аналогичном влиянии препаратов на клинический исход заболевания. Таким образом, при разработке биоподобного препарата ромиплостима представляется возможным проведение рандомизированного сравнительного клинического исследования фармакодинамической эквивалентности в параллельных группах у здоровых добровольцев после однократного подкожного введения препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При любом способе коррекции тромбоцитопении уровень тромбоцитов представляет собой ключевой критерий как диагностики, так и эффективности лечения заболеваний (в частности, первичной иммунной тромбоцитопении), сопровождающихся снижением уровня тромбоцитов. В качестве надежного и общепризнанного фармакодинамического маркера эффективности препарата возможно рассматривать уровень тромбоцитов, изменение которого соотносится с исходом у пациентов в такой степени, что подтверждение влияния на биомаркер будет обеспечивать аналогичное влияние на клинический исход. Использование уровня тромбоцитов в качестве фармакодинамического маркера в исследованиях биоэквивалентности лекарственных препаратов из группы пептидных агонистов рецепторов тромбопоэтина удовлетворяет существующим регуляторным требованиям и позволяет проводить исследования данного типа с участием здоровых добровольцев. Это устраняет необходимость в длительных клинических исследованиях эффективности с участием пациентов, набор в которые может быть затруднен в связи с орфанным статусом первичной иммунной тромбоцитопении.

Вклад авторов. Все авторы внесли равный вклад в поиск литературы и написание данного обзора; **А. Г. Солодовников** — идея разработки темы и обоснование актуальности работы, научное редактирование статьи; **Е. Ю. Сорокина** — планирование работы и постановка задачи; **Е. И. Морковин** — оформление рукописи и иллюстративного материала.

Authors' contributions. All the authors made equal contributions to literature review and writing of this paper; **Aleksandr G. Solodovnikov**—elaboration of the study idea and justification of its relevance, scientific editing of the paper; **Ekaterina Yu. Sorokina**—planning of the study and formulation of tasks; **Evgeny I. Morkovin**—formatting of the paper and preparation of the illustrative material.

¹⁴ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

¹⁵ European Medicines Agency. Guideline on the clinical development of medicinal products intended for the treatment of chronic primary immune thrombocytopenia. EMA/CHMP/153191/2013.

¹⁶ Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018.

¹⁷ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

¹⁸ Nplate — Product Information. European Medicines Agency. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nplate-epar-product-information_en.pdf

¹⁹ European Medicines Agency. Guideline on the clinical development of medicinal products intended for the treatment of chronic primary immune thrombocytopenia. EMA/CHMP/153191/2013.

Благодарности. Работа выполнялась без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. This study was performed without any external funding.

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

- Williamson DR, Albert M, Heels-Ansdell D, Arnold DM, Lauzier F, Zarychanski R, et al. Thrombocytopenia in critically ill patients receiving thromboprophylaxis: frequency, risk factors, and outcomes. *Chest*. 2013;144(4):1207–15. <https://doi.org/10.1378/chest.13-0121>
- Smock KJ, Perkins SL. Thrombocytopenia: an update. *Int J Lab Hematol*. 2014;36(3):269–78. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12214>
- Gernsheimer T, James AH, Stasi R. How I treat thrombocytopenia in pregnancy. *Blood*. 2013;121(1):38–47. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-08-448944>
- Slichter S. Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. *Transfus Med Rev*. 2004;18(3):153–67. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2004.03.003>
- Gauer R, Braun MM. Thrombocytopenia. *Am Fam Physician*. 2012;85(6):612–22. PMID: 22534274
- Меликян АЛ, Егорова ЕК, Пустовая ЕИ, Колошейнова ТИ, Володичева ЕМ, Капорская ТС и др. Промежуточные результаты эпидемиологического исследования идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у взрослых в Российской Федерации. *Гематология и трансфузиология*. 2019;64(4):436–46. [Melikyan AL, Egorova EK, Pustovaya EI, Kolosheynova TI, Volodicheva EM, Kaporskaya TS, et al. Interim results of epidemiological study of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults in the Russian Federation: intermediate results. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2019;64(4):436–46 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-436-446>
- Neunert C, Terrell DR, Arnold DM, Buchanan G, Cines DB, Cooper N, et al. American Society of Hematology 2019 guidelines for immune thrombocytopenia. *Blood Adv*. 2019;3(23):3829–66. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000966>
- Меликян АЛ, Пустовая ЕИ, Егорова ЕК, Калинина МВ, Колошейнова ТИ, Суборцева ИН и др. Дифференциальная диагностика тромбоцитопений. *Онкогематология*. 2017;12(1):78–87. [Melikyan AL, Pustovaya EI, Egorova EK, Kalinina MV, Kolosheynova TI, et al. Differential diagnosis of thrombocytopenies. *Onkogematologiya = Oncohematology*. 2017;12(1):78–87 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2017-12-1-78-87>
- Рахмани АФ, Михайлова ЕА, Дубинкин ИВ, Калмыкова ОС, Галузяк ВС, Троицкая ВВ и др. Рефрактерность к трансфузиям донорских тромбоцитов у больных апластической анемией и гемобластомами. *Онкогематология*. 2018;13(2):62–72. [Rakhmani AF, Mikhaylova EA, Dubinkin IV, Kalmykova OS, Galuzyak VS, Troitskaya VV, et al. Refractoriness to donor platelets transfusion in patients with aplastic anemia and hemoblastosis. *Onkogematologiya = Oncohematology*. 2018;13(2):62–72 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-2-62-72>
- Debili N, Wendling F, Cosman D, Titeux M, Florindo C, Dusanter-Fourt I, et al. The Mpl receptor is expressed in the megakaryocytic lineage from late progenitors to platelets. *Blood*. 1995;85(2):391–401. PMID: 7529061
- Li J, Xia Y, Kuter DJ. Interaction of thrombopoietin with the platelet c-mpl receptor in plasma: binding, internalization, stability and pharmacokinetics. *Br J Haematol*. 1999;106(2):345–56. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1999.01571.x>
- Choi ES, Nichol JL, Hokom MM, Hornkohl AC, Hunt P. Platelets generated in vitro from proplatelet-displaying human megakaryocytes are functional. *Blood*. 1995;85(2):402–13. PMID: 7529062
- Zauli G, Vitale M, Falcieri E, Gibellini D, Bassini A, Celeghini C, et al. In vitro senescence and apoptotic cell death of human megakaryocytes. *Blood*. 1997;90(6):2234–43. PMID: 9310474
- Kuter DJ. Milestones in understanding platelet production: a historical overview. *Br J Haematol*. 2014;165(2):248–58. <https://doi.org/10.1111/bjh.12781>
- Cwirla SE, Balasubramanian P, Duffin DJ, Wagstrom CR, Gates CM, Singer SC, et al. Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potent as the natural cytokine. *Science*. 1997;276(5319):1696–9. <https://doi.org/10.1126/science.276.5319.1696>
- Wang B, Nichol J, Sullivan J. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of AMG 531, a novel thrombopoietin receptor ligand. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;76(6):628–38. <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2004.08.010>
- Shirasugi Y, Ando K, Hashino S, Nagasawa T, Kurata Y, Kishimoto Y, et al. A phase II, open-label, sequential-cohort, dose-escalation study of romiplostim in Japanese patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol*. 2009;90(2):157–65. <https://doi.org/10.1007/s12185-009-0361-y>
- Afdhal NH, Giannini EG, Tayyab G, Mohsin A, Lee J-W, Andriulli A, et al. Eltrombopag before procedures in patients with cirrhosis and thrombocytopenia. *N Engl J Med*. 2012;367(8):716–24. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1110709>
- Severinsen MT, Engebjerg MC, Farkas DK, Jensen AØ, Nørgaard M, Zhao S, et al. Risk of venous thromboembolism in patients with primary chronic immune thrombocytopenia: a Danish population-based cohort study. *Br J Haematol*. 2011;152(3):360–2. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08418.x>
- Kuter DJ, Bussel JB, Lyons RM, Pullarkat V, Gernsheimer TB, Senecal FM, et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet*. 2008;371(9610):395–403. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60203-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60203-2)
- Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L, Crowther MA, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(16):4190–207. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-302984>
- Wong RSM, Saleh MN, Khelif A, Salama A, Portella MSO, Burgess P, et al. Safety and efficacy of long-term treatment of chronic/persistent ITP with eltrombopag: final results of the EXTEND study. *Blood*. 2017;130(23):2527–36. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-748707>
- Stanworth SJ, Estcourt LJ, Powter G, Kahan BC, Dyer C, Choo L, et al. A no-prophylaxis platelet-transfusion strategy for hematologic cancers. *N Engl J Med*. 2013;368(19):1771–80. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1212772>
- Stanworth SJ, Dyer C, Choo L, Bakrania L, Copplestone A, Llewellyn C, et al. Do all patients with hematologic malignancies and severe thrombocytopenia need prophylactic platelet transfusions? Background, rationale, and design of a clinical trial (trial of platelet prophylaxis) to assess the effectiveness of prophylactic platelet transfusions. *Transfus Med Rev*. 2010;24(3):163–71. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2009.11.002>
- Wood EM, Hudson C, Estcourt L, Johnson R, Stanworth SJ. Risk factors for bleeding: a modelling analysis of the TOPPS randomized controlled trial of prophylactic platelet transfusion. *Blood*. 2014;124(21):1551. <https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.1551.1551>
- Bussel JB, Kuter DJ, Pullarkat V, Lyons RM, Guo M, Nichol JL. Safety and efficacy of long-term treatment with romiplostim in thrombocytopenic patients with chronic ITP. *Blood*. 2009;113(10):2161–71. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-150078>
- Cines DB, Wasser J, Rodeghiero F, Chong BH, Steurer M, Provan D, et al. Safety and efficacy of romiplostim in splenectomized and non-splenectomized patients with primary immune thrombocytopenia. *Haematologica*. 2017;102(8):1342–51. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.161968>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Солодовников Александр Геннадьевич, канд. мед. наук, доцент. *Alexander G. Solodovnikov*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4564-2168>

Сорокина Екатерина Юрьевна. *Ekaterina Yu. Sorokina*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3557-6224>

Морковин Евгений Игоревич, канд. мед. наук, доцент. *Evgeny I. Morkovin*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7119-3546>

Статья поступила 15.10.2020

После доработки 20.11.2020

Принята к печати 04.12.2020

Article was received 15 October 2020

Revised 20 November 2020

Accepted for publication 4 December 2020



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 метилendifосфоновою 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%. Продемонстрирована 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. *Ведомости 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)¹, 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 (^{99m}Tc) готовят в медицинских организациях путем введения раствора натрия пертехнетата ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$), который получают при элюировании генератора ⁹⁹Mo/^{99m}Tc, во флакон с лиофилизированной смесью восстановителя (обычно SnCl_2) и комплексообразующего 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 соединения². Восстановитель переводит ^{99m}Tc в необходимое окислительное состояние, а комплексообразующее 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): $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, 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)³. В настоящее время для определения РХЧ или РХП используют преимущественно тонкослойную хроматографию (ТСХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), бумажную хроматографию, электрофорез.

В соответствии с Федеральным законом⁴ 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 Федерации⁵, Евразийской экономической комиссией также принято соответствующее Руководство⁶. 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»⁷, 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 устанавливают относительное содержание примесей, которые образуются только в момент взаимодействия

¹ 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.

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

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

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

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

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

⁷ 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 скелета⁸. 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 США⁹ (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 фармакопее¹⁰ (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 методом¹¹. 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%¹².

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

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

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

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

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

¹² 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%¹³.

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 образцами¹⁴. 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.

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

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

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

¹⁶ Guide for the elaboration of monographs on radiopharmaceutical preparations. European Pharmacopoeia. EDQM; 2018.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оцениваемые характеристики. Перечень характеристик, которые рекомендуется оценивать при валидации методик количественного определения примесей согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15¹⁵ в сравнении с рекомендациями Руководства EDQM¹⁶, 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, рН 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

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

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

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

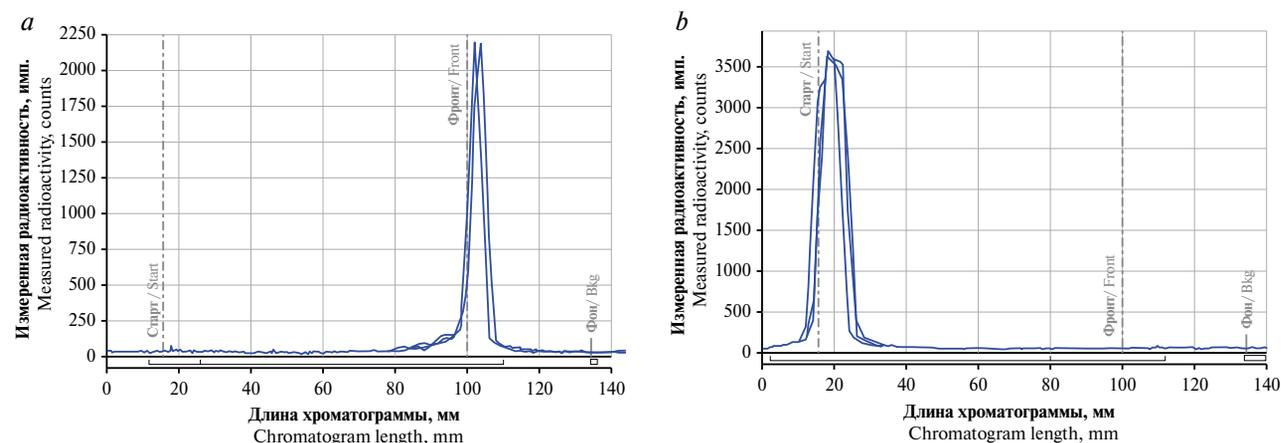


Рис. 1. Хроматограммы, полученные в системе силикагель–метилэтилкетон: (а) раствора $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ с объемной активностью 185 МБк/мл; (б) раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 185 МБк/мл, содержащего комплекс $^{99\text{m}}\text{Tc}$ с метилendisфосфоновой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

Fig. 1. The chromatograms obtained using silica gel and methyl ethyl ketone: (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

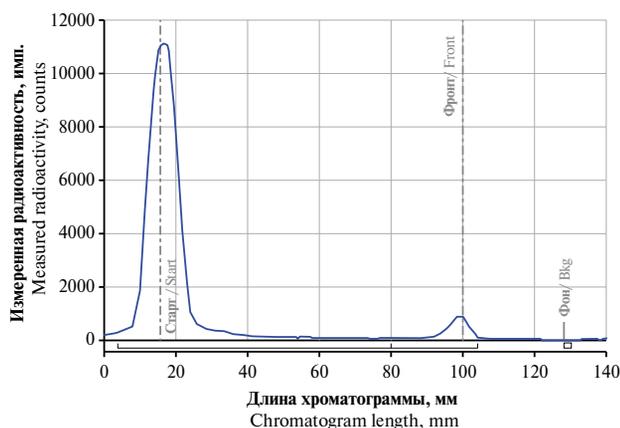


Рис. 2. Хроматограмма раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 186,6 МБк/мл, содержащего комплекс ^{99m}Tc с метилendisфосфоновой кислотой ($R_f = 0 \pm 0,05$), и примесь $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ($R_f = 0,95 \pm 0,05$) в системе силикагель–метилэтилкетон

Fig. 2. The chromatogram of the radiopharmaceutical formulation solution containing a complex of ^{99m}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

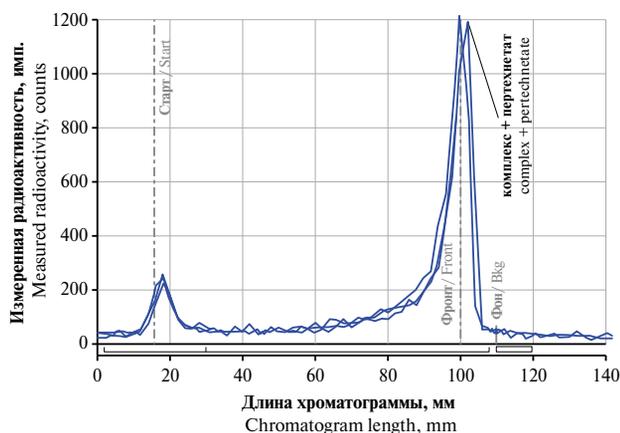


Рис. 4. Хроматограмма раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 186,6 МБк/мл, содержащего комплекс ^{99m}Tc с метилendisфосфоновой кислотой ($R_f = 0,95 \pm 0,05$), и примесь гидролизованного восстановленного технеция-99м ($R_f = 0 \pm 0,05$) в системе силикагель – 13,6% раствор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

Fig. 4. The chromatogram of the radiopharmaceutical formulation solution containing a complex of ^{99m}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

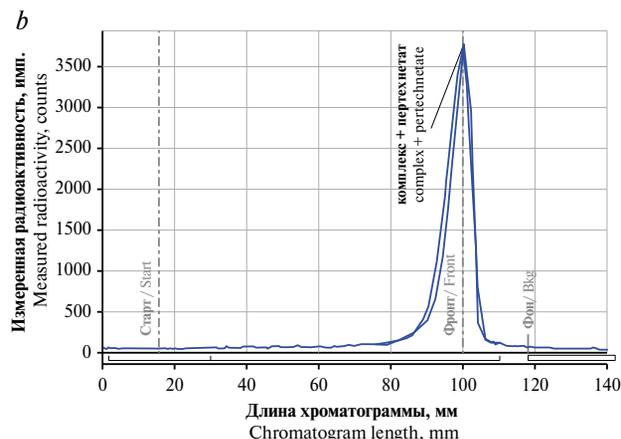
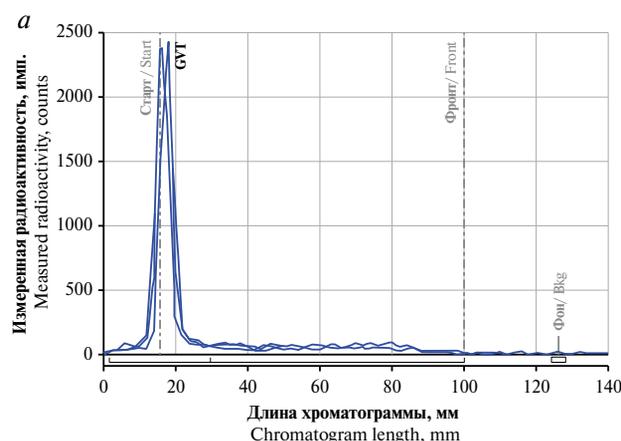


Рис. 3. Хроматограммы, полученные в хроматографической системе силикагель – 13,6% раствор ацетата натрия: (а) раствора гидролизованного восстановленного технеция-99м с объемной активностью 185 МБк/мл; (б) раствора радиофармацевтической композиции с объемной активностью 185 МБк/мл, содержащего комплекс ^{99m}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}Tc and medronic acid, with volume radioactivity of 185 MBq/mL

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

Для доказательства специфичности методики может использоваться добавление определенного количества примесей¹⁷. 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

¹⁷ 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 Characteristic	Методика определения содержа- ния $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ в радиофармацев- тической композиции Method for $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ determi- nation in a radiopharmaceutical formulation	Методика определения содержания гидро- лизованного восстановленного технеция-99м в радиофармацевтической композиции Method for hydrolysed reduced technetium-99m determination in a radio- pharmaceutical formulation
Среднее значение содержания примеси, % (для числа измерений $n = 9$) Mean impurity level, % ($n = 9$)	0,37	0,41
Стандартное отклонение, % Standard deviation, %	0,05	0,05
Стандартное отклонение среднего значения, % Standard deviation of the mean, %	0,017	0,017
Коэффициент вариации, % Coefficient of variation, %	4,5	4,1
Относительная погрешность, % 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 хроматогра-фии 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 0,95¹⁸. Выборки счита-ли однородными, так как контрольные критерии для идентификации грубых ошибок Q_i , пред-ставленные 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 представле-ны 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 счита-ем, что для подтверждения правильности, линей-ности, определения предела обнаружения и аналитической 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

¹⁸ 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 Measurement	Содержание $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (X), % Content (X), %	Размах варьирования (R), % Range of variation (R), %	$Q_i = \frac{ X_n - X_{n-1} }{R}$	Содержание гидролизованного восстановленного технеция-99м, % Hydrolysed reduced technetium-99m content, %	Размах варьирования (R), % 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 Characteristic	Методика определения содержания $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ в радиофармацевтической композиции 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 Method for hydrolysed reduced technetium-99m determination in a radiopharmaceutical formulation	
	аналитик 1* analyst 1*	аналитик 2** analyst 2**	аналитик 1* analyst 1*	аналитик 2** analyst 2**
Среднее значение содержания примеси, % (для числа измерений $n = 6$) Mean impurity level, % ($n = 6$)	0,38	0,69	1,03	0,51
Стандартное отклонение, % Standard deviation, %	0,021	0,042	0,037	0,032
Стандартное отклонение среднего значения, % Standard deviation of the mean, %	0,010	0,019	0,017	0,014
Коэффициент вариации, % 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 Volume activity of the radiopharmaceutical formulation, MBq/mL	Содержание примеси ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$), % Impurity content ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$), %	Объем нанесенной пробы, мкл Volume of the applied sample, μl	Активность нанесенной пробы, кБк 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 Na ^{99m} TcO ₄ content in the radiopharmaceutical formulation		Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 185 МБк/мл Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 185 MBq/mL			Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 1480 МБк/мл Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 1480 MBq/mL		
в процентах от номинального значения percentage of the nominal value	в процентах от активности радиофармацевтической композиции percentage of the radiopharmaceutical formulation's activity	нанесенная активность, кБк (опорное значение) radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)	среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3) mean measured activity, kBq (n = 3)	правильность, % (не более 10,5%) accuracy, % (not more than 10.5%)	нанесенная активность, кБк (опорное значение) radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)	среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3) mean measured activity, kBq (n = 3)	правильность, % (не более 10,5%) 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 HRT content in the radiopharmaceutical formulation		Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 185 МБк/мл Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 185 MBq/mL			Результаты измерений при объемной активности радиофармацевтической композиции 1480 МБк/мл Measurement results for the radiopharmaceutical formulation with volume activity of 1480 MBq/mL		
в процентах от номинального значения percentage of the nominal value	в процентах от активности радиофармацевтической композиции percentage of the radiopharmaceutical formulation's activity	нанесенная активность, кБк (опорное значение) radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)	среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3) mean measured activity, kBq (n = 3)	правильность, % (не более 9,5%) accuracy, % (not more than 9.5%)	нанесенная активность, кБк (опорное значение) radioactivity of the applied sample, kBq (reference value)	среднее значение измеренной активности, кБк (n = 3) mean measured activity, kBq (n = 3)	правильность, % (не более 9,5%) 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

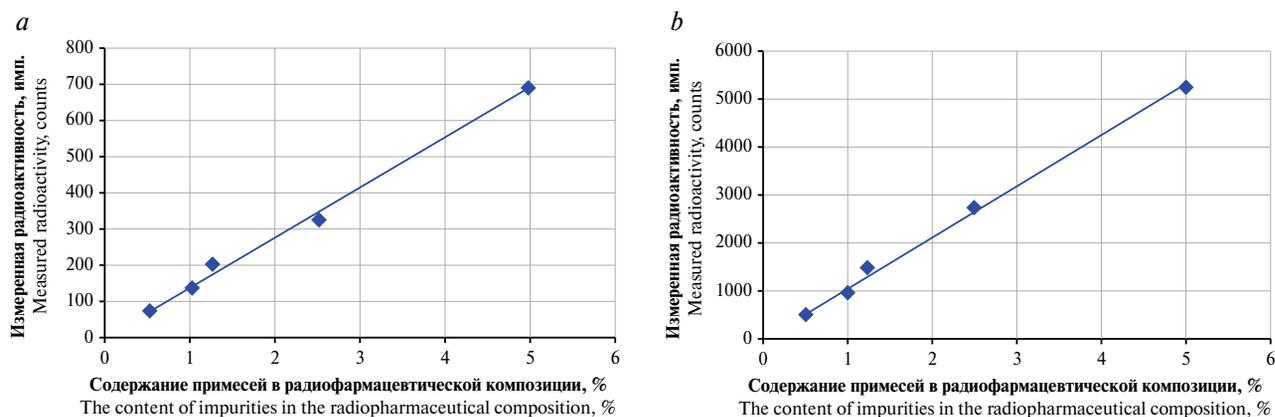


Рис. 5. Зависимость площади пика радиохимической примеси от ее процентного содержания в радиофармацевтической композиции с объемной активностью: (а) 185 МБк/мл (уравнение регрессии: $y = 137,1x$; $R^2 = 0,9952$); (б) 1480 МБк/мл (уравнение регрессии: $y = 1062,6x$; $R^2 = 0,9969$)

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 Руководством¹⁹ 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 подход²⁰. 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.

¹⁹ Guide for the elaboration of monographs on radiopharmaceutical preparations. EDQM; 2018.

²⁰ 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 Method	Наименование теста Test	Время выполнения теста, ч Test run time, h	Оценка эквивалентной дозы Assessment of equivalent doses	
			руки (кончики пальцев), мЗв hands (finger tips), mSv	хрусталики глаз, мкЗв lenses of the eye, µSv
Методика определения $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ Method for $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ determination	Специфичность Specificity	2	201,93	1006,17
	Повторяемость Repeatability	2	202,39	1008,16
	Внутрилабораторная прецизионность на 1 аналитика Intermediate precision (one analyst)	1,7	177,07	819,73
	Правильность - при минимальной активности - при максимальной активности Accuracy - at minimal radioactivity - at maximum radioactivity	2,75 2,75	108,1 540,39	644,75 2777,56
	Линейность - при минимальной активности - при максимальной активности Linearity - at minimal radioactivity - at maximum radioactivity	2,8 2,8	110,66 563,02	650,56 2835,07
	Суммарная эквивалентная доза Total equivalent dose	—	1903,56	9742,0
	Общее время, ч Total time, h	16,8	—	—
Методика определения ГВТ Method for HRT determination	Суммарная эквивалентная доза Total equivalent dose	—	1903,56	9742,0
	Общее время, ч Total time, h	16,8	—	—
Обе методики определения содержания РХП Both methods for RCIs determination	Суммарная эквивалентная доза Total equivalent dose	—	3807,12	19484
	Общее время, ч 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 мЗв²¹). Таким образом, выполнение всех тестов в полном объеме одним сотрудником с соблюдением установленных дозовых пределов по нормам радиационной безопасности²² 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.

²¹ 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).

²² 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 АААА-А18-118020990098-3).

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. АААА-А18-118020990098-3).

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. Reischl 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}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}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 ¹⁸F 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}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 Na¹⁸F. *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

Риск-ориентированный подход к оценке санитарного благополучия вивария и питомника, здоровья лабораторных животных и человека

Е. Д. Бондарева*, К. Е. Боровкова, М. Н. Макарова

Общество с ограниченной ответственностью «Институт доклинических исследований»,
Заводская ул., д. 3, к. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский р-н,
Ленинградская обл., 188663, Российская Федерация

Резюме. В статье рассмотрена система управления рисками, возникающими в ходе проведения доклинических исследований (риски, связанные со здоровьем человека и лабораторных животных, а также с санитарной чистотой помещений), как метод улучшения и контроля эффективности процессов и безопасности объектов, задействованных при проведении доклинических исследований. **Цель работы:** анализ эффективности использования системы оценки рисков для повышения качества услуг по исследованию безопасности лекарственных препаратов на этапе доклинических испытаний в рамках программ по уходу и использованию животных. **Материалы и методы:** для оценки санитарно-гигиенического благополучия помещений для содержания лабораторных животных, оценки благополучия самих животных и обслуживающего персонала в исследовании использован метод «Анализ видов и последствий потенциальных несоответствий» (Failure Mode Effect Analysis, FMEA). В качестве основных потенциальных несоответствий оценивали наличие микроорганизмов патогенной и условно-патогенной микрофлоры. **Результаты:** по результатам оценки рисков, проведенной в ходе мониторинга здоровья лабораторных животных, чистоты поверхностей и оценки здоровья персонала определена группа наиболее опасных патогенов, контроль за наличием которых должен быть усилен. В целях снижения рисков при проведении доклинических исследований предложен комплекс мероприятий: мониторинг среды содержания лабораторных животных и состояния здоровья животных, пересмотр комплекса лечебных и профилактических мероприятий, проводимых для лабораторных животных (включая подбор необходимых антибиотиков в зависимости от резистентности микроорганизмов), мониторинг состояния здоровья персонала, проведение мероприятий с целью повышения настороженности персонала в отношении собственного здоровья, недопущение на рабочее место сотрудников с признаками заболеваний, контроль отсутствия на работе сотрудников с признаками заболеваний, проведение регулярных медицинских осмотров персонала, контактирующего с лабораторными животными. **Выводы:** в рамках риск-ориентированного подхода выявлены наиболее опасные потенциальные несоответствия (микроорганизмы патогенной и условно-патогенной микрофлоры) и определены необходимые предупреждающие мероприятия, проводимые с целью контроля и управления возможными последствиями рисков.

Ключевые слова: виварий; санитарно-показательные микроорганизмы; санитарные требования; мониторинг здоровья животных; оценка рисков

Для цитирования: Бондарева ЕД, Боровкова КЕ, Макарова МН. Риск-ориентированный подход к оценке санитарного благополучия вивария и питомника, здоровья лабораторных животных и человека. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):257–266. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-257-266>

***Контактное лицо:** Бондарева Евгения Дмитриевна; bondareva.ed@doclinika.ru

Risk-Based Approach to the Assessment of Sanitary Safety of Vivariums and Breeding Facilities, and Health Status of Personnel and Laboratory Animals

E. D. Bondareva*, K. E. Borovkova, M. N. Makarova

Institute of Pre-Clinical Research Ltd,
3/245 Zavodskaya St., Kuzmolovsky, Vsevolozhsky District, Leningrad Oblast 188663, Russian Federation

Abstract. The paper discusses the system of managing risks arising during preclinical studies (risks for the health of personnel and laboratory animals, as well as risks associated with sanitation of premises) as a way to improve and control the efficiency of processes and the safety of facilities involved in preclinical studies. **The aim of the study** was to analyse the risk assessment system's efficiency for improvement of drug safety assessment during preclinical studies in the context of animal care and use programmes. **Materials and methods:** the Failure Mode Effect Analysis (FMEA) method was used to assess the sanitary and hygienic conditions in laboratory animal facilities, as well as health status and welfare of laboratory animals and the attending personnel. The study checked the presence of pathogenic and opportunistic microflora as the main potential inconsistencies. **Results:** the risk assessment performed during monitoring of laboratory animal health, monitoring of surface cleanliness, and assessment of personnel health, helped to establish a list of the most dangerous pathogens that require stricter control. In order to reduce risks arising during preclinical studies, the following set of measures was proposed: monitoring of the living environment and health of laboratory animals, revision of therapeutic and preventive measures for laboratory animals (including adjustment of antibiotic treatment depending on antimicrobial resistance of microorganisms), monitoring of the personnel health status, taking measures to enhance the personnel vigilance with respect to their own health, prohibition to work at the premises for employees showing symptoms, control of how the employees showing symptoms observe the prohibition to work at the premises, organisation of periodic medical examinations for personnel having contact with laboratory animals. **Conclusions:** the risk-based assessment helped to identify the most dangerous potential inconsistencies (pathogenic and opportunistic microflora) and the necessary preventive measures to control and manage potential risk consequences.

Key words: vivarium; sanitary indicator microorganisms; sanitary requirements; animal health monitoring; risk assessment

For citation: Bondareva ED, Borovkova KE, Makarova MN. Risk-based approach to the assessment of sanitary safety of vivariums and breeding facilities, and health status of personnel and laboratory animals. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):257–266. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-257-266>

*Corresponding author: Evgeniia D. Bondareva; bondareva.ed@doclinika.ru

Первостепенное значение для вивария и питомника лабораторных животных имеет качество животных-биомоделей, предоставляемых для исследований, определяемое комплексом мероприятий по уходу, лечению, контролю здоровья животных, а также по обеспечению микробиологической безопасности помещений содержания животных. Такие мероприятия проводятся в рамках разработанных на основании нормативно-правовых актов или рекомендательных документов программ мониторинга здоровья животных, микробиологической безопасности и др.

Поиск путей совершенствования методов контроля микробиологического статуса животных стимулирует постоянное развитие методов и практик, связанных с управлением виварием и питомником лабораторных животных. Для повышения качества, эффективности, результативности процессов, сокращения потребляемых для их реализации ресурсов служит система управления рисками. В настоящей работе для оценки микробиологического статуса животных, микробиологической безопасности поверхностей помещений содержания лабораторных животных, а также здоровья персонала, осуществляющего манипуляции с лабораторными животными, применен риск-ориентированный подход (система оценки рисков).

Цель работы — анализ эффективности использования системы оценки рисков для повышения качества услуг по исследованию безопасности лекарственных препаратов на этапе доклинических испытаний в рамках программ по уходу и использованию животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Процесс управления рисками состоит из нескольких этапов.

I. Идентификация риска — определение возможных опасных событий или потенциальных несоответствий.

II. Анализ и оценка риска — определение уровня риска, вероятности его возникновения, масштаба воздействия, причин и последствий, приемлемости или недопустимости. Выбор метода анализа и оценки риска зависит от конкретного изучаемого процесса и ресурсов организации [1].

III. Принятие решения по риску — принятие решения по снижению риска, его устранению или принятию, выбор корректирующих и предупреждающих мероприятий.

IV. Информирование о риске — обмен информацией о риске между лицами, принимающими решение, и всеми заинтересованными сотрудниками организации.

V. Мониторинг — регулярная проверка оцененных рисков, пересмотр рисков при изменениях процессов. Частота проверок определяется на основании уровня риска [1, 2].

Анализ рисков проводили по методу «Анализ видов и последствий потенциальных несоответствий» (Failure Mode Effect Analysis, FMEA)¹.

Применение риск-ориентированного подхода при обнаружении патогенных микроорганизмов при проведении мониторинга здоровья лабораторных животных и чистоты поверхностей и оценке здоровья персонала выполнено на примере вивария АО «НПО «Дом Фармации» (данные исследований за 2015–2019 гг.). По каждому риску по балльной системе оценивали тяжесть вреда последствий (S), вероятность возникновения опасности (O), вероятность выявления опасности (D) (табл. 1).

Категорию риска, определяющую характер предупреждающих мероприятий и срочность их проведения, характеризует приоритетное число риска (ПЧР), рассчитываемое как произведение значений трех составляющих риска ($S \times O \times D$) (табл. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка риска при мониторинге здоровья животных. Федерация европейских научных ассоциаций по лабораторным животным (Federation for Laboratory Animal Science Associations, FELASA) рекомендует проводить контроль микробиологического статуса животных по определенному перечню патогенов [3]. Рекомендации FELASA также содержат указания на кратность проведения исследований (ежеквартально или ежегодно). Следует отметить, что перечень контролируемых в реальном виварии патогенов может не полностью соответствовать перечню FELASA, а варьироваться в зависимости от эпизоотологической ситуации, условий содержания, питания, кормления, а также от перечня ранее выделенных у лабораторных животных патогенов в данном виварии [4].

Оценка рисков при проведении мониторинга здоровья лабораторных животных (табл. 3) проводилась с учетом рекомендаций FELASA (табл. 1).

По результатам анализа риска микроорганизмы *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Brucella canis* (потенциальные несоответствия)

¹ Guidance for industry: ICH Q9 Quality Risk Management. FDA-2005-D-0334. ICH; 2006.

Таблица 1. Идентификация рисков по методу «Анализ видов и последствий потенциальных несоответствий» (Failure Mode Effect Analysis, FMEA)

Table 1. Risk identification using the Failure Mode Effect Analysis (FMEA) method

Анализ риска Risk analysis	Составляющие риска Risk components		Значимость Significance	Баллы Score
Мониторинг здоровья животных Animal health monitoring	S	Опасность для здоровья животного (оценка опасности по вызываемому заболеванию) Health hazard for animals (assessment of hazards associated with the respective disease)	Катастрофическая Catastrophic	5
			Критическая Critical	4
			Серьезная Serious	3
			Низкая Low	2
			Незначительная Insignificant	1
	O	Частота обнаружения у животных Occurrence in animals	Очень часто Frequent	5
			Часто Likely	4
			Иногда Occasional	3
			Редко Seldom	2
			Практически невозможно Extremely unlikely	1
	D	Клинические признаки заболевания Clinical signs of the disease	Не выражены Not expressed	5
			Заметны на тяжелой стадии заболевания Noticeable in the severe stage	4
			Заметны при тщательном осмотре Noticeable at close examination	3
			Средневыраженные Moderate	2
			Ярко выраженные Expressed	1
Мониторинг чистоты поверхностей Surface cleanliness monitoring	S	Устойчивость микроорганизмов во внешней среде Microorganism stability in the environment	Особо устойчивые Extremely stable	5
			Высокоустойчивые Highly stable	4
			Достаточно устойчивые Relatively stable	3
			Невысокая устойчивость Poorly stable	2
			Неустойчивые Unstable	1
	O	Частота обнаружения микроорганизмов на поверхностях Microorganism occurrence on surfaces	Очень часто Frequent	5
			Часто Likely	4
			Иногда Occasional	3
			Редко Seldom	2
			Практически никогда Extremely unlikely	1

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

Анализ риска Risk analysis	Составляющие риска Risk components		Значимость Significance	Баллы Score
Мониторинг чистоты поверхностей Surface cleanliness monitoring	D	Устойчивость микроорганизмов к дезинфицирующим средствам Microorganism resistance to disinfectants	Особо устойчивые Extremely resistant	4
			Высокоустойчивые Highly resistant	3
			Устойчивые Resistant	2
			Малоустойчивые Not resistant	1
Здоровье персонала Personnel health	S	Опасность микроорганизмов для здоровья человека Microbial hazards for human health	Катастрофическая Catastrophic	5
			Критическая Critical	4
			Серьезная Serious	3
			Низкая Low	2
			Незначительная Insignificant	1
	O	Вероятность передачи микроорганизмов от животного человеку Likelihood of microorganism transmission from animals to humans	Критическая (3 и более пути передачи) Critical (3 or more transmission routes)	4
			Большая (2 пути передачи) High (2 transmission routes)	3
			Низкая (1 путь передачи) Low (1 transmission route)	2
			Не передается Nontransmissible	1
	D	Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам Antimicrobial susceptibility	Резистентные (МПК 128–512) Resistant (MIC 128–512)	5
			Слабочувствительные (МПК 16–64) Poorly sensitive (MIC 16–64)	4
			Среднечувствительные (МПК 0,25–8) Moderately sensitive (MIC 0.25–8)	3
			Высокочувствительные (МПК 0,064–0,125) Highly sensitive (MIC 0.064–0.125)	2
			Нерезистентные (МПК < 0,032) Nonresistant (MIC < 0,032)	1

Примечание. МПК — минимальная подавляющая концентрация, мкг/мл.
Note. MIC—minimal inhibitory concentration, µg/mL.

Таблица 2. Классификация риска по приоритетному числу риска

Table 2. Risk classification by risk priority number

Приоритетное число риска Risk Priority Number	Категория риска Risk category
<11	Несущественный риск Insignificant risk
11–19	Приемлемый риск Acceptable risk
20–40	Значительный риск Significant risk
>40	Неприемлемый риск Unacceptable risk

классифицированы как имеющие «значительный риск» — они наиболее опасны и часто встречаются у животных. При проведении лечебно-профилактических мероприятий, ежедневного клинического осмотра и мониторинга здоровья животных следует усилить контроль за обнаружением данных микроорганизмов, увеличить рекомендуемую нормативными документами частоту исследований и расширить выборку животных на этапе планирования мониторинга.

Оценка риска при мониторинге чистоты поверхностей. Документы, регламентирующие мероприятия, направленные на обеспечение благополучия

Таблица 3. Анализ риска при проведении мониторинга здоровья животных

Table 3. Risk analysis based on animal health monitoring

Микроорганизм (потенциальное несоответствие) Microorganism (potential inconsistency)	Балльная оценка Score			
	опасность для здо- ровья животного health hazard for animals	частота обнаружения у животных occurrence in animals	клинические признаки clinical signs	приоритетное число риска risk priority number
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	1	4	12
Группа бета-гемолитических стрептококков β-haemolytic streptococci	3	1	3	9
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	3	1	4	12
<i>Pasteurella multocida</i>	4	1	4	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	1	3	9
<i>Salmonella</i> spp.	4	2	4	32
<i>Clostridium perfringens</i>	3	1	3	9
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	3	1	3	9
<i>Escherichia coli</i>	3	3	4	36
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3	1	3	9
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	4	1	3	12
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	4	3	36
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	4	1	1	4
<i>Brucella canis</i>	5	1	5	25
<i>Brucella melitensis</i>	2	1	2	4
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	5	1	2	10
<i>Haemophilus parasuis</i>	5	1	2	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	4	1	3	12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	2	3	18
<i>Enterobacter</i> spp.	3	1	5	15
<i>Citrobacter rodentium</i>	3	1	4	12
<i>Helicobacter pylori</i>	3	1	3	9

животных, и регулирующие порядок содержания лабораторных животных в экспериментально-биологических клиниках (вивариях)², содержат требования к условиям содержания животных (микроклимат (температура, кратность воздухообмена, освещенность, влажность), оснащение и функционал помещений, способы содержания и размещения животных, видоспецифичные особенности содержания животных (например, учет потребности животных рыть норы и строить укрытия, активности в ночное время, социальных потребностей),

к обслуживающему персоналу, в том числе требования по соблюдению санитарных правил. К сожалению, действующие нормативные документы практически не содержат информации об уровне микробиологической чистоты помещений, не определены перечень санитарно-показательных микроорганизмов для вивариев и частота их оценки.

В некоторых международных документах акцентируется внимание на качестве проведения процедуры дезинфекции помещений и инвентаря по уходу за животными, а не на контроле результата: так,

² РСП 2.2.1.3218-14. Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. М.: Стандартинформ; 2019.

ГОСТ 33215-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. М.: Стандартинформ; 2019.

указывается, что необходимо чаще менять подстилку и средства обогащения среды животных³ [5].

Обсемененность поверхностей помещений, клеток содержания лабораторных животных, поилок, кормушек нежелательными микроорганизмами может сыграть отрицательную роль при получении экспериментальных данных при проведении доклинических исследований. При контроле уровня обсемененности в виварии можно руководствоваться положениями нормативных актов, регламентирующих деятельность медицинских организаций, например СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», в котором приведены нормативные значения общего числа микроорганизмов для воздуха помещений.

Требования к состоянию рабочих поверхностей, способы их дезинфекции и методы контроля качества дезинфекции регламентируются «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» №13-5-2/0525 (утв. 15.06.2002 г.) (далее — Правила) и приложениями к ним. Документ, регламентирующий контроль за микробной обсемененностью поверхностей, МУК 4.2.2942-11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях», предлагает проводить бактериологическое исследование объектов внешней среды на наличие стафилококков, бактерий группы кишечных палочек, сальмонелл, синегнойной палочки. Перечень микроорганизмов, данный в документе, не является исчерпывающим и может быть расширен по эпидемиологическим показаниям.

Наиболее актуально проводить контроль за уровнем микроорганизмов, значимых для вивария, а не для животноводческих хозяйств. Это наиболее часто встречающиеся, наиболее опасные и наиболее устойчивые к дезинфицирующим средствам патогены — микроорганизмы, выявление которых будет свидетельствовать об опасности контаминации.

Среди микроорганизмов выделяют несколько групп по устойчивости к дезинфицирующим средствам:

1-я группа (малоустойчивые) — колибактерии, сальмонеллы, лептоспиры, пастереллы, шигеллы (возбудители дизентерии), *Haemophilus pleuropneumoniae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* (возбудитель рожи свиней) и др.

2-я группа (устойчивые) — *Francisella tularensis* (возбудитель туляремии), стафилококки, стрептококки, *Pseudomonas aeruginosa*, грибы родов *Aspergillus*, *Candida*, *Trichophyton* и др.

3-я группа (высокоустойчивые) — *Mycobacterium tuberculosis* (возбудитель туберкулеза животных и птиц), *Mycobacterium paratuberculosis* (возбудитель паратуберкулеза) и др.

4-я группа (особоустойчивые) — *Bacillus anthracis* (возбудитель сибирской язвы), *Clostridium perfringens* (возбудитель анаэробной энтеротоксемии поросят) и др.

При контроле качества дезинфекции при возникновении различных очагов инфекций одним из наиболее показательных микроорганизмов считается стафилококк⁴ [6–8]. Отсутствие стафилококка не всегда свидетельствует о качественной дезинфекции, так как этот микроорганизм относят только ко 2-й группе устойчивости, тогда как есть и первая, более устойчивая группа [9, 10]. Окончательное решение о перечне санитарно-показательных микроорганизмов при контроле качества дезинфекции в виварии остается за организацией после соответствующей оценки риска.

Анализ риска при проведении мониторинга чистоты поверхностей проводили с учетом требований Правил (табл. 4). В качестве составляющих риска рассмотрены устойчивость микроорганизмов во внешней среде, частота обнаружения на поверхностях, устойчивость к дезинфицирующим средствам (табл. 1).

По результатам анализа риска при проведении мониторинга чистоты поверхностей выявлено, что наиболее опасны два потенциальных несоответствия — *Salmonella* spp. («приемлемый риск») и *Staphylococcus* spp. («значительный риск»). Отсутствие данных микроорганизмов в смывах с поверхностей свидетельствует об удовлетворительном качестве проведенной дезинфекции.

Оценка риска для здоровья персонала. При работе с лабораторными животными возникают риски для здоровья персонала: травмы, укусы, царапины, нанесенные животными, аллергические реакции на шерсть животных, слюну, мочу или на подстил. Аллергены могут попасть в организм человека при прямом контакте с животным, ингаляционным путем с пылевыми частицами [11]. При проведении манипуляций или при обращении с отходами от животных возможна передача антропозоонозных инфекций. Загрязнения в подстилке могут распространяться вместе с частицами пыли и попадать в организм человека при дыхании при выполнении различных манипуляций. В число патогенов животных входят вирусы (герпесвирусы, аденовирусы, парвовирусы, коронавирусы) и бактериальные организмы, такие как *Mycobacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp. и *Corynebacterium* spp. [2, 9, 12–14].

³ Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. U.S. Department of Health and Human Services. No. (CDC) 21-1112. 2009.

Guide to the care and use of experimental animals. Canadian Council on Animal Care. Ottawa; 1993.

⁴ «Правила проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» № 13-5-2/0525 от 15.06.2002 г.

Таблица 4. Анализ риска при проведении мониторинга чистоты поверхностей

Table 4. Risk analysis based on surface cleanliness monitoring

Микроорганизм (потенциальное несоответствие) Microorganism (potential inconsistency)	Устойчивость во внешней среде Stability in the environment	Устойчивость к дезин- фицирующим средствам Resistance to disinfectants	Частота обнаруже- ния на поверхностях Occurrence on surfaces	Приоритетное число риска Risk Priority Number
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	2	1	6
Группа бета-гемолитических стрептококков β-haemolytic streptococci	3	2	1	6
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	2	1	1	2
<i>Pasteurella multocida</i>	2	1	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2	1	8
<i>Salmonella</i> spp.	4	1	4	16
<i>Clostridium perfringens</i>	4	1	1	4
<i>Corynebacterium</i> spp.	3	2	2	12
<i>Escherichia coli</i>	3	1	4	12
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	1	1	2
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	2	1	1	2
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	2	4	24
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	2	2	1	4
<i>Brucella canis</i>	4	1	1	4
<i>Brucella melitensis</i>	4	1	1	4
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	2	2	1	4
<i>Haemophilus parasuis</i>	2	2	1	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	4	1	1	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	1	1	4
<i>Enterobacter</i> spp.	3	2	1	6
<i>Citrobacter rodentium</i>	3	2	1	6
<i>Helicobacter pylori</i>	3	2	1	6

Таким образом, при работе с животными необходимо соблюдать ряд требований для снижения опасности заражения персонала: обязательное использование средств индивидуальной защиты, бдительность, глубокое понимание основных принципов безопасной работы с животными, постоянный контроль со стороны руководителей. Следует отметить, что соблюдение требований техники безопасности, дезинфекционные мероприятия и высокие требования к вентиляции помещений не гарантируют безопасность для персонала, поэтому такая работа требует тщательной оценки риска [15].

Оценку рисков для здоровья персонала производили по данным, предоставленным АО «НПО «Дом Фармации» (табл. 5). Составляющими риска выбраны опасность для здоровья человека, вероятность передачи от животного к человеку и чувствительность патогенов к группе бета-лактамов антибиотиков (оксациллин, амоксициллин, ампициллин и др.) (табл. 1).

Анализ риска для здоровья персонала показал несколько ключевых потенциальных несоответствий. При выявлении у животных микроорганизмов *Pasteurella pneumotropica*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium kutscheri*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae* («значительный риск») работа должна осуществляться с особой осторожностью. Также необходимо обращать внимание на появление у персонала симптоматики заболеваний, вызываемых данными микроорганизмами.

Оценка суммарного риска. При анализе рисков (мониторинг здоровья животных, чистоты поверхностей и здоровья персонала) по сумме полученных приоритетных чисел рисков были выявлены наиболее опасные потенциальные несоответствия: сальмонеллы, кишечная палочка и стафилококки (табл. 6). Все указанные микроорганизмы входят в список санитарно-показательных микроорганизмов при контроле качества дезинфекции, приведенный в Правилах.

Таблица 5. Анализ риска для здоровья персонала при работе с лабораторными животными

Table 5. Analysis of health risks for personnel working with laboratory animals

Микроорганизм (потенциальное несоответствие) Microorganism (potential inconsistency)	Опасность для здоровья человека Microbial hazards for human health	Вероятность передачи от животного к человеку Likelihood of micro- organism transmission from animals to humans	Чувствительность к антибиотикам Antimicrobial susceptibility	Приоритетное число риска Risk Priority Number
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	3	1	9
Группа бета-гемолитических стрептококков β-haemolytic streptococci	3	3	2	18
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	2	4	3	24
<i>Pasteurella multocida</i>	4	4	2	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	4	36
<i>Salmonella</i> spp.	4	3	3	36
<i>Clostridium perfringens</i>	3	3	3	27
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	3	4	24
<i>Escherichia coli</i>	3	2	3	18
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3	2	3	18
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	4	2	4	32
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	3	2	18
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	2	2	2	8
<i>Brucella canis</i>	1	1	3	3
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1	1	3	3
<i>Hemophilus parasuis</i>	1	1	3	3
<i>Listeria monocytogenes</i>	4	1	3	12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	2	5	30
<i>Enterobacter</i> spp.	2	2	4	16
<i>Citrobacter rodentium</i>	1	3	4	12
<i>Helicobacter pylori</i>	2	3	2	12

Таблица 6. Наиболее опасные микроорганизмы по приоритетному числу риска (ПЧР)

Table 6. The most dangerous microorganisms by risk priority number (RPN)

Микроорганизм (потенциальное несоответствие) Microorganism (potential inconsistency)	ПЧР (мониторинг здоровья животных) RPN (animal health monitoring)	ПЧР (мониторинг чистоты поверхностей) RPN (surface cleanliness monitoring)	ПЧР (здоровье персонала) RPN (personnel health)	Сумма Total
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	12	2	24	38
<i>Pasteurella multocida</i>	12	2	32	46
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	8	36	53
<i>Salmonella</i> spp.	32	16	36	84
<i>Clostridium perfringens</i>	9	4	27	40
<i>Corynebacterium</i> spp.	9	12	24	45
<i>Escherichia coli</i>	36	12	18	66
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	12	2	32	46
<i>Staphylococcus</i> spp.	36	24	18	78
<i>Brucella canis</i>	25	4	3	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	4	30	52

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При работе с лабораторными животными и проведении доклинических исследований лекарственных средств важно понимать, какие риски для исследования наиболее важны, и какие могут быть последствия, если не воздействовать на риск. Применение метода «Анализ видов и последствий потенциальных несоответствий» (FMEA) в условиях экспериментального вивария позволяет проанализировать риски и разработать комплекс мероприятий по влиянию на риск. В отличие от жестких требований и правил, предъявляемых нормативно-правовыми актами, система управления рисками помогает более гибко подойти к проблеме, снизить затраты на рутинные мероприятия по обеспечению санитарного благополучия вивария и проработать все возможные предупреждающие мероприятия. Вместе с тем такая система не противоречит «Правилам проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» № 13-5-2/0525 от 15.06.2002 и дает возможность своевременно внедрять новые технологии и обновлять технологические процессы в любой области, в том числе в доклинических исследованиях. Выбор методов оценки рисков зависит от правил, принятых в конкретном виварии, проводимых процессов и доступной информации о риске.

Риск-ориентированный подход к оценке процессов организации является перспективным

направлением, позволяющим улучшить качество предоставляемых услуг при проведении доклинических исследований безопасности лекарственных средств и усилению конкурентоспособности. В АО «НПО «Дом Фармации» такой подход внедряется как неотъемлемая часть всех процессов в питомнике и виварии.

Вклад авторов. *Е. Д. Бондарева* — обзор публикаций по теме статьи, анализ данных мониторинга здоровья животных, сотрудников и чистоты поверхностей, написание текста рукописи; *К. Е. Боровкова* — обзор публикаций по теме статьи, интерпретация данных; *М. Н. Макарова* — идея, разработка дизайна исследования. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и согласовании окончательного текста рукописи.

Authors' contributions. *Evgeniia D. Bondareva*—literature review, analysis of data related to monitoring of laboratory animal health, monitoring of surface cleanliness, and assessment of personnel health, writing of the text; *Kristina E. Borovkova*—literature review, interpretation of data; *Marina N. Makarova*—elaboration of the study idea and design. All the authors took part in the discussion of the results and approved the final version of the paper.

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

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

- Covello VT, Merkhoher MW. *Risk assessment methods: approaches for assessing health and environmental risks*. New York: Springer Science & Business Media; 1993.
- Kaliste E, Linnainmaa M, Meklin T, Torvinen E, Nevalainen A. The bedding of laboratory animals as a source of airborne contaminants. *Lab Anim*. 2004;38(1):25–37. <https://doi.org/10.1258/00236770460734362>
- Mähler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, Raspa M. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim*. 2014;48(3):178–92. <https://doi.org/10.1177/0023677213516312>
- Бондарева ЕД, Макарова МН, Ковалева МА, Ходько СВ, Макаров ВГ. Нормативно-правовое регулирование деятельности питомников и экспериментально-биологических клиник (вивариев). *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018;(4):100–15. [Bondareva ED, Makarova MN, Kovaleva MA, Khod'ko SV, Makarov VG. Regulatory framework experimental biological clinics (vivaries) and nursery for laboratory animals. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science*. 2018;(4):100–15 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-04-08>
- Carpenter CB. Safety considerations for working with animal models involving human health hazards. *Animal Model Exp Med*. 2018;1(2):91–9. <https://doi.org/10.1002/ame2.12019>
- Попов НИ, Суворов АВ, Мичко СА, Лобанов СМ. Роль дезинфекции в обеспечении здоровья животных. *Труды ВИЭВ*. 2018;80(1):291–300. [Popov NI, Suvorov AV, Michko SA, Lobanov SM. Role of disinfection in animal health security. *Trudy VIEV = Works of All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Y.R. Kovalenko*. 2018;80(1):291–300 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30917/ATT-PRINT-2018-1>
- Валишев АА, Кириллов ВВ. Методы и средства профилактической дезинфекции мясоперерабатывающих предприятий. В кн.: *IX Международная научно-техническая конференция «Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке»*. СПб.; 2017. С. 240–3. [Valishev AA, Kirillov VV. Methods and means for preventive disinfection of meat processing enterprises. In: *IX International Conference «Refrigeration and Food Technologies in the 21st Century»*. Saint-Petersburg; 2017. P. 240–3 (In Russ.)]
- Бутко МП, Попов ПА, Онищенко ДА. Применение композиционного дезинфицирующего средства на основе гипохлорита натрия при обработке холодильных камер на предприятиях мясоперерабатывающей промышленности. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2018;(4):34–9. [Butko MP, Popov PA, Onishchenko DA. Application of the composite disinfectant based on sodium hypochlorite in the processing of refrigerating chambers at meat processing enterprises. *Problemy veterinarnoi sanitarii, gigiyeny i ekologii = Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2018;(4):34–9 (In Russ.)]
- Campagna MV, Faure-Kumar E, Treger J, Cushman J, Grogan T, Kasahara N, Lawson G., et al. Factors in the selection of surface disinfectants for use in a laboratory animal setting. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2016;55(2):175–88. PMID: 27025810
- Devan SRK, Vasu S, Mallikarjuna Y, Ponraj R, Kamath G, Poosala S. Improvement of vivarium biodecontamination through data-acquisition systems and automation. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2018;57(2):161–72. PMID: 29555006
- Васютина МЛ, Бреднева ОГ, Иванова СА, Салминш ДА, Галагудза ММ. Аллергия на лабораторных грызунов: недооцененная проблема. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019;(4):1. [Vasyutina ML, Bredneva OG, Ivanova SA, Salminsh DA, Galagudza MM. Allergy to laboratory rodents: the underestimated problem. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh*

- issledovaniy = Laboratory Animals for Science*. 2019;(4):1 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-01>
12. Yoshinari NH, Vasconcelos SA, Tiriba AC, Gauditano G, Mantovani E, Bonoldi VLN. Report of the unusual presence of latent microorganisms in animals: a risk to research and health of employees. *Braz J Rheumatol*. 2009;49(5):517–28. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042009000500004>
13. Nosanchuk JD, Mednick A, Shi L, Casadevall A. Experimental murine cryptococcal infection results in contamination of bedding with *Cryptococcus neoformans*. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2003;42(4):9–12. PMID: 12906395
14. Villano JS, Follo JM, Chappell MG, Collins Jr MT. Personal protective equipment in animal research. *Comp Med*. 2017;67(3):203–14. PMID: 28662749
15. Hickman-Davis JM, Nicolaus ML, Petty JM, Harrison DM, Bergdall VK. Effectiveness of shoe covers for bioexclusion within an animal facility. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2012;51(2):181–8. PMID: 22776118

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Бондарева Евгения Дмитриевна. *Evgeniia D. Bondareva*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7170-9717>

Боровкова Кристина Евгеньевна. *Kristina E. Borovkova*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1571-6549>

Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук. *Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.)*. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

Статья поступила 15.07.2020

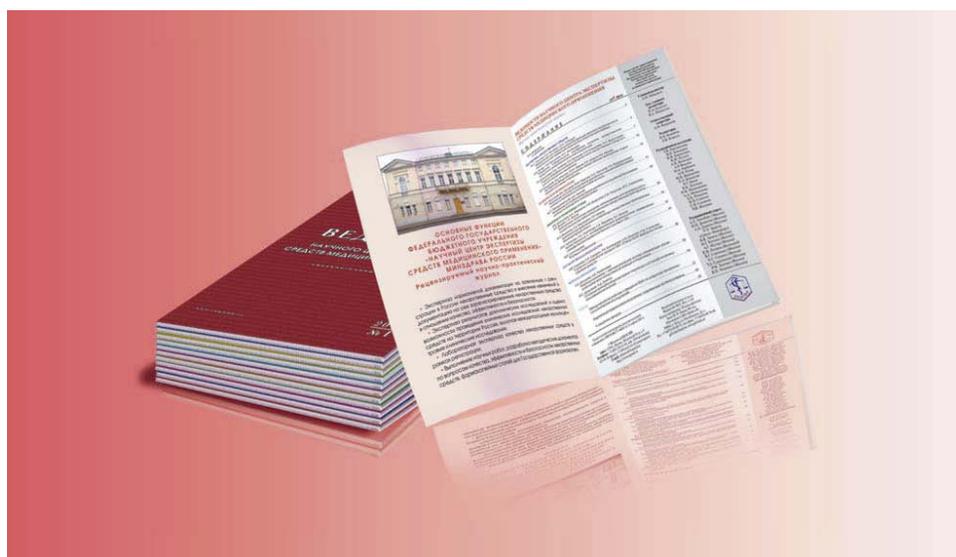
После доработки 14.08.2020

Принята к печати 04.12.2020

Article was received 15 July 2020

Revised 14 August 2020

Accepted for publication 4 December 2020



Подписку на журнал можно оформить в любом отделении «Почты России».

Подписной индекс издания:
в каталоге агентства «Роспечать»

«Издания органов научно-технической информации» — 57942

С любого номера
в региональных агентствах подписки:

Урал-Пресс (www.ural-press.ru) — 57942

По объединенному каталогу

«Пресса России» (www.pressa-rf.ru) — T57942

Практические аспекты применения валидационных параметров на примере методик определения количественного содержания микроорганизмов в лекарственных препаратах

И. А. Буйлова, О. В. Гунар*

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

Резюме. Валидация/верификация микробиологических методик необходима при контроле качества нестерильных лекарственных средств, однако использование известных процедур валидации/верификации аналитических методик затруднительно, поскольку микробиологическая погрешность определяется такими факторами, как распределение микроорганизмов в образце, клеточная морфология и метаболическая активность микроорганизмов. **Цель работы:** оценка возможности применения параметров, используемых для валидации микробиологических методик, при валидации/верификации чашечного агарового метода. **Материалы и методы:** нестерильные лекарственные средства 18 наименований. Предварительно исследовали антимикробное действие нестерильных лекарственных средств, для количественного определения жизнеспособных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов применяли глубокий модифицированный метод. Статистическую обработку результатов проводили при помощи компьютерных программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 8.0. **Результаты:** представлены результаты количественного определения тест-штаммов микроорганизмов, инокулированных в нестерильные лекарственные средства, полученные в рамках валидации/верификации чашечного агарового метода Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. **Выводы:** при валидации/верификации методики количественного выделения микроорганизмов не было выявлено отклонений результатов исследований от установленных критериев приемлемости. Это доказывает возможность применения валидационных параметров «правильность», «прецизионность», «устойчивость», «предел количественного обнаружения» при валидации новых методик количественного определения микроорганизмов или верификации ранее валидированных.

Ключевые слова: нестерильные лекарственные средства; валидация микробиологических методик; валидационные параметры; количественное определение; микроорганизмы; дрожжевые грибы; плесневые грибы; верификация микробиологических методик

Для цитирования: Буйлова ИА, Гунар ОВ. Практические аспекты применения валидационных параметров на примере методик определения количественного содержания микроорганизмов в лекарственных препаратах. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):267–272. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-267-272>

* **Контактное лицо:** Буйлова Ирина Александровна; Buylova@expmed.ru

Validation Parameters as Applied to Methods for Quantification of Microorganisms in Medicinal Products

I. A. Buylova, O. V. Gunar*

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

Abstract. Validation/verification of microbiological methods is a prerequisite for quality control of non-sterile drugs. However, the use of existing procedures for validation/verification of analytical methods is challenging, since a number of factors, such as microorganism distribution in the sample, cell morphology, and metabolic activity of microorganisms contribute to the error in microbiological testing. **The aim of the study** was to assess the feasibility of using the microbiological method validation parameters for validation/verification of the agar plate method. **Materials and methods:** 18 non-sterile medicinal products were used in the study. Experiments included determination of antimicrobial activity. The quantification of viable bacteria, yeasts and moulds was performed using the modified pour plate method. The statistical processing of the obtained results was performed using Microsoft Excel 7.0 and Statistica 8.0. **Results:** the paper provides the results of quantitative determination of test microorganisms inoculated into non-sterile drugs. The results were obtained as part of validation/verification of the agar plate method of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed. **Conclusions:** the validation/verification of the test method for isolation and quantification of microorganisms revealed no deviations of the study results from the established acceptance criteria. This proves the feasibility of using the following validation parameters: accuracy, precision, robustness, and limit of quantitation when validating new methods for quantitative determination of microorganisms or verification of previously validated methods.

Key words: non-sterile drugs; validation of microbiological tests; validation parameters; quantification; microorganisms; yeasts; moulds; verification of pharmacopoeial methods

For citation: Buylova IA, Gunar OV. Validation parameters as applied to methods for quantification of microorganisms in medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):267–272. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-267-272>

* **Corresponding author:** Irina A. Buylova; Buylova@expmed.ru

Проведение валидации/верификации микробиологических методик требует особого внимания. Погрешность (неопределенность) микробиологических исследований является следствием неравномерного распределения микроорганизмов в образце, особенностей клеточной морфологии и метаболической активности микроорганизмов и зависит от выбранной методики испытания, вследствие чего невозможно использовать известные процедуры валидации/верификации аналитических методик. Тем не менее и валидация, и верификация микробиологических методик необходимы при контроле качества нестерильных лекарственных средств (НЛС)¹ [1–3].

При определении качества НЛС по показателю «микробиологическая чистота» выполняют подсчет общего числа аэробных микроорганизмов и общего числа дрожжевых и плесневых грибов. Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ XIV)² для этих целей следует использовать чашечные агаровые методы, мембранную фильтрацию и метод наиболее вероятных чисел. В современных исследованиях, руководствах и нормативных документах в качестве основных параметров валидации количественных тестов рекомендуют использовать «правильность», «прецизионность», «специфичность», «предел количественного определения», «линейность», «рабочий диапазон», «устойчивость»³ [4–8].

Применимость тех или иных микробиологических методик оценивают при помощи валидационных параметров по критериям приемлемости — это ожидаемые результаты или заданные значения валидационного параметра, которые применяют для оценки соответствия методики путем сравнения с полученными экспериментальными данными⁴. В связи с большой вариабельностью микробиологических методик критерии приемлемости меняются в сторону увеличения процента отклонения⁵.

Цель работы — оценка возможности применения параметров, используемых для валидации микробиологических методик, при валидации/верификации чашечного агарового метода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе рассмотрена возможность применения для валидации/верификации микробиологических методик таких валидационных параметров,

как «правильность», «прецизионность», «предел количественного определения», «устойчивость»⁶.

Объектами исследования являлись субстанции аминокaproновой кислоты; бетаксолола; бромгексина гидрохлорида; гидроксиэтилкрахмала; йогексола; лидокаина гидрохлорида; оксиметазолина гидрохлорида; цинка оксида; а также диклофенак, мазь; карбоцистеин, сироп; верапамил, таблетки; ломилан, сироп; селанк, капли назальные; регидрон, порошок; ревазил, спрей; траметиниб, таблетки; фенотерол, раствор для ингаляции; фолиевая кислота, таблетки.

В работе применяли:

- тест-штаммы микроорганизмов: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404;

- питательные среды: триптиказо-соевый агар, агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом, готовые к использованию (bioMérieux); среды № 1 ГРМ и № 2 ГРМ готовили в лаборатории из сухих порошков (ФБУН «ГНЦ ПМБ»);

- оборудование: микроскоп Olympus CX-41, термостат-инкубатор Binder BD240, ламинарный шкаф, счетчик колоний Scan 100, встряхиватель KS 501, а также 5-й международный стандартный образец мутности ВОЗ (№ 76/522).

Исследования проводили методом количественного определения жизнеспособных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов (глубинный модифицированный метод) и микробиологическими методами определения антимикробного действия⁷. Предварительно с целью исключения ложноотрицательных результатов было определено антимикробное действие исследуемых лекарственных средств.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 8.0.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Валидационный параметр «правильность». Суспензии тест-штаммов микроорганизмов (100 КОЕ/мл) вносили в исследуемый образец, выполняли испытание модифицированным глубинным методом посева, сравнивая с результатами референсного метода глубинного посева (табл. 1). После количественного учета выросших колоний

¹ Буйлова ИА. Разработка методического подхода к анализу микробиологической чистоты отдельных групп нестерильных лекарственных средств: дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2016.

² ОФС.1.2.4.0002.18. Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³ PDA Technical report No. 33. Evaluation, validation and implementation of alternative and rapid microbiological methods. Revised 2013 (TR33). ОФС.1.2.4.0002.18. Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁴ Monograph 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified micro-organisms. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg: EDQM; 2016.

Q2(R1). ICH harmonised tripartite guideline. Validation of analytical procedures: Text and methodology.

⁵ PDA Technical report No. 33. Evaluation, validation and implementation of alternative and rapid microbiological methods. Revised 2013 (TR33).

⁶ ОФС.1.1.00221.18. Валидация микробиологических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁷ ОФС.1.2.4.0002.18. Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Таблица 1. Количество тест-штаммов микроорганизмов, выделенных на питательных средах из инокулированных образцов нестерильных лекарственных средств, определенных различными методиками

Table 1. Number of test microorganisms isolated in culture media with the help of different methods from inoculated samples of non-sterile drugs

Наименование субстанции Product name	Количество тест-штаммов микроорганизмов, $X_{cp} \pm DX$, КОЕ Number of test microorganisms, ($X_{av} \pm DX$), KFU			
	модифицированный глубинный метод посева modified pour plate method		глубинный метод (референсная методика) pour plate method (reference method)	
	триптиказо-соевый агар trypticase-soy agar	сабуро агар sabouraud agar	триптиказо-соевый агар trypticase-soy agar	сабуро агар sabouraud agar
	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i> , <i>Candida albicans</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i> , <i>Candida albicans</i>
Аминокапроновая кислота Aminocaproic acid	127,0 ± 3,8	47,0 ± 1,2	130,0 ± 0,7	47,0 ± 0,6
Бетаксол Betaxolol	111,0 ± 1,1	31,0 ± 1,0	100,0 ± 3,5	28,0 ± 0,6
Гидроксиэтилкрахмал Hydroxyethyl starch	72,0 ± 0,7	29,0 ± 1,0	92,0 ± 5,8	39,0 ± 2,0
Йогексол Yogexol	115,0 ± 1,9	35,0 ± 0,6	123,0 ± 2,7	49,0 ± 1,3
Лидокаина гидрохлорид Lidocaine hydrochloride	81,0 ± 2,7	26,0 ± 1,0	80,0 ± 0,3	29,0 ± 0,8
Оксиметазолина гидрохлорид Oximetazoline hydrochloride	114,0 ± 0,7	48,0 ± 2,0	115,0 ± 1,9	50,0 ± 1,4
Цинка оксид Zinc oxide	117,0 ± 3,3	44,0 ± 2,2	143,0 ± 4,6	58,0 ± 2,5

Примечание. X_{cp} — среднее значение DX — доверительный интервал.
Note. X_{av} —average value, DX—confidence interval.

Таблица 2. Процент восстановления микроорганизмов и значения критерия Стьюдента, рассчитанные по результатам выделения микроорганизмов из инокулированных образцов нестерильных лекарственных средств

Table 2. Microbial recovery rate and Student's t-test values calculated from the results of microorganism isolation from the inoculated samples of non-sterile drugs

Наименование нестерильного лекарственного средства Non-sterile drug	Процент восстановления микроорганизмов (К, %) и значения критерия Стьюдента ($t_{выч}$) Microbial recovery rate (K, %) and Student's t-test values (t_{cal})			
	триптиказо-соевый агар trypticase-soy agar		сабуро агар sabouraud agar	
	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i> , <i>Candida albicans</i>	
	К, %	$t_{выч}$ t_{cal}	К, %	$t_{выч}$ t_{cal}
Аминокапроновая кислота Aminocaproic acid	97	3,3	100	0,05
Бетаксол Betaxolol	111	0,01	90	0,1
Гидроксиэтилкрахмал Hydroxyethyl starch	78	0	74	0
Йогексол Yogexol	93	0	71	0
Лидокаина гидрохлорид Lidocaine hydrochloride	101	0,07	89	0
Оксиметазолина гидрохлорид Oximetazoline hydrochloride	99	0	96	2
Цинка оксид Zinc oxide	81	0,1	75	0

Примечание. $t_{табл} = 4,3$ ($f = 2, p = 0,95$) — табличное значение критерия Стьюдента.
Note. $t_{tabl} = 4.3$ ($f = 2, p = 0.95$)—table value of the Student's t-test.

Таблица 3. Количество тест-штаммов микроорганизмов, определенное при выделении бактерий и грибов из проб инокулированных нестерильных лекарственных средств

Table 3. Number of test microorganisms obtained when isolating bacteria and fungi from the samples of inoculated non-sterile drugs

Наименование нестерильного лекарственного средства Non-sterile drug	Тест-штаммы микроорганизмов Test microorganism	Теоретическое значение, КОЕ Theoretical value, KFU	Экспериментальное значение $\pm \sigma$, КОЕ Test value $\pm \sigma$, KFU			CV, %
			1 эксперт Expert 1	2 эксперт Expert 2	3 эксперт Expert 3	
Диклофенак, мазь Diclofenac, ointment	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	26,0	26,0 \pm 4,0	23,0 \pm 2,0	25,0 \pm 3,0	12
	<i>Candida albicans</i>	17,0	14,0 \pm 0,5	17,0 \pm 2,0	14,0 \pm 1,0	3
	<i>Aspergillus brasiliensis, Candida albicans Bacillus subtilis, Escherichia coli</i>	114,0	99,0 \pm 7,0	106,0 \pm 7,0	102,0 \pm 7,0	6
Карбоцистеин, сироп Carbocisteine, syrup	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	150,0	156,0 \pm 20,8	150,0 \pm 20,8	176,0 \pm 25,0	12
	<i>Candida albicans</i>	15,0	14,0 \pm 1,5	27,0 \pm 0,5	20,0 \pm 1,0	10
	<i>Aspergillus brasiliensis, Candida albicans Bacillus subtilis, Escherichia coli</i>	73,0	61,0 \pm 2,8	67,0 \pm 3,7	64,0 \pm 3,2	4
Бромгексина гидрохлорид, субстанция Bromhexine hydrochloride, substance	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	13,0	10,0 \pm 1,0	11,0 \pm 1,0	13,0 \pm 2,0	9
	<i>Candida albicans</i>	19,0	18,0 \pm 1,0	18,0 \pm 1,0	18,0 \pm 2,0	5
	<i>Candida albicans, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus brasiliensis</i>	129,0	100,0 \pm 9,0	111,0 \pm 9,0	105,0 \pm 6,0	9
Верапамил, таблетки Verapamil, tablets	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	75,0	75,0 \pm 7,7	59,0 \pm 9,1	45,0 \pm 7,0	10
	<i>Candida albicans</i>	35,0	35,0 \pm 7,0	47,0 \pm 3,5	41,0 \pm 5,2	7
	<i>Candida albicans, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus brasiliensis</i>	200,0	174,0 \pm 19,0	177,0 \pm 18,7	175,0 \pm 2,1	10

Примечание. σ — стандартное отклонение, CV — коэффициент вариации.
Note. σ —standard deviation, CV—coefficient of variation.

вычисляли процент восстановления микроорганизмов как отношение количества колоний, определенных с помощью валидируемой методики, к истинному значению. За истинное значение принимали количество клеток, определенное по референсной методике. Методика является приемлемой, если процент восстановления микроорганизмов (К) составляет не менее 70% от истинного значения.

Рассчитанные по результатам выделения микроорганизмов из образцов нестерильных лекарственных средств при помощи модифицированного глубинного метода значения t-критерия Стьюдента ниже табличного значения этого параметра (табл. 2), что свидетельствует об отсутствии статистически значимых различий результатов, полученных с использованием двух методик, и является доказательством приемлемости методики.

Валидационный параметр «прецизионность». Для определения прецизионности верифицируемой методики делали не менее трех последовательных разведений из заранее приготовленных суспензий микроорганизмов, доводили концентрацию до нижней границы изучаемого диапазона.

После инокуляции образца приготовленными суспензиями выполняли как минимум пять определений с помощью верифицируемой методики. Рассчитывали стандартное отклонение (σ) и коэффициент вариации (CV). Все исследования методики производили в одной лаборатории, однако эксперименты проводили в разные дни, разными исполнителями, использовали разное оборудование. В условиях опыта был проведен отрицательный контроль растворителя (без внесения в используемый растворитель тест-штаммов микроорганизмов и исследуемого НЛС), роста микроорганизмов не наблюдалось. Результаты представлены в таблице 3.

Валидационный параметр «предел количественного определения». Предел количественного определения устанавливали с помощью суспензий тест-штаммов микроорганизмов, которыми инокулировали НЛС так, чтобы концентрация микроорганизмов составляла 50, 5 и 1 КОЕ/мл. Контролем культуры являлось фактическое количество клеток в рабочей суспензии тест-штаммов микроорганизмов. В инокулированном образце количество микроорганизмов определяли модифицированным

Таблица 4. Расчетные значения коэффициента вариации (CV, %) количества тест-штаммов микроорганизмов *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, определенных в инокулированных нестерильных лекарственных средствах

Table 4. Calculated values of the coefficient of variation (CV, %) for the number of test microorganisms *C. albicans*, *B. subtilis*, *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, detected in the inoculated non-sterile drugs

Наименование нестерильного лекарственного средства Non-sterile drug	Содержание микроорганизмов в суспензии тест-штаммов (контроль культуры), КОЕ Content of microorganisms in the test microorganism suspension (control culture), KFU			Содержание микроорганизмов в инокулированном образце нестерильного лекарственного средства, КОЕ Content of microorganisms in the inoculated non-sterile drug, KFU		
	50 КОЕ 50 KFU	5 КОЕ 5 KFU	1 КОЕ 1 KFU	50 КОЕ 50 KFU	5 КОЕ 5 KFU	1 КОЕ 1 KFU
Фенотерол, раствор для ингаляций Fenoterol, inhalation solution	17	35	26	17	35	27
Траметиниб, таблетки Trametinib, tablets	17	21	14	17	21	17
Фолиевая кислота, таблетки Folic acid, tablets	4	7	17	14	12	28

Таблица 5. Результаты экспериментов по выделению микроорганизмов из образцов инокулированных нестерильных лекарственных средств на разных питательных средах

Table 5. Results of microorganism isolation from the samples of inoculated non-sterile drugs in different culture media

Наименование нестерильного лекарственного средства Non-sterile drug	Триптиказо-соевый агар Trypticase-soy agar		Сабуро агар Sabouraud agar		№ 1 ГРМ GRM 1	№ 2 ГРМ GRM 2
	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i> , <i>Candida albicans</i>		<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i> , <i>Candida albicans</i>
	К, %	$F_{\text{выч}} / F_{\text{cal}}$	К, %	$F_{\text{выч}} / F_{\text{cal}}$	К, %	К, %
Ломилан, сироп Lomilan, syrup	80	1,3	80	3,2	70	97
Селанк, капли назальные Selank, nasal drops	70	3,0	97	8,0	70	85
Регидрон, порошок Regidron, powder	76	2,5	88	5,4	84	87
Ревасил, спрей Revasil, spray	100	5,7	92	9,2	90	93

Примечание: К — восстановление микроорганизмов, $F_{\text{выч}}$ — критерий Фишера.
Note: K—Microbial recovery rate, F_{cal} —Fisher’s test.

Таблица 6. Оценка результатов испытания по критериям приемлемости

Table 6. Evaluation of test results against acceptance criteria

Валидационные параметры Validation parameters	Критерии приемлемости Acceptance criteria	Допустимое значение критерия Valid criterion value	Полученные результаты Obtained results
Правильность Accuracy	Критерий Стьюдента ($t_{\text{выч}}$) Student’s t-test (t_{cal})	<4,3	0–3,3
	Процент восстановления микроорганизмов (К) Microbial recovery rate (K)	>70%	70–90%
Прецизионность Precision	Коэффициент вариации (CV) Coefficient of variation (CV)	≤35 %	3–12%
Предел количественного определения Limit of quantitation	Коэффициент вариации (CV) Coefficient of variation (CV)	≤35 %	7–35%
Устойчивость Robustness	Критерий Фишера ($F_{\text{выч}}$) Fisher’s test (F_{cal})	≤19,0	1,0–11,6

глубинным чашечным агаровым методом. В таблице 4 представлены расчетные значения коэффициента вариации, полученные в экспериментах с различными лекарственными формами НЛС. Критерий приемлемости методики выполняется тогда, когда пределы количественного определения исследуемой верифицируемой методики не выше пределов количественного определения референсной методики.

Валидационный параметр «устойчивость». Устойчивость методики контролировали, выполняя эксперименты с использованием различных питательных сред: готовой к употреблению (триптиказо-соевый агар и Сабуро агар) и сухой, приготовленной в лаборатории (среда № 1 ГРМ и среда № 2 ГРМ). Для оценки применяли F-критерий Фишера (табл. 5). Показано, что изменение питательной среды не влияет на процент восстановления микроорганизмов из НЛС, составляющий 70–100% для образцов, инокулированных микроорганизмами в количестве 5 КОЕ, что подтверждает пригодность методики по параметру «устойчивость».

Таким образом, в ходе настоящего исследования нами подтверждена возможность количественного определения бактерий с помощью верифицируемого фармакопейного чашечного агарового метода (табл. 6).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные исследования, проведенные в рамках валидации/верификации методики количественного выделения микроорганизмов

ГФ РФ XIV, не выявили отклонений полученных результатов от установленных критериев приемлемости. Это доказывает возможность применения валидационных параметров «правильность», «прецизионность», «устойчивость», «предел количественного обнаружения» при валидации новых методик количественного определения микроорганизмов или верификации ранее валидированных.

Вклад авторов. *И. А. Буйлова* — планирование исследования, сбор, обработка и систематизация экспериментальных данных, написание и доработка текста, *О. В. Гунар* — консультации по проведению отдельных этапов экспериментальных работ, доработка текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Authors' contributions. *Irina A. Buylova*—planning of the study, collection, processing and systematisation of the experimental data, writing and revising of the text; *Olga V. Gunar*—providing consultation on individual stages of experimental work, finalisation of the text, approval of the final version of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

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. Гунар ОВ, Сахно НГ, Абрамович РА. *Основы валидации микробиологических методик фармацевтического анализа*. М.: РУДН; 2017. [Gunar OV, Sakhno NG, Abramovich RA. *Basics of validation of microbiological methods of pharmaceutical analysis*. Moscow: PFUR; 2017 (In Russ.).]
2. Гунар ОВ, Карасев РП. Процедура валидации в оценке методов определения бактерий в лекарственных препаратах. *Фармация*. 2012;(6):3–6. [Gunar OV, Karasev RP. A validation procedure in the assessment of methods for the determination of bacteria in drugs. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2012;(6):3–6 (In Russ.).]
3. Гунар ОВ. Валидация метода количественного определения аэробных бактерий и грибов, выделяемых из лекарственных средств. Альтернативный агаровый метод. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003;37(3):53–6. [Gunar OV. Validation of the method of quantitative determination of aerobic bacteria and fungi isolated from medicines: Alternative agar inoculation technique. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;37(3):161–4]. <https://doi.org/10.1023/A:1024551017750>
4. Гунар ОВ, Буйлова ИА. Особенности валидации качественных микробиологических методов фармацевтического анализа. *Химико-фармацевтический журнал*. 2017;51(1):54–6. [Gunar OV, Buylova IA. Validation of qualitative microbiological methods of pharmaceutical analysis. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017;51(1):68–70]. <https://doi.org/10.1007/s11094-017-1560-0>
5. Peris-Vicente J, Carda-Broch S, Esteve-Romero J. Validation of rapid microbiological methods. *J Lab Autom*. 2015;20(3):259–64. <https://doi.org/10.1177/2211068214554612>
6. IJzerman-Boon PC, van den Heuvel ER. Validation of qualitative microbiological test methods. *Pharmaceut Statist*. 2015;14(2):120–8. <https://doi.org/10.1002/pst.1663>
7. Manju MA, van den Heuvel ER, IJzerman-Boon PC. A comparison of spiking experiments to estimate the detection proportion of qualitative microbiological methods. *J Biopharm Stat*. 2019;29(1):30–55. <https://doi.org/10.1080/10543406.2018.1452027>
8. Lombard B, Cornu M, Lahellec C, Feinberg MH. Experimental evaluation of different precision criteria applicable to microbiological counting methods. *JAOAC Int*. 2005;88(3):830–41. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.3.830>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Буйлова Ирина Александровна, канд. фарм. наук. *Irina A. Buylova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3787-269X>
Гунар Ольга Викторовна, д-р фарм. наук. *Olga V. Gunar*, Dr. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

Статья поступила 29.06.2020
После доработки 03.11.2020
Принята к печати 04.12.2020

Article was received 29 June 2020
Revised 3 November 2020
Accepted for publication 4 December 2020



Сауле Кутымовна Ордабаева (к 60-летию со дня рождения)

Saule Kutymovna Ordabaeva (on the 60th Anniversary)

24 октября 2020 года исполнилось 60 лет со дня рождения члена редколлегии журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения», доктора фармацевтических наук, профессора, заведующей кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии, члена редакционной коллегии Государственной фармакопеи Республики Казахстан Сауле Кутымовны Ордабаевой.

С.К. Ордабаева окончила фармацевтический факультет Алма-Атинского государственного медицинского института (АГМИ), после чего стала ассистентом кафедры фармацевтической химии Южно-Казахстанского филиала АГМИ (ныне ЮКМА). С 1986 по 1990 г. Сауле Кутымовна прошла обучение в аспирантуре Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (ныне Первый МГМУ, Сеченовский Университет). Успешному выполнению кандидатской диссертации способствовала работа в лаборатории фармакокинетики лекарственных средств кафедры клинической фармакологии Сеченовского Университета под руководством академика В.Г. Кукеса.

Успешно защитив кандидатскую диссертацию, С.К. Ордабаева вернулась в свой родной коллектив, работала ассистентом, старшим преподавателем, доцентом кафедры фармацевтической и токсикологической химии ЮКМА. В 2007 г. защитила диссертацию на соискание ученой степени доктора наук по теме «Теоретическое и экспериментальное обоснование создания и стандартизации лекарственных препаратов, производных глицирризиновой кислоты». В 2010 г. Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки республики Казахстан ей было

присвоено ученое звание профессора. С 2012 года по настоящее время С.К. Ордабаева — заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ЮКМА.

С.К. Ордабаева внесла большой вклад в реализацию образовательной программы специальности «Фармация» на уровне бакалавриата и магистратуры. Также С.К. Ордабаева является автором 16 типовых учебных программ по дисциплинам специальностей «Менеджмент в социальной сфере (фармации)», «Фармация», «Технология фармацевтического производства». Принимала участие в разработке профессионального стандарта «Фармацевтическая деятельность» (2018 г.).

Под руководством С.К. Ордабаевой ведутся научные исследования по созданию и стандартизации лекарственных препаратов на основе отечественного растительного сырья, разработке и усовершенствованию методик анализа лекарственных препаратов, химико-токсикологическому анализу токсикологически важных веществ. Она является автором 8 патентов Республики Казахстан, 2 рационализаторских предложений, 2 авторских свидетельств, более 300 научных работ. Под ее руководством выполнено более 15 магистерских диссертаций, подготовлено к защите 3 работы на соискание степени кандидата наук, в настоящее время Сауле Кутымовна консультирует соискателя ученой степени доктора наук.

За долгие годы плодотворной работы в сфере высшего образования и научно-исследовательских работ ею лично и в соавторстве подготовлены монографии, учебники и учебные пособия, среди которых «Создание и стандартизация лекарственных препаратов, производных глицирризиновой кислоты» (2012 г.), «Унифицированные методики

определения лекарственных препаратов, производных глицирризиновой кислоты» (2013 г.), «Унифицированные методики анализа метронидазола с применением хроматографических методов» (2016 г.), «Контроль качества и стандартизация лекарственных средств» — на русском и английском языках (2015, 2016, 2018 гг.), «Судебно-химическая экспертиза и аналитическая диагностика» (2016 г.), «Фармацевтическая химия. Ароматические соединения» — на казахском, русском и английском языках (2014, 2016, 2018 гг.).

Весомый вклад Сауле Кутымовна внесла в развитие международного сотрудничества руководимой ею кафедры и академии в целом с ведущими вузами России, Чехии, Польши, Ирана, Украины, Узбекистана, Киргизии в рамках образовательного процесса и научно-исследовательских работ.

После начала пандемии COVID-19, когда организации образования всех уровней перешли на дистанционное обучение, С.К. Ордабаева мобилизовала коллектив кафедры для создания лучшего контента автоматизированной информационной системы по всем модульным учебным программам. Под ее руководством сотрудниками кафедры создано более 40 видеороликов для проведения лабораторных занятий, разработан курс «Контроль качества и стандартизация лекарственных средств» на платформе GoogleClassRoom для прохождения профессиональной практики студентов в дистанционном режиме.

Организаторские способности С.К. Ордабаевой проявляются в проведении международных форумов по фармацевтической науке и образованию, в том числе международных конференций «Интернационализация высшего образования: опыт, проблемы и перспективы» (2017 г.), «Актуальные вопросы химико-токсикологического анализа: от образования к практике» (2018 г.). В июне 2020 г. по ее инициативе была проведена международная

конференция «Фармацевтическое образование в период пандемии: проблемы и пути решения», где руководимый ею коллектив поделился опытом проведения лабораторных занятий и организации профессиональной практики студентов в режиме дистанционного обучения.

С.К. Ордабаева является победителем республиканского гранта «Лучший преподаватель вуза» (2012 г.). В 2015 г. она стала победителем открытого международного онлайн-конкурса, по результатам которого присвоено звание «Ученый года» в категории «Медицинские науки» Оксфордским академическим союзом (OAU, Оксфорд, Великобритания), Клубом ректоров Европы (CRE) и Европейской бизнес-ассамблеей (EBA). Является победителем Республиканского конкурса Президентской программы «Болашак», в рамках которого прошла стажировку в Берлинском техническом университете (Германия, 2016 г.). В 2018 г. прошла стажировку и обмен опытом в области научно-исследовательских работ и образовательного процесса по программе кредитной мобильности на базе Гданьского медицинского университета в рамках европейского гранта «Эразмус-плюс».

Добропорядочным отношением к своей работе, терпимостью и корректностью во всех ситуациях делового общения, профессионализмом, требовательностью к себе и подчиненным в достижении результата Сауле Кутымовна заслужила уважение не только в своей стране, но и за ее пределами.

Дорогая Сауле Кутымовна! Желаем Вам здоровья и неугасаемого профессионального вдохновения, чтобы жизнь подарила Вам еще не одно десятилетие плодотворной научной и педагогической работы, воплощения замыслов и счастья делить свой путь с единомышленниками, коллегами, близкими и любящими людьми.

Научно-практическая конференция «Современные подходы к экспертизе лекарственных средств» (RegLek 2020)

Applied Research Conference "Current Approaches to Evaluation of Medicinal Products" (RegLek 2020)

24–27 ноября 2020 г. состоялась научно-практическая конференция «Современные подходы к экспертизе лекарственных средств» (RegLek 2020). В первый день работы на пленарном заседании были обозначены основные направления и наиболее актуальные вопросы, которые затрагивались на конференции. Все выступавшие отметили, что начавшийся переход к регистрации лекарственных препаратов по единым требованиям Евразийского экономического союза (ЕАЭС) внес значительные коррективы в работу регуляторных органов, всего экспертного сообщества и производителей лекарственных препаратов.

С 1 января 2021 г. регистрация всех лекарственных препаратов по единым правилам ЕАЭС станет обязательной процедурой. Регистрационные досье на препараты, которые были зарегистрированы по национальным правилам, должны быть до 31 декабря 2025 г. приведены в полное соответствие с едиными требованиями ЕАЭС. Докладчики обратили особое внимание заявителей на необходимость планирования срока подачи документов.

Ю.В. Олефир, и.о. генерального директора ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, в своем докладе отметил своевременность и эффективность процедуры ускоренной регистрации лекарственных препаратов, реализация которой специалистами учреждения позволила в максимально короткие сроки провести предрегистрационную экспертизу нескольких препаратов, жизненно необходимых в особых условиях пандемии COVID-19.

На секционном заседании по вопросам изучения стабильности и условий хранения лекарственных средств с докладами выступили сотрудники ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России А.И. Беланова, Е.В. Ланкина, Л.И. Митькина и Е.В. Савин. В связи с изменением правил нормирования сроков годности при выпуске лекарственных средств Д.А. Рождественский, начальник отдела координации работ в сфере обращения лекарственных средств и медицинских изделий Департамента технического регулирования и аккредитации Евразийской экономической комиссии (ЕЭК), подробно рассмотрел возможные варианты для установления даты истечения срока годности препаратов и ответил на вопросы заявителей.

В связи с внедрением новых цифровых систем в сферу обращения лекарственных средств происходит неизбежная трансформация процесса их регистрации и формирования электронного досье. Об этом и об особенностях ведения единого электронного реестра лекарственных средств, формируемого по правилам ЕАЭС,

докладывали представители Управления информатизации ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России К.А. Кошечкин и О.А. Леднев.

Начальником Контрольно-организационного управления ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России Е.М. Рычиной было отмечено, что на сегодняшний день активность заявителей является крайне низкой. Не все российские производители лекарственных средств предприняли хотя бы одну попытку подать заявление на приведение досье в соответствие с требованиями ЕАЭС. Откладывать эту процедуру на последний момент, по мнению всех докладчиков, крайне недальновидно, требуется заранее оценить риски, которые могут возникнуть при переходе к новым требованиям по сравнению с существующими привычными процедурами, и предоставление дополнительных документов и результатов исследований.

Второй день конференции был открыт выступлением директора Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России Д.В. Горячева, который говорил об особенностях экспертной оценки различных групп лекарственных препаратов по процедурам ЕАЭС. С докладами, посвященными вопросам формирования клинических модулей регистрационного досье, выступили представители ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России А.И. Губенко, А.П. Соловьева, Г.Н. Енгальчева и главный специалист отдела экспертизы лекарств республиканской клинико-фармакологической лаборатории УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» Министерства здравоохранения Республики Беларусь Е.А. Юршевич.

Д.В. Горячев при ответе на вопрос Ю.Н. Линьковой (департамент клинической разработки компании BIOCAD) предположил, что организация научного консультирования разработчиков лекарственных препаратов в настоящее время ни в Российской Федерации, ни в рамках ЕАЭС не представляется возможной.

Секционное заседание по вопросам приведения нормативного документа по качеству в соответствие с требованиями вводимой в действие с 1 марта 2021 г. Фармакопеи ЕАЭС было проведено при участии заместителя председателя Фармакопейного комитета ЕАЭС, заместителя директора Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России Е.Л. Ковалевой, руководителя секретариата Фармакопейного комитета Союза, заместителя начальника отдела координации работ в сфере

обращения лекарственных средств и медицинских изделий Департамента технического регулирования и аккредитации ЕЭК, Д.А. Шекина, главного специалиста управления надлежащих фармацевтических практик УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» Министерства здравоохранения Республики Беларусь М.В. Прохоровой, заместителя начальника отдела координации работ в сфере обращения лекарственных средств и медицинских изделий Департамента технического регулирования и аккредитации ЕЭК А.М. Кравчук и члена Фармакопейного комитета ЕАЭС заместителя директора Института фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России М.Н. Лякиной.

На последующих секционных заседаниях были рассмотрены вопросы практического применения правил ЕАЭС при подготовке материалов досье и внесении изменений в регистрационное досье по качеству лекарственных препаратов. С докладами выступили представители ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России Е.Л. Ковалева, О.А. Матвеева, О.А. Ваганова и О.В. Гунар.

Отличия в требованиях к валидации и верификации аналитических методик на лекарственные препараты, фармацевтические субстанции и вспомогательные вещества по национальной процедуре и процедуре ЕАЭС были рассмотрены начальником лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России О.А. Вагановой. О перспективах развития микробиологического контроля качества лекарственных средств, возможности выбора

альтернативных методик, позволяющих сократить время проведения анализа, уменьшить количество испытуемого образца и при этом обеспечить получение достоверных результатов, докладывала начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России О.В. Гунар.

Проведение пользовательского тестирования инструкций по медицинскому применению препаратов в докладах Д.В. Горячева, Е.М. Рычиной, а также Т.С. Ерицян, координатора по вопросам обращения лекарственных средств и медицинских изделий в рамках ЕАЭС АОЗТ «Научный центр экспертизы лекарств и медицинских технологий имени академика Эмиля Габриеляна» Республики Армения, было названо обязательной процедурой.

Заключительный день конференции был посвящен вопросам оценки биоэквивалентности и терапевтической эквивалентности воспроизведенных лекарственных средств. С докладами выступили Д.А. Рождественский и Д.В. Горячев, были затронуты аналитические аспекты исследований эквивалентности и рассмотрены факторы, влияющие на фармакокинетическую неэквивалентность препаратов (докладчики С.В. Моисеев, А.Н. Кулинкина, Д.П. Ромодановский).

По итогам конференции необходимо подчеркнуть, что и экспертам, и производителям лекарственных средств предстоит большой объем работы в ближайшие пять лет. Докладчиками неоднократно отмечалось, что в Российской Федерации из 14 000 препаратов, включенных в Государственный реестр лекарственных средств, только 224 были заявлены на перерегистрацию по правилам ЕАЭС, и этого на сегодняшний день явно недостаточно.



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ

“СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРТИЗЕ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ”

24-27 НОЯБРЯ 2020 Г.
ОНЛАЙН ФОРМАТ

26 НОЯБРЯ



РЫЧИХИНА ЕКАТЕРИНА
НАЧАЛЬНИК
КОНТРОЛЬНО-ОРГАНИЗАЦИОННОГО
УПРАВЛЕНИЯ ФГБУ «НЦЭСМП»
МИНЗДРАВА РОССИИ



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

PerLek

**Экспертный отчет об оценке как итог
проведения регуляторных процедур
по правилам ЕАЭС в странах Союза.
Практический опыт Российской Федерации:
референтное государство и государство
признания.**

Рычихина Екатерина Михайловна,
начальник контрольно-организационного
управления, к.б.н.
25.11.2020

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



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ

“СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРТИЗЕ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ”

24-27 НОЯБРЯ 2020 Г.
ОНЛАЙН ФОРМАТ

26 НОЯБРЯ



КОВАЛЕВА ЕЛЕНА
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ПРЕДСЕДАТЕЛЯ
ФАРМАКОПЕЙНОГО КОМИТЕТА ЕАЭС,
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ДИРЕКТОРА
ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ И КОНТРОЛЯ
ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
ФГБУ «НЦЭСМП» МИНЗДРАВА РОССИИ



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



PerLek

**ЭКСПЕРТИЗА МАТЕРИАЛОВ
РЕГИСТРАЦИОННОГО ДОСЬЕ
ПО КАЧЕСТВУ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
СРЕДСТВ
ПРИ РЕГИСТРАЦИИ В ЕАЭС**

зам.директора ЦЭК ГЛС ФГБУ НЦЭСМП
Минздрава России,
Ковалева Е. Л.
Ноябрь 2020 г.

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

Фотографии публикуются с разрешения организатора конференции и докладчиков

