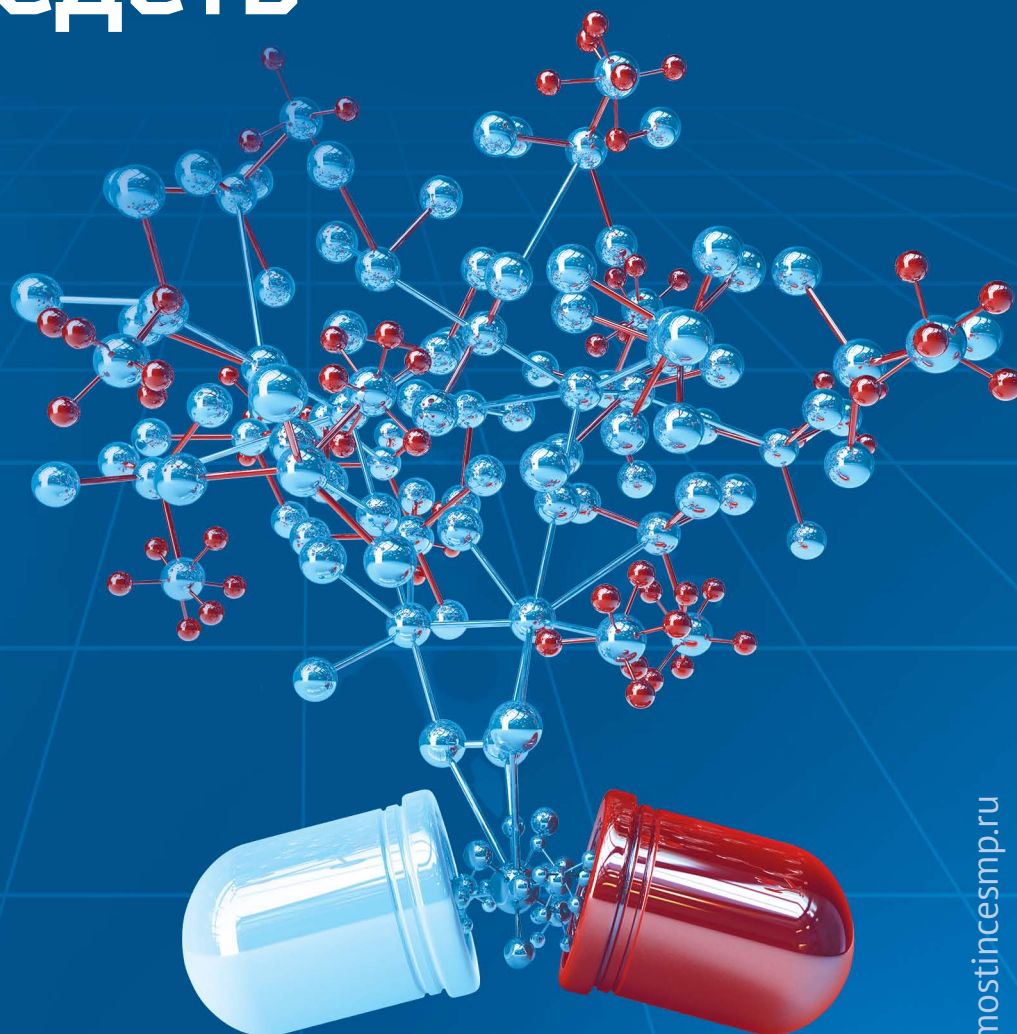


Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств



ГЛАВНАЯ ТЕМА:

Методы оценки примесей
в экспертизе лекарственных средств

QR-гид: документы в мгновенном доступе

Нормативные правовые акты, регулирующие методы оценки примесей в экспертизе лекарственных средств



Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание



Фармакопея Евразийского экономического союза



Руководство по оценке и контролю ДНК – реактивных (мутагенных) примесей в лекарственных средствах и установлению границ потенциального канцерогенного риска

Акты органов Евразийского экономического союза, регулирующие обращение лекарственных средств



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113 «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методов проведения испытаний лекарственных средств»



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.12.2020 № 26 «О Руководстве по разработке и производству активных фармацевтических субстанций»



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 (ред. от 17.03.2022) «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения»



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 79 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза»



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 07.09.2018 № 151 «Об утверждении Руководства по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата»



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 87 «Об утверждении Правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза»



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10.05.2018 № 69 (ред. от 30.06.2020) «Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций»



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 77 (ред. от 14.07.2021) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза»

Расширенный перечень нормативных документов в области регулирования экспертизы и регистрации лекарственных средств представлен на сайте ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России <https://www.regmed.ru> в разделе «Документы».



Уважаемые коллеги!

Одной из важнейших характеристик качества лекарственных средств является их чистота. Присутствие различного рода примесей снижает терапевтическую активность лекарственных препаратов и может влиять на их безопасность. Поэтому анализ чистоты лекарственных средств является неотъемлемой частью контроля их качества.

Характер и профиль примесей в лекарственных средствах определяются различными факторами: природой лекарственного средства, технологией его получения, свойствами действующего вещества, используемым материалом первичной упаковки и т.д. Внедрение в фармацевтический анализ сложных, селективных, высокочувствительных методов и использование современного оборудования позволяют совершенствовать методологические подходы и требования к оценке качества лекарственных средств, что в наибольшей степени проявляется именно в контроле примесей.

Развитие современных аналитических возможностей сделало доступным определение загрязнителей антропогенного происхождения (пестицидов, радионуклидов и др.) в лекарственных средствах, источниками которых является лекарственное растительное сырье, органы и ткани животных, выявление ДНК-реактивных (мутантных) примесей в синтетических лекарственных средствах.

Фармакопейный стандарт должен быть применим к лекарственным средствам, находящимся в гражданском обороте. Это касается используемых методик определения примесей, применения стандартных образцов и норм, поскольку единая методика и нормы не всегда позволяют корректно оценивать профиль примесей в субстанциях, полученных различным способом синтеза. Включение в фармакопейную статью различных методик испытания становится современной тенденцией развития фармакопейных требований.

В данном номере журнала, посвященном методам оценки примесей в экспертизе лекарственных средств, публикуются результаты изучения и критерии приемлемости содержания примесей в лекарственном растительном сырье, радиофармацевтических лекарственных препаратах, лекарственных средствах группы полусинтетических антибиотиков и др., поскольку все они имеют свою специфику и особенности стандартизации.

*Искренне ваша,
главный редактор*

**Косенко
Валентина Владимировна**

Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств

Рецензируемый научно-практический журнал

Учредитель и издатель:

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

Главный редактор:

Косенко Валентина Владимировна,
канд. фарм. наук

Шеф-редактор:

Федотова О.Ф.
тел.: +7 (495) 121-06-00 (доб. 63-05)
Fedotovaof@expmed.ru

Ответственный редактор:

Гойкалова О.Ю., канд. биол. наук, доц.

Научные редакторы:

Молчан Н.В., канд. фарм. наук
Хрущева М.Л., канд. хим. наук

Редактор:

Калиничев С.А., канд. фарм. наук

Редактор перевода:

Балтина Л.А.

Адрес учредителя и редакции:

127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2
тел.: +7 (499) 190-18-18
(доб. 63-41, 63-65)
vedomosti@expmed.ru

www.vedomostincesmp.ru

Журнал основан в 2005 году.

Выходит ежеквартально (четыре выпуска в год).

Журнал открытого доступа, индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных:

Chemical Abstracts (CAS), Embase, Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), Russian Science Citation Index (RSCI), его архив включен в базы крупнейших агрегаторов научных ресурсов и библиотек EBSCO, WorldCat, DOAJ, Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), КиберЛенинка, BASE, Dimensions, DOAJ, Open Archives Initiative, ResearchBib, РГБ, Соционет, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations и др.

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ – 0,610.

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.

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:

- Промышленная фармация и технология получения лекарств; Фармацевтическая химия, фармакогнозия; Организация фармацевтического дела;
- Фармакология, клиническая фармакология.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописи не взимается
Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International 4.0 CC-BY

Подписано в печать:	28.09.2022
Дата выхода в свет	30.09.2022
Подписной индекс	в каталоге «Пресса России» – 57942, в каталоге агентства «Урал-Пресс» – 57942

© Оформление, составление. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2022

Редакционная коллегия

Главный редактор

Косенко В.В., канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Заместители главного редактора

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

Родин И.А., д-р хим. наук, проф., МГУ им. М.В. Ломоносова, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Ответственный секретарь

Хрущева М.Л., канд. хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Члены редакционной коллегии

Астапенко Е.М., канд. техн. наук, Минздрав России (Москва, Россия)

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

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

Гейн В.Л., д-р хим. наук, проф., ПГФА (Пермь, Россия)

Глаголев С.В., Минздрав России (Москва, Россия)

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

Гравель И.В., д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

Дмитриев В.А., канд. мед. наук, Ассоциация российских фармацевтических производителей (Москва, Россия)

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

Егорова С.Н., д-р фарм. наук, проф., Казанский ГМУ (Казань, Россия)

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

Кайтель Сьюзан, Ph.D. (Бонн, Германия)

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

Коваленко С.Н., д-р хим. наук, проф., ХНУ им. В. Н. Каразина (Харьков, Украина)

Кузьмина Н.Е., д-р хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

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

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

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

Ремезова И.П., д-р фарм. наук, проф., ПМФИ (Пятигорск, Россия)

Рождественский Д.А., канд. мед. наук, Департамент технического регулирования и аккредитации ЕЭК (Москва, Россия)

Самылина И.А., член-корр. РАН, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

Сычев Д.А., акад. РАН, д-р мед. наук, проф., РМАНПО (Москва, Россия)

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

Темердашев А.З., д-р хим. наук, КГУ (Краснодар, Россия)

Тулегенова А.У., д-р фарм. наук, проф., Фармакопейный комитет ЕАЭС (Москва, Россия)

Хохлов А.Л., акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ЯГМУ (Ярославль, Россия)

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

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

Якушева Е.Н., д-р мед. наук, проф., РязГМУ (Рязань, Россия)

Регистрация	Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-82931 от 14 марта 2022 г.
Исполнитель	ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5
Типография	ООО «Издательство «Триада»: 170034, Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 514
Тираж	100 экз. Цена свободная

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

Regulatory Research and Medicine Evaluation

Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya
Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv

A peer-reviewed research and practice journal

Founder and publisher:

Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation

Editor-in-Chief:

Valentina V. Kosenko,
Cand. Sci. (Pharm.)

Managing Editor:

Olga F. Fedotova
tel.: +7 (495) 121-06-00 (ext. 63-05)
Fedotovaof@expmed.ru

Executive Editor:

Olga Yu. Goykalova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

Science Editor:

Nina V. Molchan, Cand. Sci. (Pharm.)
Maria L. Khrushcheva, Cand. Sci. (Chem.)

Editor:

Sergey A. Kalinichev, Cand. Sci. (Pharm.)

Translation Editor:

Liubov A. Baltina

Postal address of the founder and editorial office:

8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051
tel.: +7 (499) 190-18-18
(ext. 63-41, 63-65);
vedomosti@expmed.ru

Founded in 2005

Published quarterly (four issues per year)

This is an open access journal indexed in Russian and international abstracting and indexing databases: Chemical Abstracts (CAS), Embase, Russian Science Citation Index (RSCI) including RSCI database, with the archive included in major aggregator databases, such as EBSCO, WorldCat,

DOAJ, Russian State Library, Google Academy (Google Scholar), Cyber-Leninka, BASE, Dimensions, DOAJ, Open Archives Initiative, ResearchBib, RSL, Socionet, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations, etc.

The journal's two-year RSCI impact factor is 0.610.

The journal is included in the official List of peer-reviewed scientific journals which guarantee acknowledgement of the published research by the State Commission that grants Candidate of Science and Doctor of Science degrees.

The journal covers advances in the areas of standardisation and quality control of various groups of medicines, development and improvement of analytical test procedures, approaches to evaluation of medicinal products, including assessment of medicine interchangeability, discusses new sophisticated methods of preclinical and clinical research, relevant issues of pharmacology, clinical medicine, rational use of medicines based on personalised medicine principles.

The journal publishes reviews and original articles, brief communications, guidance materials related to medical and pharmaceutical sciences and the following specialist fields:

- Pharmaceutical formulation and manufacturing; Pharmaceutical chemistry and pharmacognosy; Pharmaceutical management;
- Pharmacology, clinical pharmacology.

www.vedomostincesmp.ru

There is no fee for publishing an article and reviewing a manuscript
The content is licensed under Creative Commons Attribution International 4.0 CC-BY

Passed for printing:	28.09.2022
Date of publication:	30.09.2022
Subscription codes	provided in the catalogues of Pressa Rossii – 57942
	provided in the catalogues of Ural-Press agency – 57942

© Compilation, design. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 2022

Editorial Board

Editor-in-Chief

Valentina V. Kosenko, Cand. Sci. (Pharm.) (Moscow, Russia)

Deputy Editor-in-Chief

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

Igor A. Rodin, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Lomonosov Moscow State University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Executive Secretary

Maria L. Khrushcheva, Cand. Sci. (Chem.) (Moscow, Russia)

Editorial Board Members

Elena M. Astapenko, Cand. Sci. (Tech.), Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

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

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

Vladimir L. Gein, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Perm State Pharmaceutical Academy (Perm, Russia)

Sergey V. Glagolev, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

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

Irina V. Gravel, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Victor A. Dmitriev, Cand. Sci. (Med.), Association of the Russian Pharmaceutical Manufacturers (Moscow, Russia)

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

Svetlana N. Egorova, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Kazan State Medical University (Kazan, Russia)

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

Susanne Keitel, Ph.D. (Bonn, Germany)

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

Sergey N. Kovalenko, Dr. Sci. (Chem.), Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University (Kharkiv, Ukraine)

Natalia E. Kuz'mina, Dr. Sci. (Chem.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Research and Manufacturing Company 'HOME OF PHARMACY' (Leningrad Region, 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)

Irina P. Remezova, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute (Pyatigorsk, Russia)

Dmitry A. Rozhdestvensky, Cand. Sci. (Med.), Department for Technical Regulation and Accreditation of the Eurasian Economic Commission (Moscow, Russia)

Irina A. Samylina, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Dmitry A. Sychev, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow, Russia)

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

Azamat Z. Temerdashev, Dr. Sci. (Chem.), Kuban State University (Krasnodar, Russia)

Ardak U. Tulegenova, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Pharmacopoeial Committee of the Eurasian Economic Union

Alexander L. Khokhlov, Academician of RAS, 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)

Roza I. Yagudina, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

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

Registration	The journal is registered as mass media by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications. Certificate PI No. FS77-82931 dated March 14, 2022
Contract publisher	NEICON ISP LLC: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow 115114
Printing office	"Triada" publishing house: 9 Tchaikovsky Ave, office 514, Tver 170034
Print run	100 copies. Free price

		ЭКСПЕРТНОЕ МНЕНИЕ
<i>О.В. Гунар</i>	236	Практические аспекты учета и интерпретации результатов микробиологического анализа качества нестерильных лекарственных средств
<i>О.А. Матвеева</i>	241	Контроль остаточных количеств органических растворителей в фармацевтических субстанциях
		ГЛАВНАЯ ТЕМА: МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПРИМЕСЕЙ В ЭКСПЕРТИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
<i>Г.Е. Кодина, А.О. Малышева, А.А. Ларенков, А.Б. Брускин</i>	244	Присутствие возможных примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах и методы их определения
<i>Е.Л. Ковалева, К.С. Архипова, Е.А. Булова, А.А. Стралковская, О.О. Терентьева</i>	263	Контроль органических примесей в полусинтетических антибиотиках
<i>И.А. Прокопов, Е.Л. Ковалева, Е.Д. Минаева, А.Д. Автушенко</i>	277	Примеси в лекарственных средствах животного происхождения (актуальные вопросы)
<i>Я.Ф. Копытько, О.Л. Сайбель, А.Е. Бурова</i>	288	Определение содержания остаточных хлорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем терпеноиды
<i>А.Г. Солодовников, Е.И. Морковин, Д.В. Куркин, Е.Ю. Сорокина, Т.Ф. Перетолчина</i>	300	Особенности расчета допустимой ежедневной экспозиции контаминантов при производстве лекарственных препаратов на общих технологических линиях
<i>Р.А. Еникеева, Ю.В. Мирошниченко, В.Л. Багирова, О.А. Попова</i>	310	Контроль чистоты кислорода 93%, получаемого из воздуха методом короткоциклового безнагревной адсорбции
		ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
<i>О.В. Шредер, Н.Д. Бунятян, Д.В. Горячев, Р.Д. Сябаев, Г.Н. Енгальчева, А.Д. Кузнецова, В.В. Косенко</i>	315	Математическое прогнозирование эффективности лекарственных средств в доклинических исследованиях
		БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ <i>in vitro</i>
<i>Г.Ф. Василенко, Л.М. Красных, М.В. Журавлева, А.Б. Прокофьев, Г.И. Городецкая, В.В. Смирнов, Н.Д. Бунятян</i>	331	Сравнительная кинетика растворения тиюктовой кислоты для ряда воспроизведенных препаратов
		РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПО ПРОЦЕДУРЕ ЕАЭС
<i>Е.М. Рычихина</i>	341	Подготовка Модуля 1 регистрационного досье на лекарственное средство по процедуре ЕАЭС

Contents

Volume 12, No. 3 2022

		EXPERT OPINION
<i>O.V. Gunar</i>	236	Practical Aspects of Processing and Interpretation of the Results of Microbiological Analysis of the Quality of Non-Sterile Medicines
<i>O.A. Matveeva</i>	241	Control of Residual Organic Solvents in Active Substances
		MAIN TOPIC: IMPURITY ANALYSIS METHODS IN THE EVALUATION OF MEDICINES
<i>G.E. Kodina, A.O. Malysheva, A.A. Larenkov, A.B. Bruskin</i>	244	Possible Impurities in Radiopharmaceuticals and Corresponding Test Methods
<i>E.L. Kovaleva, K.S. Arkhipova, E.A. Bulova, A.A. Stralkovskaya, O.O. Terentieva</i>	263	Control of Organic Impurities in Semisynthetic Antibiotics
<i>I.A. Prokopov, E.L. Kovaleva, E.D. Minaeva, A.D. Avtushenko</i>	277	Impurities in Animal-Derived Medicines (Relevant Issues)
<i>Ya.F. Kopytko, O.L. Saybel, A.E. Burova</i>	288	Quantification of Residual Organochlorine Pesticides in Medicinal Plant Raw Materials Containing Terpenoids
<i>A.G. Solodovnikov, E.I. Morkovin, D.V. Kurkin, E.Yu. Sorokina, T.F. Peretolchina</i>	300	Considerations for Permitted Daily Exposure Calculation for Contaminants in Medicinal Products Manufactured in Shared Facilities
<i>R.A. Enikeeva, Yu.V. Miroshnichenko, V.L. Bagirova, O.A. Popova</i>	310	Control of the Purity of 93% Oxygen Obtained from the Air by Pressure Swing Adsorption
		PRECLINICAL STUDIES
<i>O.V. Shreder, N.D. Bunyatyan, D.V. Goryachev, R.D. Syubaev, G.N. Engalycheva, A.D. Kuznetsova, V.V. Kosenko</i>	315	Mathematical Prediction of the Efficacy of Medicinal Products in Preclinical Studies
		BIOPHARMACEUTICAL STUDIES <i>in vitro</i>
<i>G.F. Vasilenko, L.M. Krasnykh, M.V. Zhuravleva, A.B. Prokofiev, G.I. Gorodetskaya, V.V. Smirnov, N.D. Bunyatyan</i>	331	Comparative Dissolution Kinetics of Several Multisource Thioctic Acid Products
		REGISTRATION OF MEDICINES UNDER THE EAEU PROCEDURE
<i>E.M. Rychikhina</i>	341	Preparation of Module 1 of the Registration Dossier According to the EAEU Procedure



О.В. Гунар

Практические аспекты учета и интерпретации результатов микробиологического анализа качества нестерильных лекарственных средств

*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

Представлены материалы, касающиеся учета и интерпретации результатов микробиологического анализа качества лекарственных средств в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации и Фармакопеи Евразийского экономического союза. На примерах показано использование правил учета результатов и расчета количества аэробных микроорганизмов и микроскопических грибов на агаризованной питательной среде в чашках Петри и на мембранных фильтрах. Обсуждаются возможности и перспективы использования различных методов посева образцов и применения расчетных коэффициентов при интерпретации результатов. Рассмотрены подходы к повторному микробиологическому испытанию лекарственных средств в случае первичного выявления несоответствия, которое требует подтверждения для получения достоверного результата.

Ключевые слова: лекарственное средство; качество; микробиологическая чистота; учет результатов

Для цитирования: Гунар О.В. Практические аспекты учета и интерпретации результатов микробиологического анализа качества нестерильных лекарственных средств. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):236–240. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-236-240>

O.V. Gunar

Practical Aspects of Processing and Interpretation of the Results of Microbiological Analysis of the Quality of Non-Sterile Medicines

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

ABSTRACT

The article presents materials on processing and interpretation of the results of microbiological analysis of the quality of medicines in accordance with the State Pharmacopoeia of the Russian Federation and the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union. It exemplifies the use of the rules for processing test results and counting aerobic microorganisms and microscopic fungi on agar culture media in Petri dishes and on membrane filters. The author discusses the possibility of and prospects for applying various sample inoculation methods, as well as using calculation factors when interpreting their results. The text covers approaches to repeating microbiological testing of medicines to verify the reliability of a non-compliant first result.

Key words: medicinal product; quality; microbiological quality; processing of results

For citation: Gunar O.V. Practical aspects of processing and interpretation of the results of microbiological analysis of the quality of non-sterile medicines. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):236–240. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-236-240>

В Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) указано, что нестерильные лекарственные средства (ЛС), среди которых фармацевтические субстанции, лекарственные формы препаратов для внутреннего и наружного применения, не стерилизуемые в процессе производства (таблетки, капсулы, гранулы, суспензии, сиропы, мази, гели, суппозитории и др.), а также вспомогательные вещества могут быть контаминированы микроорганизмами¹. Согласно ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» в 1 г/мл указанных ЛС допускается некоторое лимитированное количество микроорганизмов при подтвержденном отсутствии жизнеспособных бактерий определенных видов, обоснованно представляющих высокую опасность для здоровья человека.

Под микробиологическим анализом ЛС мы понимаем совокупность лабораторных процедур, позволяющих получить качественную и количественную микробиологическую характеристику ЛС. Микробиологический анализ включает обширный комплекс лабораторных приемов, начиная от подготовки пробы и ее исследования в контролируемых условиях микробиологической лаборатории, заканчивая получением через фиксированный период инкубации необходимой информации о качестве испытуемого препарата. Важным завершающим этапом среди всего комплекса обозначенных мероприятий является процесс учета, расчетов и оценки полученных результатов, а также их адекватная интерпретация.

Применение правил расчета количества аэробных микроорганизмов и дрожжевых/плесневых грибов, выделяемых из ЛС, нами детально рассмотрено на примерах учета результатов количественного определения микроорганизмов после ежедневного просмотра посевов в течение установленного периода инкубации и окончательной фиксации результатов через 5–7 сут.

Для получения достоверных результатов были отобраны те чашки Петри с посевами, в которых число колоний бактерий не превышало

250, а колоний микроскопических грибов – 50. После посева образца ЛС методом мембранной фильтрации учет результатов проводили с использованием только тех чашек Петри, где число микроорганизмов на фильтрах не превышало 100 колоний, а грибов – 50 колоний. Если при учете результатов двух последующих разведений число колоний на чашках Петри находилось в указанных выше пределах, рассчитывали результаты из меньшего разведения. Если на чашках с питательной средой рост микроорганизмов отсутствовал, результаты отмечали следующим образом²:

- при посеве ЛС из разведения 1:10 – «в 1 г/мл образца менее 10 микроорганизмов (или грибов)»;
- при посеве ЛС в разведении 1:100 – «в 1 г/мл образца менее 100 микроорганизмов (или грибов)» и т.д.

При обнаружении роста микроорганизмов на чашках Петри выявленные единичные колонии фиксировали как микроорганизмы-контаминанты с учетом выполненного разведения образца. Например, на двух параллельных чашках Петри были обнаружены соответственно одна и две колонии плесневых грибов после посева образца из разведения в фосфатном буферном растворе 1:10 по 1 мл на чашку. После расчета получаем: $(2 + 1) / 2 \times 10 = 15$ колониеобразующих единиц в 1 г (КОЕ/г). При норме 10 КОЕ/г и с учетом коэффициента приемлемости 2 препарат соответствовал предъявляемым требованиям, а именно содержал не более 20 КОЕ/г.

Еще один пример учета результатов представлен в таблице 1.

Наиболее достоверным является результат, полученный при разведении образца 1:100, т.е. в 1 г ЛС обнаружено 4900 КОЕ аэробных микроорганизмов при норме с учетом коэффициента 2000, что недопустимо.

При отсутствии роста микроорганизмов на мембранных фильтрах (количество образца

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

² Там же.

Таблица 1. Учет результатов микробиологического анализа при различных разведениях испытуемого образца, подтверждающих брак**Table 1.** Processing of the microbiological analysis results obtained at various test sample dilutions and indicative of non-compliance

Разведение образца <i>Sample dilution</i>	Количество колоний, шт. <i>Number of colonies, pcs</i>	Результат испытания, КОЕ/г <i>Test result, CFU/g</i>	Соответствие требованиям <i>Compliance with the requirements</i>
1:10	Более 250 <i>More than 250</i>	Учет невозможен <i>Calculation is not possible</i>	–
1:100	48, 50	$(48 + 50) / 2 \times 100 = 4900$	Не соответствует <i>Not compliant</i>
1:1000	3, 5	$(3 + 5) / 2 \times 1000 = 4000$	Не соответствует <i>Not compliant</i>

Примечание. «–» – заключение о соответствии требованиям невозможно сделать, так как результат выходит за диапазон достоверного учета результатов.

Note. – It is impossible to draw a conclusion on compliance with the requirements, because the result is outside of the range for reliable calculations.

ЛС, профильтрованного через мембрану, составляло 1 г) результат записывали следующим образом: в 1 г образца микроорганизмы-контаминанты не обнаружены.

Если на питательной среде, предназначенной для выявления в основном бактериальной флоры (триптиказо-соевый агар, среда № 1), дополнительно были обнаружены колонии грибов, то их суммировали с числом выявленных бактерий, определяя и фиксируя в этом случае общее число аэробных микроорганизмов.

Количество микроорганизмов (N) в 1 г/мл, полученное чашечными агаровыми методами и мембранной фильтрацией, рассчитывали по формуле:

$$N = (\sum c) / n \times d \times 10, \quad (1)$$

где: $\sum c$ – количество колоний на всех чашках Петри; n – число чашек Петри; d – коэффициент разведения образца; 10 – коэффициент пересчета при проведении посева на чашку в объеме 0,1 мл (поверхностный метод посева).

Если объем образца, вносимого на чашку Петри, составлял 1,0 мл, то при расчете количества контаминантов в 1 г/мл коэффициент 10 в формуле (1) отсутствует.

В случае если при посеве 1,0 мл образца из разведения 1:100 (10^2) на двух чашках Петри выросло 168 и 215 колоний³, подставив полученные результаты в формулу (1), имеем следующее:

$$N = (168 + 215) / 2 \times 10^2 = 191,50 \times 10^2 = 1,9 \times 10^4.$$

Полученный результат округляли до 2 значащих цифр – 19000 и записывали как $1,9 \times 10^4$ КОЕ/г.

Число КОЕ используют в качестве единицы измерения количества микроорганизмов уже более 100 лет. В настоящее время такая аббревиатура продолжает оставаться актуальной во всех действующих фармакопеях мира, включая ГФ РФ. Однако важно помнить, что КОЕ всегда являлась лишь оценочной характеристикой числа микроорганизмов, присутствующих в образцах, а не их точным подсчетом. Концептуализация КОЕ в качестве применяемой аббревиатуры для учета колоний требует понимания процесса культивирования бактерий, дрожжевых или плесневых грибов на твердой питательной среде, а также знания всех условий, необходимых для получения одной дискретной колонии, поддающейся счету. Теоретически возможно, чтобы каждая жизнеспособная клетка выступала в качестве источника КОЕ, но на практике маловероятно, чтобы одна-единственная клетка привела к росту колонии в чашке. Ведь жизнеспособность клетки связана с ее размножением простым делением для образования колонии. Для чего необходим ряд условий, среди которых определенная питательная среда, правила инкубации, время и др. Однако в реальности отдельные клетки встречаются редко, поэтому колония, вырастающая на твердой питательной среде, как правило, происходит из скопления (множества) клеток, собранных вместе. Поэтому сигнал, основанный на КОЕ, имеет тенденцию занижать фактическое количество клеток, присутствующих в образце. Степень занижения результата может варьировать в зависимости от природы микроорганизма и способа подготовки образца. Ведь большинство микроорганизмов, присутствующих в ЛС, испытывают значительное

³ ОФС.1.2.4.0002.18. Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018. ОФС 2.1.6.6. Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество аэробных микроорганизмов. Фармакопея Евразийского экономического союза. 2020.

стрессовое воздействие в сухой, лишенной питательных элементов среде, при повышенной температуре, высоких значениях ионной силы, крайних показателях pH или в возможном присутствии противомикробных веществ, поэтому их выделение бывает сложно или даже невозможно осуществить. Очевидно, данные стрессовые факторы играют определенную роль в искажении результатов чашечного метода.

Именно для снижения ложных, заниженных результатов предложены варианты чашечного агарового метода (глубинный, двухслойный и глубинный модифицированный), которые целесообразно использовать при испытании различных лекарственных форм независимо от уровня микробной загрязненности. Поверхностный чашечный агаровый метод предпочтительнее использовать при испытании ЛС с объективно высоким уровнем микробной контаминации, например лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. Для сокращения сроков получения результатов количественного определения микроорганизмов, колонии которых склонны к сливному росту, используют модифицированный глубинный агаровый метод посева⁴.

Метод мембранной фильтрации для микробиологического анализа применяют только для тех ЛС, которые растворимы в воде и водных разбавителях. Целесообразно использование метода мембранной фильтрации для препаратов, расфасованных в большие емкости (более 100 мл), а также обладающих антимикробным действием, для нейтрализации которого необходима промывка значительным количеством (не более 500 мл) промывных жидкостей.

Метод наиболее вероятных чисел (НВЧ) используется для количественного определения микроорганизмов-контаминантов в ЛС с низким уровнем контаминации, а главное — в том случае, если другие методы не дают достоверного результата. Принято считать, что метод НВЧ менее точен и недостаточно чувствителен, особенно при определении плесневых грибов, поэтому предпочтительнее применять этот метод только для подсчета аэробных бактерий по таблице, представленной в фармакопее⁵.

Для интерпретации результатов испытания в ГФ РФ, фармакопее ЕАЭС и в ведущих

зарубежных фармакопеях⁶ указаны цифровые коэффициенты приемлемости, используемые при оценке количественного содержания микроорганизмов-контаминантов в ЛС. Эти коэффициенты позволяют однозначно определить, когда контролируемый образец следует считать не соответствующим требованиям. Для лекарственных препаратов и субстанций всех категорий, за исключением категории 4 (лекарственные растительные препараты, ЛРП), результаты интерпретируют следующим образом:

- при норме 10 КОЕ в 1 г — максимально допустимое количество микроорганизмов = 20;
- при норме 10² КОЕ в 1 г — максимально допустимое количество микроорганизмов = 200;
- при норме 10³ КОЕ в 1 г — максимально допустимое количество микроорганизмов = 2000 и т.д.

В связи с тем что лекарственные растительные препараты, представляющие собой лекарственные растения или их части (листья, цветки, трава, плоды, семена, кора, корни, корневища и др.), и фармацевтические субстанции растительного происхождения являются неоднородными в отношении количества аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов, результаты микробиологического испытания интерпретируют следующим образом:

- при норме 10⁷ КОЕ в 1 г — максимально допустимое количество микроорганизмов = 5×10⁷;
- при норме 10⁴ КОЕ в 1 г — максимально допустимое количество микроорганизмов = 5×10⁴ и т.д.

Благодаря указанным коэффициентам приемлемости установление несоответствия ЛС приобрело более четкие формы в несколько облегченном формате, а именно: ЛС бракуется только в том случае, если выявленное количество микроорганизмов-контаминантов в 1 г/мл образца превышает допустимые пределы в 2 раза для ЛС на основе субстанций синтетического происхождения или в 5 раз для лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе.

Важным аспектом анализа качества ЛС по показателю «Микробиологическая чистота», особенно при подозрении на несоответствие, является этап повторения испытания. В ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» указано,

⁴ ОФС.1.2.4.0002.18. Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁵ Там же.

ОФС 2.1.6.6. Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество аэробных микроорганизмов. Фармакопея Евразийского экономического союза. 2020.

United States Pharmacopeia. USP44-NF39. Rockville, MD; 2021.

European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2021.

⁶ Там же.

что в случае выявления контаминации ЛС повторяют тот раздел испытания, результаты которого не соответствуют требованиям нормативной документации.

Главный вопрос при выполнении анализа ЛС по микробиологическим показателям возникает при первичном выявлении роста микроорганизмов на питательных средах, то есть микробиолог фиксирует видимые признаки микробного роста, а не химического взаимодействия испытуемого образца с питательной средой. В некоторых случаях такие признаки легко спутать. На жидких питательных средах могут быть обнаружены опалесценция, помутнение, осадок и др. На чашках Петри с посевами на твердых питательных средах обнаруживают колонии бактерий и (или) плесневых грибов, количество которых превышает предъявляемые нормативные требования.

Такая ситуация требует расследования причин ее возникновения, и возможно, в дальнейшем приведет к установлению брака препарата. В ГФ РФ причины возможного несоответствия рассматриваются в ОФС «Стерильность»⁷, тогда как перечисленные ниже ошибки полностью можно отнести и к анализу микробиологической чистоты ЛС. Когда результат первоначального испытания признан недействительным по причинам, не связанным с исследуемым образцом, необходимо подтвердить, что в ходе испытания были допущены одна или несколько из следующих ошибок:

- 1) получены неудовлетворительные результаты микробиологического мониторинга окружающей среды (воздушной среды, поверхностей и рук персонала и др.);
- 2) выявлены методические ошибки при поведении испытания;
- 3) обнаружен рост микроорганизмов при проверке стерильности растворителя/разбавителя («отрицательный» контроль);
- 4) используемые питательные среды нестерильны и (или) их ростовые свойства неудовлетворительны или не доказаны;

5) выявлены ошибки в ходе процесса стерилизации материалов.

При выявлении хотя бы одного из перечисленных недочетов испытание ЛС повторяют на удвоенном количестве образцов препарата. Однако если речь идет о количественном определении микроорганизмов-контаминантов, содержание которых в том или ином ЛС регламентировано, необходимо, чтобы результаты находились в ранее обсуждаемом диапазоне применяемой методики (например, не более 250 колоний аэробных микроорганизмов на чашке Петри). При превышении указанных пределов и невозможности достоверного учета результатов необходимо повторить испытание с дополнительным разведением испытуемого образца.

Таким образом, использование рассмотренных правил учета результатов микробиологического испытания качества ЛС позволит получить достоверную оценку, однозначную трактовку, а также более стандартизовано подойти к расчетам и оформлению полученных данных.

При выборе критериев для интерпретации результатов микробиологического испытания ЛС и установлении несоответствия испытуемого образца следует использовать гармонизированные с требованиями ведущих фармакопей коэффициенты приемлемости. ЛС бракуется только в том случае, если выявленное количество микроорганизмов-контаминантов в 1 г/мл образца превышает допустимые пределы в 2 раза для ЛС на основе субстанций синтетического происхождения или в 5 раз для лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе.

При первичном обнаружении несоответствия образца предъявляемым требованиям необходимо выявить причины и документально подтвердить те из них, которые не связаны с испытуемым объектом. Повторение анализа проводится при подтверждении брака, а также в том случае, когда превышен диапазон определения применяемой методики.

По всем вопросам просим пользоваться формой обратной связи, размещенной на сайте <https://www.regmed.ru/feedback.aspx>

ОБ АВТОРЕ / AUTHOR

Гунар Ольга Викторовна, начальник лаборатории микробиологии, д-р фарм. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

Olga V. Gunar, Head of the Microbiology Laboratory, Dr. Sci. (Pharm.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

⁷ ОФС.1.2.4.0003.15. Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

УДК 615.07

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-241-243>

Методические материалы | Methodical approaches



О.А. Матвеева

Контроль остаточных количеств органических растворителей в фармацевтических субстанциях

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

Органические растворители, которые используются или образуются в процессе производства фармацевтических субстанций, в зависимости от класса токсичности могут представлять опасность для здоровья человека, в связи с чем они подлежат обязательному контролю с установлением предельных норм содержания. Приведены требования и подходы к оценке и установлению предельного содержания органических растворителей в фармацевтических субстанциях, что позволит заявителям определить необходимость нормирования содержания остаточных органических растворителей и включения соответствующего показателя в нормативную документацию или спецификацию либо представления обоснования отсутствия данного показателя для обеспечения безопасности лекарственных средств.

Ключевые слова: фармацевтическая субстанция; органические растворители; допустимое суточное воздействие; нормативная документация; спецификация

Для цитирования: Матвеева О.А. Контроль остаточных количеств органических растворителей в фармацевтических субстанциях. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):241–243. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-241-243>

O.A. Matveeva

Control of Residual Organic Solvents in Active Substances

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

ABSTRACT

Depending on the class of toxicity, organic solvents used or formed during the production of active substances may pose risks to human health. Therefore, residual organic solvents must be controlled, and limits for their content must be established. The article covers requirements and approaches to the assessment and establishment of maximum permissible quantities of residual organic solvents in active substances. This will help applicants decide on the need to either include the residual solvent control into product specification files or justify its absence in order to ensure the safety of medicines.

Key words: active substance; organic solvents; permissible daily exposure; product specification file; specification

For citation: Matveeva O.A. Control of residual organic solvents in active substances. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):241–243. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-241-243>

© О.А. Матвеева, 2022

Под остаточными органическими растворителями подразумеваются летучие растворители, которые используются или образуются на любой стадии производства фармацевтических субстанций (ФС), вспомогательных веществ или лекарственного препарата и полностью не удаляются после завершения технологического процесса.

Требования к контролю органических растворителей при оценке качества ФС регламентированы в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. в ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители» (далее – ОФС.1.1.0008.15) и ОФС.1.1.0006.15 «Фармацевтические субстанции» (далее – ОФС.1.1.0006.15) в рамках национального законодательства, а также Фармакопеей Евразийского экономического союза (ФЕАЭС) в ОФС 2.3.2.0 «Остаточные органические растворители» (далее – ОФС 2.3.2.0) при обращении лекарственных средств по правилам Евразийского экономического союза. В спецификации или нормативной документации на ФС должен быть предусмотрен контроль органических растворителей при их использовании в процессе производства, очистке ФС или в том случае, если они образуются в процессе их производства, либо в регистрационном досье представлено обоснование отсутствия необходимости данного контроля.

Органические растворители разделены на 3 класса по степени риска их токсического воздействия на организм человека. Количественно эта величина оценивается по допустимому суточному воздействию (ДСВ) – максимально приемлемому суточному воздействию остаточного органического растворителя в лекарственном препарате¹.

1-й класс – высокотоксичные растворители (гепатотоксичные канцерогены), применяемые в фармацевтическом производстве в исключительных случаях, когда невозможно избежать их использования. К ним относятся бензол, 1,1-дихлорэтан, 1,2-дихлорэтан, 1,1,1-трихлорэтан и четыреххлористый углерод. В регистрационном досье на лекарственное средство в обязательном порядке представляется обоснование использования растворителей 1-го класса в процессе производства, например необходимость для обеспечения протекания специфической химической реакции или желаемый профиль примесей может быть получен только при использовании такого растворителя.

Согласно ОФС.1.1.0008.15 и ОФС 2.3.2.0 каждый растворитель 1-го класса должен быть идентифицирован и определен количественно с включением соответствующего показателя в нормативную документацию или спецификацию на ФС. ДСВ данных растворителей не должно превышать значения, указанные в ОФС.1.1.0008.15 и ОФС 2.3.2.0.

2-й класс – негепатотоксичные растворители. Растворители, использование которых нужно ограничивать, их нормирование в лекарственных средствах обусловлено максимально допустимым количеством вещества, попадающего в организм в составе суточной дозы лекарственного средства. Перечень растворителей 2-го класса, а также нормы их содержания приведены в ОФС.1.1.0008.15 и ОФС 2.3.2.0. Следует отметить некоторые различия норм, приведенных в отечественной фармакопее и ФЕАЭС. Так, в ОФС 2.3.2.0 метилизобутилкетон отнесен к растворителям 2-го класса с установлением ДСВ 45,0 мг/сут (4500 ppm), согласно же ГФ РФ (ОФС.1.1.0008.15) метилизобутилкетон относится к растворителям 3-го класса (его содержание не должно превышать 50 мг/сут). Также в ОФС 2.3.2.0 приведены методы установления предельного воздействия остаточных органических растворителей и способы расчета (2 способа) предельного содержания растворителей 2-го класса, которые необходимо использовать для установления предельного содержания данных растворителей в ФС, содержащих несколько действующих веществ или вспомогательные вещества. В ОФС.1.1.0008.15 такие указания отсутствуют.

В соответствии с ОФС.1.1.0006.15 в нормативной документации или спецификации должен быть предусмотрен контроль остаточного содержания растворителей 2-го класса, используемых не на последней стадии производства ФС, либо должно быть приведено обоснование отсутствия необходимости такого контроля. Если растворители 2-го класса токсичности используются на последней стадии производства субстанции, каждый из них должен быть определен количественно с включением соответствующего показателя в нормативную документацию или спецификацию на ФС. В качестве обоснования в регистрационном досье на лекарственное средство может быть представлена методика определения и результаты, полученные на 6 опытно-промышленных или 3 промышленных сериях ФС, показывающие, что содержание растворителя не превышает 10% от ДСВ. Данное

¹ ОФС 2.3.2.0. Остаточные органические растворители. Фармакопея Евразийского экономического союза.

указание приведено в Дополнениях к руководству по контролю органических растворителей Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency)².

3-й класс – растворители низкой токсичности, к ним относятся растворители с низким потенциалом токсичности для человека. Предельное содержание таких растворителей не устанавливается. Согласно ОФС.1.1.0008.15 и ОФС 2.3.2.0 ДСВ в лекарственных средствах растворителей 3-го класса токсичности составляет 50 мг/сут, содержание таких растворителей допускается и в более высоких пределах. В ОФС 2.3.2.0 в перечень растворителей 3-го класса дополнительно включен триэтиламин, который отсутствует в ОФС.1.1.0008.15.

Для определения растворителей 3-го класса, если их содержание не превышает 0,5%, допус-

кается использование неспецифического метода «Потеря в массе при высушивании». В случае если их содержание составляет более 0,5%, каждый растворитель должен быть идентифицирован и определен количественно с использованием специфического метода и включением соответствующего показателя в нормативную документацию или спецификацию на ФС. В ФС контроль содержания растворителей 3-го класса токсичности необходим, если они используются на последней стадии производства.

Следует отметить, что в ОФС.1.1.0008.15 и ОФС 2.3.2.0 приведены сведения о группе растворителей, для которых нет достоверных сведений о возможном риске для здоровья человека. Тем не менее в случае их использования производитель сам должен обосновать их остаточное содержание в ФС.

По всем вопросам просим пользоваться формой обратной связи, размещенной на сайте <https://www.regmed.ru/feedback.aspx>

ОБ АВТОРЕ / AUTHOR

Матвеева Оксана Анатольевна, начальник Управления № 3 по качеству лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8647-3305>

Oksana A. Matveeva, Head of Division No. 3 for Medicinal Products Quality of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8647-3305>

² Annexes to: CPMP/ICH/283/95 Impurities: Guideline for residual solvents & CVMP/VICH/502/99 Guideline on impurities: residual solvents. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/annexes-cpmp/ich/283/95-impurities-guideline-residual-solvents-cvmp/vich/502/99-guideline-impurities-residual-solvents_en.pdf

ФАРМАКОПЕЙНЫЕ СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России предлагает для приобретения фармакопейные стандартные образцы 136 наименований, включая:

- ФСО химического происхождения,
- ФСО биологического происхождения,
- ФСО природного происхождения,
- ФСО для определения подлинности.

Информация о приобретении ФСО размещена на сайте Научного центра по ссылке: https://www.regmed.ru/content/page/Registry-SPhRS_lemma-biol.



Российские фармакопейные стандартные образцы — это доступность, надежность и уверенность в качестве лекарственных средств!



Г.Е. Кодина 
А.О. Малышева 
А.А. Ларенков 
А.Б. Брускин 

Присутствие возможных примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах и методы их определения

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

✉ Кодина Галина Евгеньевна; gkodina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Основными показателями качества любого радиофармацевтического лекарственного препарата, которые обеспечивают его эффективность и безопасность и при этом отсутствуют в спецификациях других лекарственных средств, являются подлинность по радионуклиду, активность, радионуклидная чистота и радиохимическая чистота. Цель работы — анализ возможности образования различных видов примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах и методов определения этих примесей. Рассмотрены препараты на основе радионуклидов различных групп: технеция-99м и рения-188; изотопов йода и фтора-18; галлия-68 и некоторых других радионуклидов-металлов, применяемых в тераностических схемах «радионуклидная диагностика / радионуклидная терапия». Проанализированы источники образования радионуклидных, радиохимических и химических примесей, их влияние на качество визуализации и дозиметрические характеристики радиофармпрепаратов, различные подходы к методам обнаружения и количественного определения примесей, фармакопейные требования к качеству радиофармпрепаратов и результаты исследований, опубликованные в научной литературе. Показана необходимость разработки и аттестации отечественных стандартных образцов для определения показателей качества радиофармацевтических лекарственных препаратов в рамках гармонизации отечественной фармакопеи с Фармакопеей Евразийского экономического союза и Европейской фармакопеей.

Ключевые слова: радионуклид; радиофармацевтический лекарственный препарат; радионуклидные примеси; радиохимические примеси; химические примеси

Для цитирования: Кодина Г.Е., Малышева А.О., Ларенков А.А., Брускин А.Б. Присутствие возможных примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах и методы их определения. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(3):244–262. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-244-262>

G.E. Kodina 
A.O. Malysheva 
A.A. Larenkov 
A.B. Bruskin 

Possible Impurities in Radiopharmaceuticals and Corresponding Test Methods

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

✉ Galina E. Kodina; gkodina@yandex.ru

ABSTRACT

The main quality attributes of radiopharmaceuticals that ensure their effectiveness and safety and are unique to their specifications are activity, radionuclide identity, radionuclide purity, and radiochemical purity. The aim of this study was to analyse the possibility of formation and methods for determination of various impurities in radiopharmaceuticals based on radionuclides of several groups: technetium-99m and rhenium-188; iodine and fluorine-18 isotopes; and gallium-68 and some other metallic radionuclides used in theranostic schemes combining radionuclide diagnostics and radionuclide therapy. The article analyses the sources for the formation of radionuclide, radiochemical, and chemical impurities; the influence of these impurities on visualisation quality and dosimetric characteristics of radiopharmaceuticals; various approaches to the methods of impurity detection and quantification; compendial requirements to the quality of radiopharmaceuticals; and research results reported in publications. The article demonstrates the need for the development and certification of Russian reference standards for testing quality attributes of radiopharmaceuticals as part of harmonisation of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation with the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union and the European Pharmacopoeia.

Key words: radionuclide; radiopharmaceutical; radionuclide impurities; radiochemical impurities; chemical impurities

For citation: Kodina G.E., Malysheva A.O., Larenkov A.A., Bruskin A.B. Possible impurities in radiopharmaceuticals and corresponding test methods. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regul'yatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):244–262. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-244-262>

Введение

По определению, принятому к настоящему времени в соответствии с рекомендациями Евразийской экономической комиссии¹, «радиофармацевтический лекарственный препарат» — лекарственный препарат, содержащий в готовом для применения состоянии один или несколько радионуклидов (радиоактивных изотопов) в качестве действующего вещества или в составе действующего вещества. Основными показателями качества радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП)², которые обеспечивают его эффективность и безопасность и при этом отсутствуют

в спецификациях других лекарственных средств, являются: подлинность по радионуклиду; общая активность (радиоактивность)³ упаковки и (или) при необходимости объемная (удельная, молярная) активность; радионуклидная чистота (РНЧ); радиохимическая чистота (РХЧ). Активность и РНЧ меняются во времени с момента приготовления препарата в соответствии с периодами полураспада ($T_{1/2}$) радионуклидов, входящих в состав РФЛП. РХЧ должна оставаться постоянной (идеальный вариант) или незначительно меняться в допустимых пределах в течение указанного периода хранения РФЛП.

¹ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 12.01.2021 № 2 «Об актуализированном Информационном справочнике понятий, применяемых в рамках ЕАЭС в сфере обращения лекарственных средств».

² Определения терминов см.: ОФС.1.11.0001.15 Радиофармацевтические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

³ В нормативных документах и научной периодике как государств ЕАЭС, так и других стран встречаются оба термина, хотя в начале истории открытия и применения радиоактивности термин «радиоактивность» применялся к свойству некоторых веществ претерпевать радиоактивный распад, а термин «активность» применяли для количественного выражения числа распадов в единицу времени. Поэтому далее в тексте применяется именно термин «активность».

Необходимость стандартизации диагностических РФЛП по РНЧ объясняется двумя основными причинами. Методики визуализации основаны на регистрации основного радионуклида по одной из его характерных γ -линий (или γ -квантов аннигиляции для позитрон-излучающих радионуклидов). Присутствие в составе препарата других радионуклидов с собственными γ -линиями уменьшает разрешение изображения. Особенно нежелательны примеси радионуклидов, испускающих более жесткие γ -кванты по сравнению с основным, хотя правильная коллимация может уменьшить их влияние. Кроме того, присутствие примесных радионуклидов увеличивает лучевую нагрузку на пациента. В зависимости от характеристик ядерного распада ($T_{1/2}$, типа и энергии излучения) и биологической активности некоторые примеси могут создавать значительный вклад в общую радиационную дозу. Нежелательные эффекты усиливаются со временем, если примесные радионуклиды имеют большие $T_{1/2}$, чем основной нуклид, а это, в свою очередь, ограничивает срок годности РФЛП.

Радионуклидные примеси (РНП) — примеси других радионуклидов, отличных от основного (изотопы как того же, так и других элементов). Количество РНП выражают процентным отношением активности примеси к активности основного нуклида на определенную дату и, при необходимости, время. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ)⁴: «Радионуклидные примеси, активность которых составляет не более 0,01% от активности основного радионуклида в течение всего срока годности, в фармакопейной статье ... не приводят, кроме особых случаев. Указание о предельном содержании примеси (суммы примесей, если применимо) в фармакопейной статье ... обязательно».

Основным источником РНП являются продукты побочных ядерных реакций при облучении исходного нерадиоактивного сырья в реакторе или циклотроне. Поэтому обычно для получения медицинских радионуклидов используют изотопно-обогащенные мишенные материалы, а технологический цикл выделения целевого радионуклида предусматривает его многократную очистку от примесных радионуклидов. В РФЛП, получаемых на основе радионуклидных генераторов, основной примесью является

материнский радионуклид, вероятность проскока которого в элюат генератора всегда есть. Для контроля РФЛП на подлинность по радионуклиду, идентификации и количественного определения РНП применяют методы ядерной спектрометрии. Контроль препарата на содержание РНП не выполняют, если в документе на исходное радиоактивное сырье указано содержание РНП. Кроме того, если $T_{1/2}$ основного радионуклида в РФЛП очень короток, проведение испытания на РНЧ затруднено, поэтому испытание заключается в контроле производственного процесса и выборочном контроле отдельных проб на содержание РНП после полного распада основного радионуклида.

Радиохимическая чистота (РХЧ) — отношение активности основного радионуклида в конкретной химической форме определенного вещества, обеспечивающего необходимую фармакокинетику РФЛП и доставку радионуклида в патологический очаг (или иногда ядро-мишень), к общей активности радионуклида в этом препарате, выраженное в процентах. Радиохимические примеси (РХП) — примеси химических соединений, отличных от основного вещества, составляющего препарат, но содержащих тот же радионуклид. Величину РХП выражают в процентах к общей активности радионуклида в препарате. РХП в готовом РФЛП могут образоваться в результате присутствия мешающих химических соединений, применяемых в производстве радионуклида; побочных продуктов последующих химических операций; неполного разделения меченого соединения, исходных компонентов и промежуточных продуктов; химических изменений в результате хранения.

Для определения РХЧ и РХП могут быть использованы различные физико-химические методы: бумажная, тонкослойная (ТСХ), газовая, высокоэффективная жидкостная (ВЭЖХ) хроматография, электрофорез и др. Наиболее часто используются ТСХ и бумажная хроматография. В общем виде методы анализа описаны в ГФ РФ⁵. Значительное развитие в контроле радиохимической чистоты РФЛП с конца 1990-х гг. получил метод высокоэффективной или быстрой тонкослойной хроматографии (БТСХ, в английской аббревиатуре ITLC) [1]. Этот метод позволяет значительно сократить время анализа, и его активное применение началось с развитием позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ),

⁴ ОФС.1.11.0001.15 Радиофармацевтические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

⁵ ОФС.1.2.1.2.0001.15 Хроматография; ОФС.1.2.1.2.0002.15 Хроматография на бумаге; ОФС.1.2.1.2.0003.15 Тонкослойная хроматография. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

использующей ультракороткоживущие радионуклиды.

Примеси химических элементов в РФЛП кроме токсикологической опасности, с которой связывают их присутствие в любых лекарственных средствах⁶, могут препятствовать образованию комплекса радионуклида с соединением, обеспечивающим таргетность получаемого препарата. Концентрации биологически активных соединений в составе РФЛП крайне малы и составляют несколько миллиграммов, а в препаратах на основе антител или рецепторспецифичных лигандов — несколько микрограммов. Поэтому для достижения высокого выхода в реакции мечення исходные растворы радионуклидов в идеальном случае не должны содержать примесей других элементов и стабильных изотопов целевого радионуклида, а требуемое количество активности должно находиться в малом объеме раствора. Часто минимальные дозировки составляют 500–2000 МБк в объеме 50–100 мкл при удельной активности не менее 1000 МБк/мкг. Иногда в спецификациях на раствор радионуклида нормативы по примесям указывают в мкг/МБк (ГБк) на установленную дату поставки, а допустимым уровнем считают не более 1–2 мкг/ГБк.

Для некоторых РФЛП, получаемых с применением экстракционных схем разделения и очистки, а также в результате многостадийного органического синтеза, актуальной является оценка содержания остаточных органических растворителей.

Цель работы — анализ возможности образования различных видов примесей в радиофармацевтических лекарственных препаратах и методов определения этих примесей.

Радионуклиды, применяемые для получения РФЛП, относятся к элементам различных групп Периодической системы химических элементов. Это обуславливает различные методы синтеза соответствующих препаратов и различные подходы к методам обнаружения и количественного определения примесей. В обзоре наиболее широко применяемые в настоящее время РФЛП сгруппированы по радионуклидам следующим образом: технеций-99м и рений-188; фтор-18 и изотопы йода; галлий-68 и некоторые другие радионуклиды-металлы, применяемые в терапевтических схемах «радионуклидная диагностика / радионуклидная терапия».

Препараты на основе технеция-99м и рения-188

РФЛП технеция-99м более полувека остаются наиболее широко применяемой группой лекарственных средств для радионуклидной диагностики. Преимущества этого радионуклида для применения в ядерной медицине описаны в литературе [2–6]. ^{99m}Tc ($T_{1/2} = 6$ ч) является дочерним продуктом распада ^{99}Mo . Его получают в виде изотонического раствора, содержащего натрия пертехнетат, ^{99m}Tc в концентрации $\sim 10^{-7}$ – 10^{-8} моль/л при элюировании радионуклидного генератора $^{99m}\text{Tc}/^{99}\text{Mo}$. Этот раствор (элюат) сам является РФЛП, применяемым для сцинтиграфии щитовидной железы и некоторых других исследований, а также для изготовления других РФЛП для однофотонной эмиссионной томографии (ОФЭКТ). Различные РФЛП технеция-99м получают путем введения элюата из генератора $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ во флакон с лиофилизатом, содержащим восстановитель, комплексующий агент и вспомогательные вещества. Иногда требуется инкубирование реакционной смеси при комнатной температуре или нагревании. В результате происходит реакция восстановления и образования комплекса ^{99m}Tc . Возможными примесями в РФЛП технеция-99м являются:

- РНП, присутствующие в растворе ^{99}Mo , которые не были удалены в процессе производства этого радионуклида, а также в процессе зарядки генератора; эти примеси, а также ^{99}Mo могут попадать в препарат вместе с элюатом;
- химические примеси металлов, которые присутствуют в технологических растворах при зарядке генератора;
- продукты, образующиеся в результате неполного восстановления или обратимого окисления восстановленного ^{99m}Tc — ионы свободного пертехнетата, технетата и др.;
- продукты, образующиеся в результате гидролиза соединений восстановленного ^{99m}Tc , химическая структура которых не установлена и которым условно присвоено наименование «гидролизированный восстановленный технеций-99м» (ГВТ);
- комплексы радионуклида с продуктами деградации лигандов, которые не обладают тропностью к диагностируемому органу и искажают результаты визуализации.

⁶ Проекты ОФС и ФС для публичного обсуждения. Министерство здравоохранения Российской Федерации. <https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/10/stranitsa-858/proekty-ofs-i-fs-dlya-publichnogo-obsuzhdeniya-2021>
ОФС_Элементные_примеси_25.06.2021.

Радионуклидные примеси в препаратах технеция-99м

^{99}Mo является наиболее важной РНП из-за возможного его проскока в элюат в течение периода эксплуатации генератора.

Для получения ^{99}Mo в ядерных реакторах используются две основные реакции: реакция деления урана-235 — $^{235}\text{U}(n, f)^{99}\text{Mo}$ и реакция радиационного захвата $^{98}\text{Mo}(n, \gamma)^{99}\text{Mo}$. При делении ^{235}U помимо ^{99}Mo (выход 6,1%) образуются более 20 долгоживущих радионуклидов с $T_{1/2}$ от 0,1 до 60 сут. При этом наряду с γ -излучающими радионуклидами образуются α -излучающие (например, ^{239}Pu). В элюатах коммерческих генераторов $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, изготовленных на основе осколочного (делительного, fission) ^{99}Mo , можно обнаружить примеси ^{95}Zr , ^{124}Sb , ^{131}I , иногда ^{132}I , ^{140}La , ^{103}Ru , $^{110\text{m}}\text{Ag}$ и др. Возможными причинами загрязнения элюатов генераторов $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ на основе осколочного ^{99}Mo являются нарушения технологии и (или) неэффективные способы разделения, используемые в производстве ^{99}Mo , а также недостаточная промывка генератора при его производстве. Состав и требования к предельному содержанию РНП в элюатах генераторов $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ описаны в научной литературе [2–5]. В таблице 1 представлены пределы содержания РНП в элюатах генераторов $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (fission ^{99}Mo) в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи⁷ и Фармакопеи США⁸. Предельное содержание примесей

в РФЛП согласно требованиям обеих фармакопей одинаково за исключением примеси ^{99}Mo . Суммарная активность других γ -излучающих радионуклидов, включая ^{99}Mo , ^{131}I , ^{132}I , ^{103}Ru , и ^{89}Sr , не должна превышать 0,5 мКи на 1 мКи $^{99\text{m}}\text{Tc}$ на время введения пациентам. Это важно с точки зрения неперевышения допустимых пределов медицинского облучения. Например, примесь ^{134}Cs в РФЛП может создавать дозу облучения, составляющую 50–85% от дозы $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ⁹.

При получении ^{99}Mo путем облучения природного Мо или обогащенного по изотопу ^{98}Mo образуется значительно меньше примесных радионуклидов (в основном это другие изотопы молибдена и продукты их распада), а также радиоактивных отходов. Элюаты генераторов на основе облученного обогащенного молибдена (активационный, activation, non-fission ^{99}Mo) значительно чище и нормируются РНП только ^{99}Mo ($\leq 0,1\%$) и других γ -излучающих примесей суммарно ($\leq 0,01\%$). В документации производителя отечественных генераторов установлены более жесткие требования (не более 0,01% ^{99}Mo и не более 0,001% других γ -излучающих примесей суммарно)¹⁰.

Наряду с генераторами $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ хроматографического типа значительное развитие получила технология экстракционного извлечения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ метилэтилкетом (МЭК) из щелочных растворов ^{99}Mo с последующим упариванием экстракта досуха и растворением остатка в изотоническом

Таблица 1. Предельное содержание радионуклидных примесей в растворе $\text{NaTc}[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{O}_4$ (fission ^{99}Mo)

Table 1. Limits for radionuclide impurities in $^{99\text{m}}\text{Tc}/\text{NaTcO}_4$ solution (fission ^{99}Mo)

Радионуклидная примесь <i>Radionuclide impurity</i>	Содержание, % от общей активности, не более <i>Limit, % of the total activity, not more than</i>	
	Фармакопея США <i>US Pharmacopeia</i>	Европейская фармакопея <i>European Pharmacopoeia</i>
^{99}Mo	0,015	0,1
^{131}I	0,005	0,005
^{103}Ru	0,005	0,005
^{89}Sr	6×10^{-5}	6×10^{-5}
^{90}Sr	6×10^{-6}	6×10^{-6}
α -Излучающие примеси <i>α-Emitting impurities</i>	1×10^{-7}	1×10^{-7}
Другие γ -излучающие примеси <i>Other γ-emitting impurities</i>	0,01	0,01

⁷ Monograph 01/2008:0124 Sodium pertechnetate ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) injection (fission). European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

⁸ Monograph 23288-60-01 Sodium pertechnetate Tc 99m injection. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44-NF39. Rockville, MD; 2021.

⁹ Скуридин В.С. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов. Томск: Изд-во Томского политехнического университета; 2013.

¹⁰ Натрия пертехнетат, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ из генератора. Каталог: радиофармпрепараты и изделия медицинского назначения, с. 6. АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова», г. Обнинск. www.karpovipc.ru

растворе натрия хлорида. В растворе экстракционного $\text{NaTc}^{99\text{m}}\text{O}_4$ содержание РНП на порядок ниже, чем в элюате хроматографических генераторов: примесь $^{99}\text{Mo} \leq 0,002\%$ и других РНП $\leq 10^{-4}\%$ от активности $^{99\text{m}}\text{Tc}$ на дату и время изготовления [6].

При работе с генераторами $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ необходимо учитывать, что распад $^{99\text{m}}\text{Tc}$ приводит к быстрому накоплению носителя ^{99}Tc (и снижению удельной активности $^{99\text{m}}\text{Tc}$). Количество ^{99}Tc в элюате зависит от времени с момента предыдущего элюирования. Например, элюат генератора, полученный через 3 ч после предыдущего элюирования, будет содержать 73% атомов $^{99\text{m}}\text{Tc}$. В элюате, полученном через 72 ч после перерыва (в выходные), количество атомов ^{99}Tc увеличится более чем в 100 раз. В результате в дозе препарата, вводимой пациенту, могут присутствовать неприемлемые уровни TcO_4^- -ионов [7]. Поскольку ^{99}Tc конкурирует с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ в реакциях мечения, общее количество атомов ^{99}Tc влияет на эффективность мечения таких РФЛП, как меченные $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -эритроциты, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -экзаметазим, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пентетат, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -серный коллоид (SC), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -мертиатайд и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -сестамиби¹¹. Поэтому, как правило, инструкции по эксплуатации генераторов различных производителей содержат указание о необходимости промывки генератора, который не эксплуатировался более суток.

После глобального кризиса с поставками ^{99}Mo , вызванного аварийными ситуациями практически одновременно в 2008–2010 гг. на нескольких реакторах [8], повысился интерес к производству ^{99}Mo и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ в циклотроне. Наиболее подходящими реакциями для получения ^{99}Mo являются реакции $^{100}\text{Mo}(p, pn)^{99}\text{Mo}$ и $^{100}\text{Mo}(d, p2n)^{99}\text{Mo}$, а для получения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ реакции $^{100}\text{Mo}(p, 2n)^{99\text{m}}\text{Tc}$ и $^{100}\text{Mo}(d, 3n)^{99\text{m}}\text{Tc}$. В 2011–2012 гг. в Канаде был реализован международный проект по определению технических возможностей метода прямого получения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ в циклотроне и качества продукта [9], а в 2017 г. были опубликованы результаты клинических исследований циклотронного натрия пертехнетата [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] [10], который соответствует требованиям Европейской фармакопеи¹². Следует отметить, что предел содержания примеси ^{99}Mo для данного препарата установлен на уровне 0,005%, а других γ -излучающих примесей суммарно до 0,02%. При этом количественно

определяются примеси долгоживущих изотопов $^{95\text{m}}\text{Tc}$ ($T_{1/2} = 61$ сут) и $^{97\text{m}}\text{Tc}$ ($T_{1/2} = 91$ сут), пределы содержания которых установлены 0,005 и 0,01% соответственно. Детальное изучение γ -излучающих примесей в растворе $^{99\text{m}}\text{Tc}$, полученном после облучения в циклотроне металлической мишени ^{100}Mo , было выполнено с помощью детектора из высокочистого германия (HPGe) [11]. Чувствительность измерений γ -излучающих примесей по минимально детектируемой активности (МДА) оказалась на уровне 14–70 Бк с эмиссионными линиями в диапазоне 36–1836 кэВ, что составило диапазон содержания примесей от $6,7 \times 10^{-4}$ до $3,4 \times 10^{-3}\%$ для ^{93}Tc , $^{93\text{m}}\text{Tc}$, ^{94}Tc , $^{94\text{m}}\text{Tc}$, ^{95}Tc , $^{95\text{m}}\text{Tc}$, ^{96}Tc , $^{96\text{Nb}}$, $^{97\text{Nb}}$, ^{99}Mo и $9,4 \times 10^{-3}\%$ для $^{97\text{m}}\text{Tc}$. Показано, что минимально детектируемые активности примесей ниже требований, указанных в Европейской фармакопее. Практически одновременно опубликованы результаты наработок на циклотронах средних энергий промышленных (порядка ТБк) количеств $^{99\text{m}}\text{Tc}$ надлежащего качества [12]. Дозиметрические оценки $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -РФЛП на основе такого продукта показали возможность проведения рутинных диагностических исследований с требуемым уровнем безопасности [13].

Радионуклидные примеси в препаратах рения-188. РФЛП ^{188}Re пока не получили широкого применения в ядерной медицине, однако именно сейчас с развитием технологий радионуклидной терапии этот радионуклид считается весьма перспективным. ^{188}Re ($T_{1/2} = 16$ ч) получают из генератора в результате распада ^{188}W , который в промышленных количествах может быть получен только на реакторах, с потоком нейтронов не менее 5×10^{14} н/см²·с. Поэтому в течение многих лет работы по получению ^{188}Re проводились в мире лишь на двух реакторах: в Оак-Ридже (США) и Димитровграде (Россия). Полный и обстоятельный обзор по истории и современному состоянию разработок по генераторам и препаратам ^{188}Re опубликован относительно недавно группой авторов под руководством F.F. Russ Knapp Jr. [14]. В России генератор $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ хроматографического типа зарегистрирован как медицинское изделие¹³. Кроме того, разработана технология экстракционного выделения ^{188}Re из облученного ^{188}W [15] в качестве фармацевтической субстанции¹⁴. Проведены доклинические исследования нескольких РФЛП ^{188}Re [16, 17]. В отношении РНП в растворах ^{188}Re ,

¹¹ Приведены международные непатентованные наименования препаратов на русском языке.

¹² Monograph 01/2018:2891 Sodium pertechnetate ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) injection (accelerator produced). European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

¹³ Регистрационное удостоверение на медицинское изделие Генератор рения-188 ГРЕН-1 от 06.04.2021 № РЗН 2021/13914.

¹⁴ Натрия перренат, ^{188}Re , экстракционный, рег. № ФС-000452-071212.

получаемых из генераторов как хроматографического типа, так и экстракционного, содержание ^{188}W не превышает $10^{-4}\%$. Другие примеси не обнаруживаются.

Радиохимические примеси в препаратах технеция-99м и рения-188. Поскольку семивалентное состояние является наиболее устойчивым для технеция и рения, основной радиохимической формой в элюатах генераторов $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ и $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ будут $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ и $\text{Re}^{[188}\text{Re]O}_4^-$ соответственно. РХЧ $\text{NaTc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$, определяемая с помощью бумажной хроматографии, должна быть не менее $95\%^{15}$. В качестве подвижной фазы используется смесь метанола и воды в соотношении 8:2. Время хроматографирования составляет 2 ч. В данной хроматографической системе значение R_f для $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ -ионов составляет 0,6. ГВТ и другие коллоидные формы технеция остаются на старте хроматограммы [2]. Для определения РХЧ элюатов из генераторов $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ семи различных производителей А. Hammermaier и соавт. [18] использовали ТСХ на силикагеле в ацетоне, время хроматографирования 30 мин. В данной хроматографической системе $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ -ионам соответствует пятно с $R_f = 0,9-1,0$, а ГВТ (вероятность образования примеси которого имеется вследствие процессов радиолиза) остается на старте ($R_f = 0$). Полученные значения РХЧ препарата за два года исследований составили 99,5–100%.

В РФЛП $^{99\text{m}}\text{Tc}$ суммарное содержание РХП $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ -ионов и ГВТ не должно превышать 5%. Аналогично в РФЛП ^{188}Re обнаруживаются РХП: $\text{NaRe}^{[188}\text{Re]O}_4^-$ и гидролизированный восстановленный ^{188}Re (ГВР), суммарное содержание которых не должно превышать 10%. Эти два вида примесей могут быть отделены от основного комплекса с помощью ТСХ. W. Brandau и соавт. [19] предложили использовать сочетание ТСХ на пластинках с силикагелем в двух растворителях:

- 1) в ацетоне определяют примесь $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ -ионов ($R_f = 1,0$), в этом случае на старте хроматограммы остаются ГВТ и образующиеся комплексы восстановленного $^{99\text{m}}\text{Tc}$;
- 2) в 0,9% NaCl для определения ГВТ ($R_f = 0$); в этой системе образующиеся комплексы и примесь $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ продвигаются с фронтом растворителя.

При использовании в качестве неподвижной фазы силикагеля или бумаги миграция свободного $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ зависит от растворимости этого

аниона в растворителе. В полярном растворителе, например NaCl , 80% метанол, ацетон или МЭК, пертехнетат мигрирует с фронтом растворителя ($R_f = 0,6-1,0$). Если используется неполярный липофильный растворитель (например, хлороформ), $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ остается на старте. Коллоидные формы радионуклидов не мигрируют в большинстве систем ТСХ и остаются на старте. Поэтому ГВТ или ГВР не определяются в коллоидных препаратах и препаратах в виде суспензий (например, макроагрегаты альбумина – МАА, микросферы) или высокомолекулярных формах $^{99\text{m}}\text{Tc}$, таких как моноклональные антитела.

Для анализа большинства РФЛП $^{99\text{m}}\text{Tc}$ применяется сочетание двух хроматографических систем с использованием в качестве подвижной фазы 0,9% NaCl и МЭК. Ацетон был заменен МЭК, потому что были получены искусственно завышенные значения содержания пертехнетата, вызванные более высоким содержанием воды в ацетоне [4]. Для некоторых РФЛП, содержащих комплексы $^{99\text{m}}\text{Tc}$ определенного состава с доказанной структурой, например $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -мертиатайд, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -сестамиби, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -экзаметаим и других, были предложены более сложные аналитические методы, позволяющие определить как основной комплекс, так и дополнительные примеси (например, меченые соединения продуктов деструкции основного вещества) в растворе для инъекций. Для их определения используются специальные смеси растворителей [20–22]. Однако, как правило, провести четкое разделение и определение всех компонентов в одной хроматографической системе не представляется возможным. Следует отметить, что применение метода ВЭЖХ для анализа $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -РФЛП также оказалось неэффективным для одновременного определения всех радиоактивных компонентов. В этом случае ГВТ осаждается в хроматографической колонке и результат анализа оказывается ложно завышенным. Часто можно наблюдать и ложно заниженные результаты из-за образования некоторого количества $\text{Tc}^{[99\text{m}}\text{Tc]O}_4^-$ -ионов вследствие окисления комплекса в колонке.

Химические примеси в препаратах технеция-99м и рения-188. Элюат генератора может содержать определенные химические примеси, происходящие либо из генераторной колонки, либо из элюента и влияющие на эффективность мечения и распределение радиоактивности *in vivo*. Наиболее вероятной химической примесью в элюате является алюминий, поскольку

¹⁵ Monograph 01/2008:0124 Sodium pertechnetate ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) injection (fission). European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

большинство производителей генераторов используют оксид алюминия в качестве сорбента исходного ^{99}Mo (или ^{188}W в генераторах ^{188}Re). J.A. Ponto и соавт. [23] показали, что катионы Al^{3+} могут приводить к снижению выхода получаемого соединения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и изменению биологического распределения РФЛП. На основании этих рекомендаций в Фармакопее США и Европейской фармакопее регламентировано предельное содержание Al^{3+} в элюатах 10 мкг/мл. Согласно монографии на раствор натрия пертехнетата, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ циклотронного производства предел содержания Al^{3+} составляет 5 ppm, и для определения рекомендуется spot method¹⁶. В документации российских производителей генераторов технеция-99м предельное содержание Al^{3+} в элюатах составляет 2 мкг/мл (определяют методом эмиссионного спектрального анализа¹⁷).

В растворах натрия пертехнетата, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и натрия перрената, ^{188}Re , получаемых с использованием экстракционных генераторов, может присутствовать примесь МЭК. Содержание МЭК, определяемое спектрофотометрическим методом, должно быть не более 0,5 мг/мл [15]. Согласно требованиям Фармакопеи США¹⁸, определение МЭК проводят, сравнивая мутность стандартного и испытуемого раствора элюата.

Примеси в препаратах на основе изотопов галогенов

Изотопы йода. Йод-131 в форме изотонического раствора, содержащего натрия йодид [^{131}I], с первого введения пациенту в 1941 г. [24] и до настоящего времени остается самым широко применяемым в радионуклидной терапии РФЛП. Это был первый идеальный тераностик, поскольку наличие в спектре излучения ^{131}I как γ -квантов, так и β^- -частиц позволяет проводить диагностическую визуализацию и дозиметрию, а также внутреннюю лучевую терапию.

^{131}I можно выделять из продуктов деления ^{235}U или при облучении оксида теллура, обогащенного по изотопу ^{130}Te [25]. В первом случае ^{131}I получают в технологическом цикле получения ^{99}Mo , где фракция, содержащая ^{131}I , является полезно используемым отходом. Такой продукт содержит примеси других изотопов йода (в основ-

ном ^{133}I , ^{135}I)¹⁹ и некоторые другие и много лет применялся для радионуклидной терапии (с учетом дополнительного вклада РНП в дозу облучения). В препарате радиоактивного йода, выделяемого из облученного теллура, содержится около 30 масс.% ^{131}I , остальное приходится на долю стабильного ^{127}I и долгоживущего ^{129}I . Обычно в производстве ^{131}I в качестве исходного сырья (стартового материала) используют обогащенный ^{130}Te ²⁰. Мишень из элементарного теллура или его диоксида после облучения помещают в печь, нагретую до 680–700 °С. Одновременно через сосуд пропускают ток чистого кислорода, уносящего ^{131}I , который затем поглощается раствором щелочи. Аналогично выделяют ^{123}I (применяется в ОФЭКТ) и ^{124}I (применяется в ПЭТ) из теллурических мишеней, облученных в циклотроне. При выделении ^{123}I или ^{124}I из ксеноновых мишеней последний удаляют вымораживанием, после чего смывают целевой радионуклид раствором щелочи. В этих продуктах содержание РНП не превышает 10⁻²%.

Основной РХП в РФЛП, содержащих изотопы йода, является йодат [^{131}I]-ион, биологическое поведение которого не отличается от йодида, и эта примесь не считается критической. Тем не менее в фармакопейных монографиях на РФЛП натрия йодид [^{123}I] (или ^{131}I) имеется требование к уровню РХЧ $\geq 95\%$, что достигается путем добавления в состав тиосульфата натрия. Однако этот восстановитель мешает успешному синтезу йодорганических РФЛП, поэтому субстанции, предназначенные для получения соединений, меченных ^{123}I и ^{131}I , выпускают в виде сильнощелочных (pH ≥ 10) растворов.

Радионуклидные примеси в препаратах фтора-18. Фтор-18 применяется в ПЭТ так же широко, как и технеций-99м в ОФЭКТ. Это объясняется совокупностью его ядерно-физических и химических свойств. $T_{1/2} = 108$ мин достаточен как для проведения сложных процедур синтеза и очистки РФЛП, так и для их транспортировки на относительно далекие расстояния вплоть до нескольких тысяч километров.

Поскольку этот радионуклид применяется в относительно невысоких дозах по активности

¹⁶ Monograph 01/2018:2891 Sodium pertechnetate ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) injection (accelerator-produced). European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

¹⁷ Определение примесей химических элементов в радиофармацевтических препаратах. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 1. М.: Медицина; 1987.

¹⁸ Monograph 23288-60-01 Sodium pertechnetate Tc99m injection. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44-NF39. Rockville, MD; 2021.

¹⁹ Monograph 01/2008:0281 Sodium iodide (^{131}I) solution. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

²⁰ Сковороца ВИ, ред. Ядерная медицина: справочник для персонала отделений, лабораторий и центров ядерной медицины. М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; 2020.

(для большинства исследований достаточно 370 МБк), не требуется специальной защиты для окружающих его людей. Радиоактивные отходы с ^{18}F через короткий промежуток времени также не создают радиационной угрозы. Выход позитронов при распаде составляет почти 100%, а их энергия (635 кэВ) обеспечивает максимальное (по сравнению с другими β^+ -излучателями) пространственное разрешение при визуализации. ^{18}F обычно включают в число позитронных эмиттеров – аналогов биогенных элементов наряду с ^{11}C , ^{13}N и ^{15}O , хотя он таковым не является. Замена в структуре какой-либо органической молекулы атома водорода или гидроксильной группы атомом ^{18}F (благодаря малому атомному радиусу или высокой электроотрицательности атома фтора соответственно) является основной стратегией, используемой в синтезе ПЭТ-РФЛП, а также используется при разработке лекарственных средств для изменения биологической функции активного вещества [26]. Самым массово применяемым в ПЭТ препаратом на основе ^{18}F является 2- ^{18}F фтор-2-дезоксиглюкоза (ФДГ). Основным способ получения ^{18}F – это облучение воды, обогащенной по изотопу ^{18}O . При этом протекает ядерная реакция $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$, а также возможно образование примесей ^{13}N по реакции $^{16}\text{O}(p, \alpha)^{13}\text{N}$ и трития по реакции $^{18}\text{O}(p, t)^{16}\text{O}$. Однако тритий обнаружен не был ни в РФЛП с ^{18}F [27], ни при анализе радиоактивных отходов. Проблема определения примеси ^{13}N заключается в том, что он, как и ^{18}F , является чистым β^+ -эмиттером, в их гамма-спектрах присутствует только пик аннигиляционных γ -квантов с энергией 511 кэВ. В зависимости от материала и геометрии детектора могут наблюдаться пики 1020 кэВ (sum peak) и комптоновского рассеяния. Поэтому различить эти два радионуклида методом гамма-спектрометрии невозможно. ^{18}F и ^{13}N различаются по энергии позитронного излучения, однако такие измерения требуют специального оборудования. С практической точки зрения гораздо проще идентифицировать эти радионуклиды по $T_{1/2}$, которые составляют 108 и 9,8 мин соответственно. При определении подлинности ^{18}F -РФЛП по радионуклиду согласно фармакопейным требованиям²¹ следует проводить идентификацию по $T_{1/2}$ (кроме спектра γ -излучения). Содержание ^{13}N в РФЛП с ^{18}F не регламентируется, но вычисленный $T_{1/2}$ ^{18}F не должен быть ниже 105 мин. По мнению авторов [27], процедуру определения $T_{1/2}$ рационально выполнять в начале использования каждой новой партии воды, обогащенной по ^{18}O .

Примеси радионуклидов-металлов в РФЛП (табл. 2) представляют более серьезную опасность для пациентов как источник излишней дозовой нагрузки в силу большого $T_{1/2}$ и особенностей их метаболизма в организме человека (медленное выведение). Они образуются из материала мишени по реакциям (p, n), (p, d), (p, α), а также в результате вторичного нейтронного облучения, поэтому выбор материала мишени являлся одним из основных критериев при разработке технологии синтеза препарата. Были предложены мишени из меди, покрытой никелем, титана, ниобия, тантала [28]. Обнаружено, что не только материал тела мишени является источником РНП, но и входная фольга мишени. Обычно ее делают из Хавара (Havar), поскольку этот тугоплавкий материал обладает отличными прочностными характеристиками. Однако в его состав входит 8 металлов (Co, Cr, Ni, W, Mb, Mn, Be и Fe), способных образовывать долгоживущие изотопы (табл. 2) [29, 30]. В ходе синтеза РФЛП с ^{18}F практически все РНП удаляются на колонках/картриджах [31].

Еще один важный вопрос – это наличие примеси ^{19}F в РФЛП на основе ^{18}F . ^{18}F фторид-ион, получаемый при облучении $\text{H}_2\text{O}[^{18}\text{O}]$, является радионуклидом «без добавления носителя», и его теоретическая максимальная молярная

Таблица 2. Выход по активности радионуклидов, образующихся в фольге из Хавара после облучения протонами: 16 МэВ, 50 мА, 90 мин (по L. Bowden и соавт. [29], с изменениями)

Table 2. Activity yields of radionuclides formed in Havar foil after proton irradiation: 16 MeV, 50 mA, 90 min (adapted from L. Bowden et al. [29])

Радионуклид Radionuclide	Период полураспада, сут Half-life, days	Активность, МБк Activity, MBq
V-48	16,0	0,015
Cr-51	27,7	16,8
Mn-52	5,6	11,2
Mn-54	312,3	0,99
Co-56	77,3	24,2
Co-57	271,3	5,5
Co-58	70,8	53,4
Tc-95m	51,0	0,36
Tc-96	4,3	0,50
Re-183	70,0	1,0
Re-184	38,0	0,06

²¹ Monograph 01/2011:2390 Fluoride (^{18}F) solution for radiolabelling. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.
Monograph 01/2008:2100 Sodium Fluoride (^{18}F) injection. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

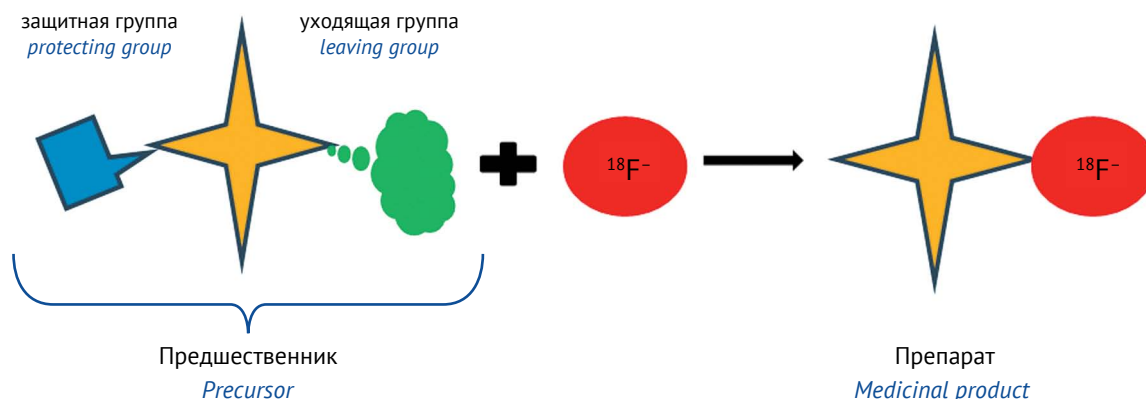


Рис. 1. Общая схема получения радиофармацевтических препаратов фтора [^{18}F]

Fig. 1. Preparation of [^{18}F]fluorine radiopharmaceuticals in a simplified visual form

активность 63,3 ТБк/мкмоль, но о такой молярной активности не сообщалось. Исследования показали, что источником фтора-носителя являются трубки, клапаны и фитинги, изготовленные из химически стойких фторированных материалов [32]. Исключение любых конструкционных материалов, содержащих фтор, в модулях синтеза позволило повысить молярную активность препарата до 43 ТБк/мкмоль, хотя обычно она составляет 2–10 ТБк/мкмоль.

Радиохимические примеси в препаратах фтора-18. Если для многих РФЛП $^{99\text{m}}\text{Tc}$ нормируется не РХЧ, а РХП, то в случае РФЛП ^{18}F этот подход не применяется. Основным методом анализа большинства РФЛП на основе ^{18}F является метод ВЭЖХ. Используются практически все его варианты: обращенно-фазовая, ионообменная, хиральная и др. В общем виде получение большинства препаратов ^{18}F можно представить в виде схемы (рис. 1).

Согласно схеме получения в РФЛП на основе ^{18}F возможными РХП могут быть: 1) непрореагировавший [^{18}F]фторид-ион; 2) продукт неполного снятия защитных групп после присоединения [^{18}F]фторида; 3) продукты различных химических реакций и перегруппировок, возможных особенно при проведении реакции в жестких условиях (высокая температура и (или) кислотность среды, и т.п., например образование 2- ^{18}F фтор-2-дезоксид-маннозы при использовании щелочного гидролиза в синтезе ФДГ). Также РХП могут образовываться при хранении вследствие радиолиза, особенно при высоких активностях препарата. Согласно требованиям Европейской фармакопеи, в зависимости от препарата нормы по РХЧ варьируют от 95 до 98,5%. Для ФДГ введена достаточно запутанная двухступенчатая оценка приемлемости по результатам ТСХ

и ВЭЖХ анализов²². Это связано с тем, что полученные методом ВЭЖХ результаты могут быть заведомо завышенными. Для анализа ФДГ предложено использовать колонку RezexTM RHM (Phenomenex®), элюент — вода очищенная, детекторы — рефрактометр и по радиоактивности. По данным [33] в одном разделении можно определить как радиоактивные компоненты, так и остаточные органические растворители (предел обнаружения ацетонитрила ~5 ppm). Однако авторы ничего не пишут об обнаружении криптофиска или тетрабутиламмония. Кроме того, в условиях анализа указана температура колонки 80 °С, что близко к температурам кипения ацетонитрила и этанола, а также может вызвать нестабильность базовой линии рефрактометрического детектора.

Химические примеси в препаратах фтора-18. Химические примеси, образующиеся при синтезе ^{18}F -РФЛП, — это продукты побочных реакций предшественника (их часто называют родственными примесями), химические соединения, используемые и образующиеся в ходе технологического процесса. Суммарное количество родственных примесей теоретически не может превысить количество предшественника. Например, в синтезе [^{18}F]ФДГ количество глюкозы обычно не превышает 30 мг и не является потенциально опасным для пациента, поэтому примесь глюкозы не определяют в составе РФЛП. Что касается остальных примесей, то имеет смысл определять только те из них, которые могут образоваться в ходе технологического процесса. Так, если в процессе производства ФДГ не используется анионообменная смола в Cl-форме и не проводится гидролиз под действием соляной кислоты, то определять 2-хлор-2-дезоксид-Д-глюкозу не нужно. Аналогично

²² Monograph 01/2014:1325 corrected 8.2 Fludeoxyglucose (^{18}F) injection. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

2-фтор-2-дезоксид-Д-маннозу необходимо определять только в случае проведения щелочного гидролиза или при электрофильном способе синтеза ФДГ. Из химических соединений, используемых в технологическом процессе, в готовом РФЛП контролируют содержание катализаторов межфазного переноса и остаточных органических растворителей. Например, в синтезе ФДГ это криптофикс 2.2.2 (4,7,13,16,21,24-гексаоксо-1,10-дизабицикло-[8,8,8]-гексакозан) и тетрабутиламмоний в виде гидроксида или гидрокарбоната. Криптофикс 2.2.2 является достаточно токсичным соединением (LD_{50} для крыс составляет 32–35 мг/кг)²³. Самым удобным и экономичным методом его определения является spot method, когда каплю анализируемого раствора и раствор криптофикса известной концентрации наносят на пластинку для ТСХ (силикагель/пластик) и после высыхания обрабатывают спреем йодплатиновой кислоты. Развитие окраски (розовое кольцо вокруг темно-синего центрального пятна) на хроматограммах анализируемого раствора и раствора криптофикса сравнивают и документируют [34]. Для обнаружения тетрабутиламмония пятно на пластинке высушивают в токе холодного воздуха, на это место наносят 10 мкл смеси метанол/ NH_4OH (9:1) и помещают в йодную камеру ровно на 1 мин. После этого пластинку фотографируют и анализируют визуально. В работе [35] для анализа препаратов ^{18}F предложено использовать капиллярный электрофорез. Найдены условия, позволяющие очень быстро (5 мин) определить основные примеси в реакционной среде.

Остаточные органические растворители в [^{18}F] РФЛП — это, как правило, ацетонитрил, используемый для проведения радиохимического синтеза, и этанол, который используется в процессе очистки препарата и оборудования. Иногда используют диметилсульфоксид, диметилформамид и др. Кроме того, этанол часто добавляют в препарат в качестве радиопротектора (от 0,1 до 0,5%). Основной метод определения остаточных органических растворителей — газожидкостная хроматография (ГЖХ). Обычно это определение не представляет особых сложностей и может быть выполнено на различных колонках в различных условиях (детектор, температурный режим и др.).

Препараты галлия и некоторых других изотопов Me(III)

Первые активные исследования РФЛП, меченых ^{68}Ga , были связаны с разработкой и внедрением в клиническую практику производных октреотида (^{68}Ga -DOTATOC, ^{68}Ga -DOTATATE и т.п.) для диагностики, а впоследствии и радионуклидной терапии нейроэндокринных опухолей (^{177}Lu / ^{90}Y -DOTATOC/TATE) [36, 37]. С 2010 г. началась вторая волна интереса к ^{68}Ga -РФЛП, связанная с разработкой меченых низкомолекулярных ингибиторов простат-специфического мембранного антигена (prostate-specific membrane antigen, PSMA) для диагностики рака предстательной железы и появлением сведений об успешном применении тераностических подходов к лечению данного заболевания с помощью таких радионуклидов, как ^{90}Y , ^{177}Lu , а позже ^{225}Ac .

Большинство применяемых и разрабатываемых сегодня РФЛП ^{68}Ga представляют собой комплексы с низкомолекулярными лигандами к различным рецепторам. Это агонисты и антагонисты на основе разнообразных пептидов, пептидомиметиков, витаминов, небольших молекул и др. [38–42], конъюгированные через линкер с подходящим хелатирующим агентом (DOTA, NOTA, HBED-CC и др.) [43–45] для связывания радионуклида. Среди них три препарата — [^{68}Ga]Ga-DOTATOC, [^{68}Ga]Ga-DOTATATE и [^{68}Ga]Ga-PSMA-11, — одобрены Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA), а 2 — [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 (галлия (^{68}Ga) гозетотид) и [^{68}Ga]Ga-DOTATOC (галлия (^{68}Ga) эдотреотид) — описаны в Европейской фармакопее²⁴.

Радионуклидные примеси в препаратах галлия-68. Возможные РНП в составе РФЛП на основе ^{68}Ga обусловлены примесями, присутствующими в растворах [^{68}Ga]GaCl₃, используемых для синтеза. ^{68}Ga может быть получен как из радионуклидного генератора ^{68}Ge / ^{68}Ga , так и при облучении на циклотроне цинковых мишеней по реакции $^{68}Zn(p, n)^{68}Ga$. Растворы [^{68}Ga]GaCl₃, полученные по обоим указанным методам, описаны в Европейской фармакопее²⁵ и имеют установленные параметры качества, в том числе и по содержанию РНП. В растворах [^{68}Ga]GaCl₃, получаемых из генератора ^{68}Ge / ^{68}Ga , основной РНП является материнский ^{68}Ge ,

²³ Lewis RJ Sr, Tatken RL, eds. Registry of toxic effects of chemical substances. U.S. Department of Health and Human Services, Center for Disease Control. Cincinnati, Ohio; 1979.

²⁴ Monograph 01/2013:2482 Gallium (^{68}Ga) edotreotide injection. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

Monograph 04/2021:3044 Gallium-68 PSMA-11 injection solution. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

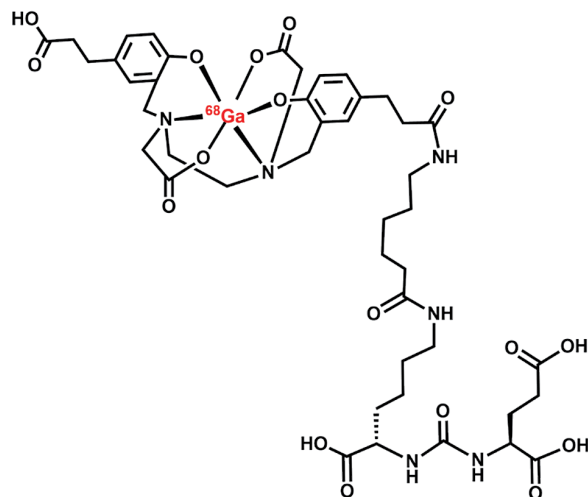
²⁵ Monograph 01/2021:3109 Gallium (^{68}Ga) chloride (accelerator-produced) solution for radiolabelling. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

Monograph 07/2013:2464 Gallium (^{68}Ga) chloride solution for radiolabelling. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

содержание которого (в сумме с другими γ -излучающими примесями с $T_{1/2}$ более 5 ч) не должно превышать 0,001%. В растворах $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$, получаемых на циклотроне, основными РНП являются радионуклиды ^{66}Ga и ^{67}Ga , образование которых возможно по реакциям $^{66}\text{Zn}(p, n)^{66}\text{Ga}$, $^{67}\text{Zn}(p, 2n)^{66}\text{Ga}$, $^{68}\text{Zn}(p, 2n)^{67}\text{Ga}$ и $^{67}\text{Zn}(p, n)^{67}\text{Ga}$. Допустимое содержание РНП (^{66}Ga + ^{67}Ga) составляет $\leq 2\%$ от всей детектируемой γ -активности препарата на конец его срока годности.

Радиохимические примеси в препаратах галлия-68. При синтезе ^{68}Ga -РФЛП возможно образование двух основных радиохимических примесей: несвязанного ^{68}Ga (часть радионуклида, не вступившая в реакцию комплексообразования с векторной молекулой и присутствующая в препарате в определенной ионной форме) и коллоидного ^{68}Ga (образующегося в результате гидролиза несвязанного ^{68}Ga при определенных значениях pH). Таким образом, вся используемая в синтезе РФЛП активность ^{68}Ga распределяется по трем его основным химическим формам. Наиболее эффективно комплексообразование ^{68}Ga с хелатирующими агентами в структуре РФЛП (например, DOTA [46]) происходит в том же диапазоне pH, что и образование коллоидного $\text{Ga}(\text{OH})_3$ [47]. То есть образование РХП ^{68}Ga -коллоид в составе РФЛП имеет достаточно высокую вероятность. Содержание каждой из описываемых радиохимических примесей строго нормировано и для $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}^{26}$ должно составлять: не более 2% для несвязанного (ионного) ^{68}Ga (примесь А); не более 3% для коллоидного ^{68}Ga (примесь В). В более поздней монографии на $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}^{27}$ допустимое содержание РХП нормировано более жестко: сумма примесей несвязанного и коллоидного ^{68}Ga не должна превышать 3%. На сегодняшний день не представлено достоверных данных о взаимосвязи количества той или иной РХП и ее влияния на качество получаемой с ^{68}Ga ПЭТ-визуализации. Поэтому указанные фармакопейные требования имеют скорее интуитивный, чем экспериментально подтвержденный характер. При этом в препаратах на основе галлия-68 недопустимо определение РХЧ по остаточному принципу (как, например, в некоторых препаратах $^{99\text{m}}\text{Tc}$). То есть нельзя определить суммарное содержание основных РХП (несвязанного и коллоидного ^{68}Ga) и представить РХЧ препарата как разность, полученную вычитанием количества РХП из 100%. Допустимая величина РХЧ для обоих РФЛП ($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$

и $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$) в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи составляет не менее 91% от всей детектируемой активности ^{68}Ga . Согласно Европейской фармакопее РХЧ для $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$: $91\% + 2\% + 3\% \neq 100\%$, то есть допускается наличие еще 4% не охарактеризованных РХП. Отчасти на эти 4% можно отнести содержание специфических РХП, которые могут быть обусловлены как факторами проведения синтеза препарата, так и свойствами молекулы-прекурсора, используемой в синтезе, а также радиационно-химическими эффектами распада самого ^{68}Ga . Например, в структуре препарата $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ [48, 49] использован хелатирующий агент HBED-CC (N,N'-бис-[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил) бензил]этилендиамин-N,N'-диуксусная кислота).



$[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$

Этот хелатор является пока редко используемым ациклическим комплексообразующим агентом, позволяющим проводить эффективный синтез РФЛП с ^{68}Ga даже при комнатной температуре [50]. Однако, в отличие от других хорошо изученных и зарекомендовавших себя клинически хелаторов радионуклидов металлов, HBED-CC образует три ЯМР-различимых диастереомера (конфигурации RR, RS и SS при атомах азота) во время реакции комплексообразования с галлием, тогда как, по-видимому, RR-конфигурация является термодинамически более предпочтительной [51]. Установлено, что помимо влияния температуры (рис. 2) образование диастереомеров зависит от pH и концентрации лиганда [52]. В стандартном протоколе синтеза $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ реакционную смесь инкубируют при pH ~4 и температуре 95 °C. В таких условиях образуется в основном термодинамически

²⁶ Monograph 01/2013:2482 Gallium (^{68}Ga) edotreotide injection. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

²⁷ Monograph 04/2021: 3044 Gallium-68 PSMA-11 injection solution. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

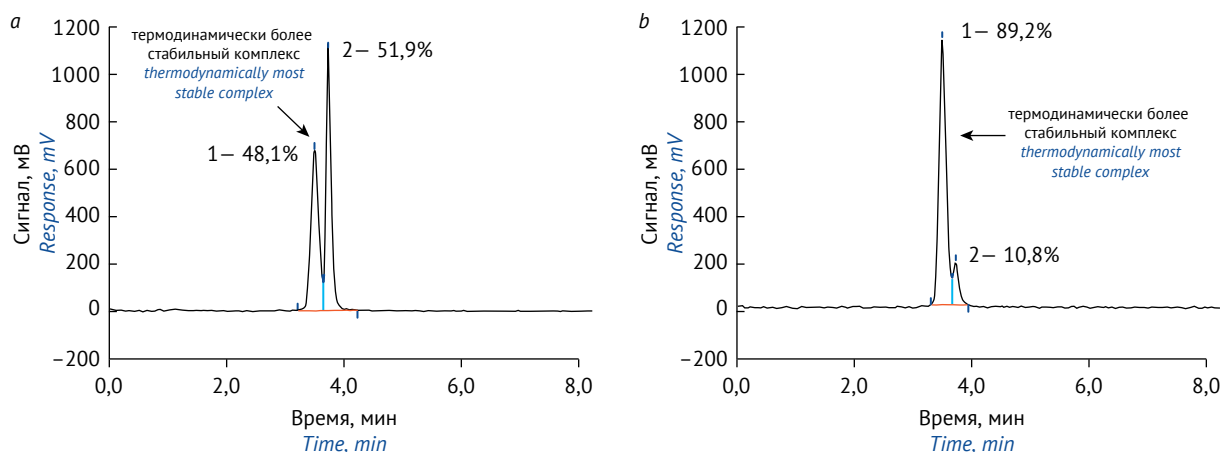


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограммы с детектированием по радиоактивности препаратов $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$, синтезированных при комнатной температуре (а) и при 95°C (б). Хроматографические пики соответствуют термодинамически более стабильному комплексу (1) и менее стабильному комплексу (2) (по М. Eder и соавт. [53], с изменениями)

Fig. 2. Radio-HPLC chromatograms of $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ synthesised at room temperature (a) and at 95°C (b). Chromatographic peaks correspond to the thermodynamically more stable complex (1) and less stable complex (2) (adapted from M. Eder et al. [53])

предпочтительный диастереомер, однако небольшая часть одного из двух других диастереомеров также присутствует в реакционной смеси. Предполагают, что поскольку наличие в составе препарата до 50% термодинамически менее стабильного комплекса не оказывает существенного влияния на PSMA-специфичное накопление $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ в культуре клеток *in vitro*, то и существенного снижения качества ПЭТ-изображений также не последует [53]. Однако достоверных клинических данных по этому вопросу пока не представлено, и никакими нормативными документами не оговорены пределы допустимого содержания данных примесей.

Согласно Европейской фармакопее²⁸ при анализе РХЧ $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ методом ВЭЖХ рекомендовано определять сумму площадей двух основных пиков на хроматограмме, которая должна составлять не менее 95% от всей детектируемой активности ^{68}Ga .

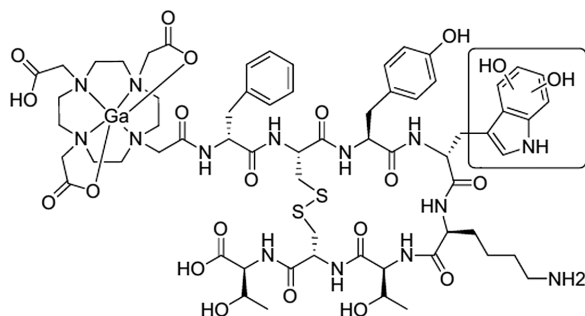
Если указанные РХП относятся, по сути, только к одному РФЛП — $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$, то далее речь пойдет о специфических РХП, которые могут быть обнаружены во всех ^{68}Ga -РФЛП на основе рецептор-специфичных молекул. Это примеси, связанные с частичной деструкцией векторной молекулы. Так, до появления коммерчески доступных генераторов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ фармацевтического качества для синтеза ^{68}Ga -РФЛП часто применяли различные методы очистки и концентрирования элюата генераторов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (с использованием автоматизированных модулей синтеза и в ручном режиме).

Один из наиболее распространенных методов очистки заключался в сорбции ^{68}Ga из элюата генератора на катионообменной смоле и дальнейшей десорбции ^{68}Ga с использованием смеси ацетон / соляная кислота (0,05 М HCl; 98 об. % ацетона) [54]. Полученный ацетон-солянокислый раствор ^{68}Ga далее использовали непосредственно для проведения реакции синтеза ($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$), а меченую форму выделяли с помощью твердофазной экстракции. Впоследствии были разработаны и другие методы очистки и концентрирования элюата генераторов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. В том числе метод десорбции ^{68}Ga с катионообменной смолы с использованием подкисленного раствора натрия хлорида (500 мкл 5 М NaCl / 12,5 мкл 5,5 М HCl) [55]. Оба метода широко применяются для синтеза ^{68}Ga -РФЛП. Однако было установлено, что в сравнении с NaCl-методом при использовании в синтезе ^{68}Ga -РФЛП растворов ацетон / соляная кислота в реакционной смеси образуются продукты окисления и (или) гидролиза векторной молекулы ($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATATE}$), очистка от которых путем твердофазной экстракции невозможна. Эти примеси могут снижать РХЧ получаемого РФЛП до 90% и меньше, что делает препарат непригодным для дальнейшего клинического применения.

Образование РХП также наблюдается при радиолитической деградации векторной молекулы, когда в реакции синтеза используют большие активности ^{68}Ga . Испускаемые при распаде галлия-68 высокоэнергичные β^+ -частицы инициируют радиолитическую деградацию воды и образование свободных

²⁸ Там же.

радикалов, которые, в свою очередь, атакуют векторную молекулу, изменяя ее структуру и свойства. В работе [56] был оценен эффект этанола как радиопротектора для РФЛП $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$ и $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATATE}$. Показано, что препараты, приготовленные с использованием элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 1,85 ГБк (точное количество активности в синтезах авторы не указывают) без добавления радиопротектора, содержат $5,87 \pm 1,08\%$ (150 синтезов) РХП, ассоциированных с протеканием реакций радиолиза (рис. 3). В то же время содержание РХП в аналогичных препаратах, но с добавлением этанола (до 5 об.%) составляет всего $1,03 \pm 0,47\%$ (200 синтезов). В ходе исследований с использованием метода ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием [57] установлено, что одним из возможных продуктов радиолиза $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATATE}$ является окисленная форма молекулы с двумя дополнительными гидроксильными группами у индольного кольца остатка триптофана:



Если учесть, что наличие триптофанового остатка характерно для всех хорошо известных

аналогов соматостатина, применяемых в составе РФЛП с ^{68}Ga ($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATATE/TOC/NOC}$), то справедливо допустить и наличие подобной примеси в этих препаратах, вызванной эффектами радиолиза. Указанная примесь является лишь одной из ряда возможных, которую удалось относительно достоверно идентифицировать (каких-либо данных по ее аффинности к рецепторам клеток-мишеней, а также по фармакокинетике в литературе нет).

Во время синтеза ^{68}Ga -РФЛП возможно образование целого спектра различных специфических РХП, обусловленных радиолитической, термической и химической деградацией векторной молекулы. Ввиду сложности их выделения, идентификации и количественного определения на сегодняшний день практически нет достоверных исследований, позволяющих установить их влияние на фармакокинетику готового РФЛП и, соответственно, определить какие-либо допустимые пределы содержания. Фактически усилия исследователей направлены на то, чтобы минимизировать возможность образования примесей в процессе синтеза РФЛП. Выбор метода анализа для определения РХЧ конкретного РФЛП существенно влияет на полученный результат. Зачастую анализ РФЛП, выполненный каким-либо одним, даже фармакопейным методом может указывать на высокую РХЧ препарата и пригодность его для клинического применения, тогда как анализ более точным и правильно подобранным методом позволит установить, что реальная РХЧ препарата ниже допустимых пределов. В качестве примера можно привести результаты работы [57], в которой анализ РХЧ препарата

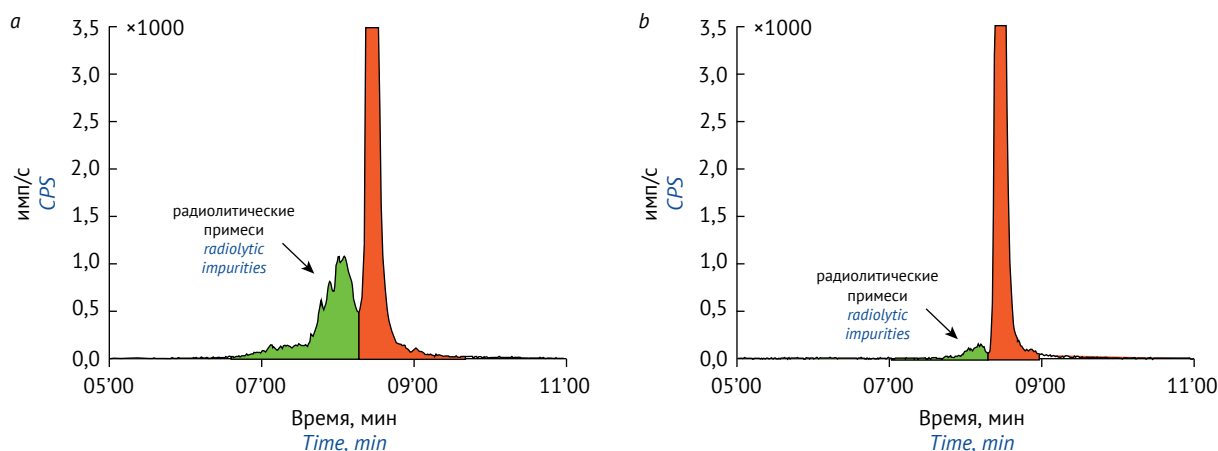


Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограммы с детектированием по радиоактивности препаратов $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$, синтезированных без (а) и с добавлением этанола (б) (по Meisenheimer M. и соавт. [56], с изменениями)

Fig. 3. Radio-HPLC chromatograms of the $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATOC}$ synthesised without (a) and with the addition of ethanol (b) (adapted from Meisenheimer M. et al. [56])

[^{68}Ga]Ga-DOTATOC при радиолизе был выполнен тремя различными методами.

Таким образом, определение РХЧ препаратов на основе ^{68}Ga становится весьма нетривиальной задачей, ставящей перед исследователем и изготовителем ряд химических, технических и нормативных сложностей и ограничений, а качество готового РФЛП полностью зависит от квалификации и компетенций персонала, задействованного как в синтезе, так и в анализе. В дополнение к указанным специфическим РХП, образование которых возможно в РФЛП на основе ^{68}Ga , стоит указать и потенциальные продукты взаимодействия радионуклида со вспомогательными веществами, используемыми в синтезе. Так, например, в работе [58] продемонстрирована возможность образования комплекса ^{68}Ga с буферным агентом HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота), часто используемым в синтезе ^{68}Ga -РФЛП, что может снижать выход реакции синтеза РФЛП.

Химические примеси в препаратах галлия-68 и лютеция-177. Негативное влияние химических примесей на качество РФЛП уже отмечалось в предыдущих разделах. Для успешного проведения реакции синтеза любого меченого соединения нужен исходный раствор радионуклида исключительно высокой радионуклидной и радиохимической чистоты, с минимальным содержанием примесных металлов. Эти металлы, в том числе и атомы стабильных изотопов радионуклида, могут конкурировать с радионуклидом на стадии образования комплекса с конъюгатом «хелатор – векторная молекула», количество которого, как правило, составляет всего 10–20 мкг в диагностических РФЛП и порядка 100–200 мкг в терапевтических. Катионы Ga^{3+} , Fe^{3+} и некоторых редкоземельных элементов имеют во многом схожие химические свойства. Результаты систематического исследования закономерностей образования комплексов ^{90}Y , ^{111}In и ^{177}Lu с DOTATOC и DOTATATE были опубликованы W.A. Breeman и соавт. в 2003 г. [59]. Было исследовано влияние примесей металлов, которые могут быть внесены в раствор радионуклида «без добавления носителя» в результате технологического процесса, а также образоваться в результате распада радионуклида, на РХЧ препаратов. С целью оптимизации условий синтеза препаратов на основе перечисленных радионуклидов предложена условная классификация примесей металлов: присутствие катионов Ag^+ , Hf^{4+} , Hg^{2+} , Sr^{2+} , Zr^{4+} в количестве до 10 мкМ не влияет на выход целевого

комплекса с РХЧ $\geq 90\%$; в присутствии Ga^{3+} и Y^{3+} в интервале концентраций от 1 до 10 мкМ количество РХП в препарате $\geq 10\%$; в присутствии катионов Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , In^{3+} , Fe^{2+} , Lu^{3+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} даже в количестве 1 мкМ количество РХП в препарате $\geq 10\%$, то есть препарат неудовлетворительного качества. Необходимость определения примесей металлов на таком уровне концентраций обусловила необходимость применения в контроле более чувствительных аналитических методов по сравнению с используемым ранее методом эмиссионного спектрального анализа. В настоящее время не представляется возможной аттестация исходных растворов радионуклидов для получения РФЛП без применения метода атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. В результате аналогичных исследований условий получения различных комплексов галлия-68 были предложены технологии и устройства (модули) для очистки и концентрирования как элюатов генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ [54, 55], так и растворов [^{68}Ga]GaCl₃, получаемых на циклотроне [60], а также растворов других радионуклидов, применяемых в современной ядерной медицине.

Заключение

Проведен сравнительный анализ причин и источников образования радионуклидных, радиохимических и химических примесей в РФЛП, различающихся как по назначению (радионуклидная диагностика, радионуклидная терапия), так и по химическим свойствам радионуклидов, входящих в их состав. Обсуждены возможные подходы и методы обнаружения и количественного определения перечисленных видов примесей. Показано, что основными критериями, обеспечивающими необходимый уровень безопасности и эффективности любого РФЛП, являются радионуклидная чистота (минимальное содержание радионуклидных примесей) и радиохимическая чистота (отсутствие или минимальное содержание радиохимических примесей), на которую оказывает влияние в том числе наличие химических примесей.

Однако до настоящего времени Государственная фармакопея Российской Федерации не содержит фармакопейных статей на РФЛП, и имеется только одна общая фармакопейная статья²⁹, которая, безусловно, нуждается в обновлении или замене. Поэтому провести сравнительное исследование требований отечественной и зарубежной документации не представлялось возможным. Пришлось ограничиться только цитированием материалов других фармакопей. Вместе с тем

практически все перечисленные в обзоре РФЛП уже используются (пусть и с разной степенью широты) в России. При этом нормативная документация производителей РФЛП недоступна (да и не должна быть доступна) широкому кругу специалистов, работающих в различных сферах обращения РФЛП. Следовательно, предстоит большая работа в плане быстрой разработки и публикации необходимых документов, а также гармонизации отечественной фармакопеи с Фармакопеей Евразийского экономического союза (ЕАЭС) и Европейской фармакопеей. Проблема разработки и аттестации отечественных фармакопейных стандартных образцов для контроля качества РФЛП также не решена. Поэтому прямое копирование методов,

описанных в Европейской фармакопее, и дальнейшее их включение в Фармакопею ЕАЭС невозможно. Решение этих проблем необходимо для развития на новом уровне технологий российской ядерной медицины и обеспечения пациентов качественными и эффективными радиофармацевтическими лекарственными средствами в полном объеме.

Сведения и выводы, представленные в публикации, могут быть использованы в процессе профессиональной подготовки персонала, занятого или планирующего участие в исследованиях, производстве и других сферах обращения радиофармацевтических лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bornholdt MG, Woelfel KM, Fang P, Jacobson MS, Hung JC. Rapid ITLC system for determining the radiochemical purity of ^{68}Ga -DOTATATE. *J Nucl Med Technol*. 2018;46(3):285–7. <https://doi.org/10.2967/jnmt.117.200873>
- Zolle I., ed. *Technetium-99m pharmaceuticals: Preparation and quality control in nuclear medicine*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 2007. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-33990-8>
- Papagiannopoulou D. Technetium-99m radiochemistry for pharmaceutical applications. *J Labelled Comp Radiopharm*. 2017;60(11):502–20. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3531>
- Hou X. Determination of radionuclidic impurities in $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluate from $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator for quality control. *J Radioanal Nucl Chem*. 2017;314:659–68. <https://doi.org/10.1007/s10967-017-5369-9>
- Hasan S, Prelas MA. Molybdenum-99 production pathways and the sorbents for $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator systems using (n, γ) ^{99}Mo : a review. *SN Applied Sciences*. 2020;2:1782. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03524-1>
- Tsivadze AY, Filyanin AT, Filyanin OA, Avetisyan AE, Zykov MP, Kodina GE, et al. Radiochemical technology for production of preparations of technetium – 99m on extraction centrifugal semi-countercurrent generator. *J Nucl Med Radiol Radiat Ther*. 2017;2:007. <https://doi.org/10.24966/NMRR-7419/100007>
- Vallabhajosula S, Killeen RP, Osborne JR. Altered biodistribution of radiopharmaceuticals: role of radiochemical/pharmaceutical purity, physiological, and pharmacologic factors. *Semin Nucl Med*. 2010;40(4):220–41. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2010.02.004>
- Opportunities and approaches for supplying molybdenum-99 and associated medical isotopes to global markets*. Proceedings of a symposium. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Washington (DC): The National Academies Press; 2018. <https://doi.org/10.17226/24909>
- Selivanova SV, Lavallée É, Senta H, Caouette L, Sader JA, van Lier EJ, et al. Radioisotopic purity of sodium pertechnetate $^{99\text{m}}\text{Tc}$ produced with a medium-energy cyclotron: implications for internal radiation dose, image quality, and release specifications. *J Nucl Med*. 2015;56(10):1600–8. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.156398>
- Selivanova SV, Lavallée É, Senta H, Caouette L, McEwan AJB, Guérin B, et al. Clinical trial with sodium $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate produced by a medium-energy cyclotron: biodistribution and safety assessment in patients with abnormal thyroid function. *J Nucl Med*. 2017;58(5):791–8. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.178509>
- Tymiński Z, Saganowski P, Kołakowska E, Listkowska A, Ziemek T, Cacko D, et al. Impurities in Tc-99m radiopharmaceutical solution obtained from Mo-100 in cyclotron. *Appl Radiat Isot*. 2018;134:85–8. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2017.10.021>
- Andersson JD, Thomas B, Selivanova SV, Berthellette E, Wilson JS, McEwan AJB, et al. Robust high-yield ~ 1 TBq production of cyclotron based sodium [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]pertechnetate. *Nucl Med Biol*. 2018;60:63–70. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2018.02.003>
- Meléndez-Alafort L, Ferro-Flores G, De Nardo L, Bello M, Piusco M, Negri A, et al. Internal radiation dose assessment of radiopharmaceuticals prepared with cyclotron-produced $^{99\text{m}}\text{Tc}$. *Med Phys*. 2019;46(3):1437–46. <https://doi.org/10.1002/mp.13393>
- Lepareur N, Lacœuille F, Bouvry C, Hindré F, Garcion E, Chérel M, et al. Rhenium-188 labeled radiopharmaceuticals: current clinical applications in oncology and promising perspectives. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:132. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00132>
- Цивадзе АЮ, Филянин АТ, Романовский ВН, Зыков МП, Кодина ГЕ, Малышева АО и др. Экстракционный центробежный генератор ^{188}Re и радиофармпрепараты на его основе для радионуклидной терапии. *Радиохимия*. 2016;58(5):443–9.

²⁹ ОФС.1.11.0001.15 Радиофармацевтические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

- [Tsivadze AYu, Filyanin AT, Romanovskii VN, Zykov MP, Kodina GE, Malysheva AO, et al. Extraction centrifugal generator of ^{188}Re and radiopharmaceuticals based on it for radionuclide therapy. *Radiochemistry*. 2016;58(5):513–20] <https://doi.org/10.1134/S1066362216050118>
16. Зверев АВ, Клементьева ОЕ, Жукова МВ, Краснопорова АС. Доклиническая оценка терапевтического потенциала радиофармацевтического лекарственного препарата на основе микросфер альбумина 5–10 мкм с рением-188. *РМЖ*. 2018;4(1):31–5. [Zverev AV, Klementyeva OE, Zhukova MV, Krasnoporova AS. Preclinical evaluation of the therapeutic potential of a radiopharmaceutical drug based on 5–10 micron albumin microspheres with rhenium-188. *RMJ*. 2018;4(1):31–5 (In Russ.)]
 17. Кодина ГЕ, Малышева АО, Клементьева ОЕ, Таратоненкова НА, Лямцева ЕА, Жукова МВ и др. «Синорен, ^{188}Re » — потенциальный радиофармацевтический лекарственный препарат для радиосиноэктоми. *Радиация и риск*. 2018;27(4):76–86. [Kodina GE, Malysheva AO, Klementyeva OE, Taratonenkova NA, Lyamtseva EA, Zhukova MV, et al. «Synoren, ^{188}Re » — a promising radiopharmaceutical for radiosynovectomy. *Radiatsiya i risk = Radiation and Risk*. 2018;27(4):76–86 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21870/0131-3878-2018-27-4-76-86>
 18. Hammermaier A, Reich E, Biigl W. Chemical, radiochemical, and radionuclide purity of eluates from different commercial fission $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generators. *Eur J Nucl Med*. 1986;12(1):41–6. <https://doi.org/10.1007/bf00638794>
 19. Brandau W, Hotze L-A, Meyer G-J. Radiochemie. In: Ball U, Schicha H, Biersack H-J, Knapp WH, Reiners Chr, Schober O, eds. *Nuklearmedizin*. Stuttgart: Georg Thieme; 1996. P. 79–113.
 20. Ullah H, Ahmad I, Khattak MR, Shah S, Ahmad S, Khan K, et al. Evaluation of radiochemical purities of routinely used radiopharmaceuticals: Three years' experience of a single institute. *Iran J Nucl Med*. 2019;27(1):19–25.
 21. Maioli C, Luciniani G, Strinchini A, Tagliabue L, Del Sole A. Quality control on radiochemical purity in Technetium-99m radiopharmaceuticals labelling: three years of experience on 2280 procedures. *Acta Biomed*. 2017;88(1):49–56.
 22. Mang'era K, Wong D, Douglas D, Franz K, Biru T. Evaluation of alternative rapid thin layer chromatography systems for quality control of technetium-99m radiopharmaceuticals. *Appl Radiat Isot*. 2014;86:57–62. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2013.12.016>
 23. Ponto JA, Swanson DP, Freitas JE. Clinical manifestations of radiopharmaceutical formulation problems. In: Hladik WB III, Saha GB, Study KT, eds. *Essentials of nuclear medicine science*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1987. P. 270–4.
 24. McCready VR. Radioiodine — the success story of nuclear medicine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44(2):179–82. <https://doi.org/10.1007/s00259-016-3548-5>
 25. Mishra A, Singh T. Estimation and verification of ^{131}I yield from fission and irradiation of tellurium. *Appl Radiat Isot*. 2021;168:109535. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109535>
 26. Smart BE. Fluorine substituent effects (on bioactivity). *J of Fluorine Chem*. 2001;109(1):3–11. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(01\)00375-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(01)00375-X)
 27. Chiappiniello A, Iacco M, Rongoni A, Susta F, Sabatini P, Beneventi S, Tarducci R. Assessment of radionuclide impurities in [^{18}F]fluoromethylcholine ([^{18}F]FMCH). *Phys Med*. 2020;78:150–5. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2020.09.025>
 28. Siikanen J, Ohlsson T, Medema J, Van-Essen J, Sandell A. A niobium water target for routine production of [^{18}F]Fluoride with a MC 17 cyclotron. *Appl Radiat Isot*. 2013;72:133–6. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.10.011>
 29. Bowden L, Vintro LL, Mitchell PI, O'Donnell RG, Seymour AM, Duffy GJ. Radionuclide impurities in proton-irradiated [^{18}O]H $_2$ O for the production of ^{18}F : Activities and distribution in the [^{18}F]FDG synthesis process. *Appl Radiat Isot*. 2009;67(2):248–55. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2008.10.015>
 30. Metzger RL, Lasche GP, Eckerman KF, Leggett RW. Long-lived contaminants in cyclotron-produced radiopharmaceuticals: measurement and dosimetry. *J Radioanal Nucl Chem*. 2018;318(4):7–10. <https://doi.org/10.1007/s10967-018-5970-6>
 31. Dziel T, Tyminiński Z, Sobczyk K, Wałęcka-Mazur A, Kozanecki P. Radionuclidic purity tests in ^{18}F radiopharmaceuticals production process. *Appl Radiat Isot*. 2016;109:242–6. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.11.008>
 32. Savisto N, Bergman J, Aromaa J, Forsback S, Eskola O, Viljanen T. et al. Influence of transport line material on the molar activity of cyclotron produced [^{18}F]fluoride. *Nucl Med Biol*. 2018;64–65:8–15. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2018.06.004>
 33. Kozirowski J. A simple method for the quality control of [^{18}F]FDG. *Appl Radiat Isot*. 2010;68(9):1740–2. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2010.03.006>
 34. Kuntzsch M, Lamparter D, Brüggner N, Müller M, Kienzle GJ, Reischl G. Development and successful validation of simple and fast TLC spot tests for determination of Kryptofix 2.2.2 and tetrabutylammonium in ^{18}F -labeled radiopharmaceuticals. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2014;7(5):621–33. <https://doi.org/10.3390/ph7050621>
 35. Antuganov D, Antuganova Y, Zykova T, Krasiukova R. Use of capillary electrophoresis for the determination of impurities in preparations of fluorine-18 labelled PET radiopharmaceuticals. *J Pharm Biomed Anal*. 2019;173:68–74. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.05.016>
 36. Rösch F. and Riss P.J. The renaissance of the $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ radionuclide generator initiates new development in ^{68}Ga radiofarmaceutical chemistry. *Curr Top Med Chem*. 2010;10(16):1633–68. <https://doi.org/10.2174/156802610793176738>
 37. Ambrosini V, Kunikowska J, Baudin E, Bodei L, Bouvier C, Capdevila J, et al. Consensus on molecular imaging and theranostics in neuroendocrine neoplasms. *Eur J Cancer*. 2021;146:56–73. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.01.008>

38. Lepareur N. Cold kit labeling: the future of ^{68}Ga radiopharmaceuticals? *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:812050. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.812050>
39. Velikyan I. ^{68}Ga -based radiopharmaceuticals: Production and application relationship. *Molecules*. 2015;20(7):12913–43. <https://doi.org/10.3390/molecules200712913>
40. Velikyan I. Prospective of ^{68}Ga -radiopharmaceutical development. *Theranostics*. 2014;4(1):47–80. <https://doi.org/10.7150/thno.7447>
41. Satpati D. Recent breakthrough in ^{68}Ga -radiopharmaceuticals cold kits for convenient PET radiopharmacy. *Bioconj Chem*. 2021;32(3):430–47. <https://doi.org/10.1021/ACS.BIOCONJCHEM.1C00010>
42. Kumar K. The current status of the production and supply of gallium-68. *Cancer Biother Radiopharm*. 2020;35(3):163–6. <https://doi.org/10.1089/cbr.2019.3301>
43. Tsionou MI, Knapp CE, Foley CA, Munteanu CR, Cakebread A, Imberti C, et al. Comparison of macrocyclic and acyclic chelators for gallium-68 radiolabelling. *RSC Adv*. 2017;7(78):49586–99. <https://doi.org/10.1039/C7RA09076E>
44. Spang P, Herrmann C, Roesch F. Bifunctional gallium-68 chelators: past, present, and future. *Semin Nucl Med*. 2016;46(5):373–94. <https://doi.org/10.1053/j.semnucmed.2016.04.003>
45. Burke BP, Clemente GS, Archibald SJ. Recent advances in chelator design and labelling methodology for ^{68}Ga radiopharmaceuticals. *J Label Compd Radiopharm*. 2014;57(4):239–43. <https://doi.org/10.1002/JLCR.3146>
46. Kubiček V, Havlíčková J, Kotek J, Tircsó G, Hermann P, Tóth E, et al. Gallium(III) complexes of DOTA and DOTA-Monoamide: Kinetic and thermodynamic studies. *Inorg Chem*. 2010;49(23):10960–9. <https://doi.org/10.1021/jc101378s>
47. Wood SA, Samson IM. The aqueous geochemistry of gallium, germanium, indium and scandium. *Ore Geol Rev*. 2006;28(1):57–102. <https://doi.org/10.1016/j.oregeorev.2003.06.002>
48. Bois F, Noirot C, Dietemann S, Mainta IC, Zilli T, Garibotto V, et al. [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 in prostate cancer: a comprehensive review. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;10(6):349–74. PMID: 33329937
49. Hennrich U, Eder M. [^{68}Ga]Ga-PSMA-11: the first FDA-approved ^{68}Ga -radiopharmaceutical for PET imaging of prostate cancer. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(8):713. <https://doi.org/10.3390/PH14080713>
50. Eder M, Wängler B, Knackmuss S, LeGall F, Little M, Haberkorn U, et al. Tetrafluorophenolate of HBED-CC: a versatile conjugation agent for ^{68}Ga -labeled small recombinant antibodies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(10):1878–86. <https://doi.org/10.1007/S00259-008-0816-Z>
51. Schuhmacher J, Klivényi G, Hull WE, Matys R, Hauser H, Kalthoff H, et al. A bifunctional HBED-derivative for labeling of antibodies with ^{67}Ga , ^{111}In and ^{59}Fe . Comparative biodistribution with ^{111}In -DPTA and ^{131}I -labeled antibodies in mice bearing antibody internalizing and non-internalizing tumors. *Int J Radiat Appl Instrumentation Part B Nucl Med Biol*. 1992;19(8):809–24. [https://doi.org/10.1016/0883-2897\(92\)90167-W](https://doi.org/10.1016/0883-2897(92)90167-W)
52. Schuhmacher J, Klivényi G, Matys R, Stadler M, Reigert T, Hauser H, et al. Multistep tumor targeting in nude mice using bispecific antibodies and a gallium chelate suitable for immunoscintigraphy with positron emission tomography. *Cancer Res*. 1995;55(1):115–23. PMID: 7805020
53. Eder M, Neels O, Müller M, Eder M, Neels O, Müller M, et al. Novel preclinical and radiopharmaceutical aspects of [^{68}Ga]Ga-PSMA-HBED-CC: a new PET tracer for imaging of prostate cancer. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2014;7(7):779–96. <https://doi.org/10.3390/ph7070779>
54. Zhernosekov KP, Filosofov DV, Baum RP, Aschoff P, Bihl H, Razbash AA, et al. Processing of generator-produced ^{68}Ga for medical application. *J Nucl Med*. 2007;48(10):1741–8. <https://doi.org/10.2967/JNUMED.107.040378>
55. Mueller D, Klette I, Baum RP, Gottschaldt M, Schultz MK, Breeman WAP. Simplified NaCl based ^{68}Ga concentration and labeling procedure for rapid synthesis of ^{68}Ga radiopharmaceuticals in high radiochemical purity. *Bioconj Chem*. 2012;23(8):1712–7. <https://doi.org/10.1021/bc300103t>
56. Meisenheimer M, Kürpig S, Essler M, Eppard E. Ethanol effects on ^{68}Ga -radiolabelling efficacy and radiolysis in automated synthesis utilizing NaCl post-processing. *EJNMMI Radiopharm Chem*. 2019;4(1):1–10. <https://doi.org/10.1186/S41181-019-0076-1>
57. Mu L, Hesselmann R, Oezdemir U, Bertschi L, Blanc A, Dragic M, et al. Identification, characterization and suppression of side-products formed during the synthesis of high dose ^{68}Ga -DOTA-TATE. *Appl Radiat Isot*. 2013;76:63–9. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.07.022>
58. Martins AF, Prata MIM, Rodrigues SPJ, Geraldies CF, Riss PJ, et al. Spectroscopic, radiochemical, and theoretical studies of the Ga^{3+} -N-2-hydroxyethyl piperazine-N'-2-ethanesulfonic acid (HEPES buffer) system: Evidence for the formation of Ga^{3+} -HEPES complexes in ^{68}Ga labeling reactions. *Contrast Media Mol Imaging*. 2013;8(3):265–73. <https://doi.org/10.1002/cmmi.1517>
59. Breeman WA, De Jong M, Visser TJ, Erion JL, Krenning EP. Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with ^{90}Y , ^{111}In and ^{177}Lu at high specific activities. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30(6):917–20. <https://doi.org/10.1007/s00259-003-1142-0>
60. Jussing E, Milton S, Samén E, Moein MM, Bylund L, Axelsson R, et al. Clinically applicable cyclotron-produced Gallium-68 gives high-yield radiolabeling of DOTA-based tracers. *Biomolecules*. 2021;11(8):1118. <https://doi.org/10.3390/biom11081118>

Вклад авторов. Г.Е. Кодина — идея исследования, подбор и анализ литературы, ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей статьи, редактирование и дополнение окончательного варианта статьи для публикации; А.О. Малышева — подбор и анализ литературы по разделу «Препараты технеция-99м и рения-188», участие в написании, оформлении и редактировании текста рукописи; А.А. Ларенков — подбор и анализ литературы по разделу «Препараты на основе галлия-68», участие в написании текста рукописи; А.Б. Брускин — подбор и анализ литературы по подразделам, касающимся препаратов на основе фтора-18, участие в написании текста рукописи.

Благодарности. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания Федерального медико-биологического агентства России, регистрационный № НИОКТР 122031100212-9.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Galina E. Kodina — elaboration of the study idea, selection and analysis of literature, supervision of all study aspects, responsibility for the integrity of the article, editing and supplementation of the final version of the article for publication; Anna O. Malysheva — selection and analysis of literature for the section on ^{99m}Tc and ^{188}Re radiopharmaceuticals, participation in writing, formatting and editing of the text of the manuscript; Anton A. Larenkov — selection and analysis of literature for the section on ^{68}Ga -based radiopharmaceuticals, participation in writing of the text of the manuscript; Alexander B. Bruskin — selection and analysis of literature for the section on ^{18}F -based radiopharmaceuticals, participation in writing of the text of the manuscript.

Acknowledgements. The study was performed as part of the state assignment for the Federal Medical Biological Agency of Russia (R&D public accounting No. 122031100212-9).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кодина Галина Евгеньевна, канд. хим. наук, доцент.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3415-4329>

gkodina@yandex.ru

Малышева Анна Олеговна.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9508-2840>

an-malysheva@yandex.ru

Ларенков Антон Алексеевич, канд. хим. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4810-4346>

anton.larenkov@gmail.com

Брускин Александр Борисович, канд. хим. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0563-9669>

raphar@mail.ru

Galina E. Kodina, Dr. Sci. (Chem.), Assoc. Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3415-4329>

gkodina@yandex.ru

Anna O. Malysheva.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9508-2840>

an-malysheva@yandex.ru

Anton A. Larenkov, Dr. Sci. (Chem.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4810-4346>

anton.larenkov@gmail.com

Alexander B. Bruskin, Cand. Sci. (Chem.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0563-9669>

raphar@mail.ru

Статья поступила 24.06.2022

После доработки 10.08.2022

Принята к печати 31.08.2022

Article was received 24 June 2022

Revised 10 August 2022

Accepted for publication 31 August 2022



Е.Л. Ковалева 
К.С. Архипова 
Е.А. Булова 
А.А. Стралковская 
О.О. Терентьева 

Контроль органических примесей в полусинтетических антибиотиках

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

✉ Ковалева Елена Леонардовна; Kovaleva@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

В 2012 г. Европейским агентством по лекарственным средствам утверждено руководство, согласно которому все антибиотики разделены на группы в соответствии с технологией их получения. Для каждой группы установлены критерии приемлемости содержания органических примесей. **Цель работы:** обосновать требования и методические подходы к контролю органических примесей в лекарственных средствах полусинтетических антибиотиков. **Материалы и методы:** проведен анализ требований отечественной и ведущих зарубежных фармакопей к допустимому содержанию органических примесей в полусинтетических антибиотиках на примере четырех из них: доксициклина хиклат, кларитромицин, меропенем и цефтриаксон. В работе использовали методы сравнительного информационно-аналитического исследования и контент-анализа. **Результаты:** показано, что профиль органических примесей в монографиях ведущих зарубежных фармакопей на одноименную фармацевтическую субстанцию, а также лекарственный препарат, для каждого из исследуемых лекарственных средств, как правило, различается либо качественно, либо количественно. В методиках определения примесей в фармацевтических субстанциях рассматриваемых полусинтетических антибиотиков согласно Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ), Европейской фармакопее и Фармакопее США предусмотрено применение стандартных образцов примесей, тогда как Японская фармакопея для оценки разделительной способности хроматографической системы допускает использование веществ, которые не являются фармакопейными стандартными образцами. **Выводы:** актуальным вопросом становится способность фармакопейного стандарта учитывать многообразие лекарственных средств, поступающих на российский рынок из разных стран. Это касается используемых методик определения примесей, применения стандартных образцов, норм, поскольку единая методика и нормы не всегда позволяют корректно оценивать профиль примесей в субстанциях, полученных различным способом. Фармакопея США в настоящее время практикует включение в монографии на лекарственные средства различных методик для контроля примесей, при этом могут различаться также и нормы. Такой подход может быть применен и в ГФ РФ.

Ключевые слова: полусинтетические антибиотики; контроль органических примесей; идентификация родственных примесей; стандартные образцы примесей; требования ведущих фармакопей

Для цитирования: Ковалева Е.Л., Архипова К.С., Булова Е.А., Стралковская А.А., Терентьева О.О. Контроль органических примесей в полусинтетических антибиотиках. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(3):263–276. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-263-276>

E.L. Kovaleva 
K.S. Arkhipova 
E.A. Bulova 
A.A. Stralkovskaya 
O.O. Terentieva 

Control of Organic Impurities in Semisynthetic Antibiotics

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

✉ Elena L. Kovaleva; Kovaleva@expmed.ru

ABSTRACT

In 2012, the European Medicines Agency adopted a guideline, which divided all antibiotics into groups according to the manufacturing process and established acceptance criteria for organic impurities for each of the groups. **The aim of the study** was to justify the requirements and methodological approaches to setting the limits for organic impurities in semisynthetic antibiotics. **Materials and methods:** the authors analysed the requirements established by the leading world pharmacopoeias and the State Pharmacopoeia of the Russian Federation regarding the control of organic impurities in semisynthetic antibiotics, using the example of four semisynthetic antibiotics: doxycycline hyclate, clarithromycin, meropenem, and ceftriaxone. The study used the methods of comparative analysis and content analysis. **Results:** the study demonstrated that the organic impurity profiles of the analysed active substances and the corresponding finished medicinal products often differ significantly across the leading pharmacopoeias, either qualitatively or quantitatively. The Russian, European, and United States pharmacopoeias provide for the use of impurity reference standards in the test procedures for the determination of impurities in active substances of the semisynthetic antibiotics in question, whereas the Japanese Pharmacopoeia allows the use of non-compendial reference substances in the assessment of the chromatographic system separation power. **Conclusions:** the ability of a pharmacopoeial text to cover a variety of medicinal products coming to the Russian market from different countries has become a vital issue. This includes covering the impurity determination procedures, reference standards, and limits used, because general-purpose methods and limits do not always allow for correct assessment of impurity profiles in substances produced by different manufacturing processes. The current USP practice is to include various impurity control procedures in monographs on medicinal products, and the limits may also vary. This approach may be applied in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation as well.

Key words: semisynthetic antibiotics; organic impurity control; related substance identification; impurity reference standards; requirements of leading pharmacopoeias

For citation: Kovaleva E.L., Arkhipova K.S., Bulova E.A., Stralkovskaya A.A., Terentieva O.O. Control of organic impurities in semisynthetic antibiotics. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):263–276. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-263-276>

Введение

Общие требования к контролю органических примесей в лекарственных средствах приведены в отечественной фармакопее в общих фармакопейных статьях (ОФС) «Фармацевтические субстанции»¹ и «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах»², в монографиях Европейской

фармакопеи (Ph. Eur.)³ и Фармакопеи США (USP)⁴, руководствах Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) Q3A⁵ и Q3B⁶. В руководствах ICH Q3A и Q3B указано, что они не распространяются

¹ ОФС.1.1.0006.15. Фармацевтические субстанции. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.
² ОФС.1.1.0023.18. Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.
³ General monograph 01/2021:2034 Substances for pharmaceutical use. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2021.
⁴ Control of organic impurities in drug substances and drug products <476>. United States Pharmacopoeia. USP 43–NF 38. 2021.
⁵ CPMP/ICH/2737/99. ICH Topic Q3A (R2) Note for guidance on impurities testing: impurities in new drug substances. EMA; 2006.
⁶ CPMP/ICH/2738/99. ICH Topic Q3B (R2) Note for guidance on impurities in new drug products. EMA; 2006.

на полусинтетические лекарственные средства, полученные из продуктов ферментации.

Полусинтетические антибиотики получают из ферментативного исходного материала с помощью процесса, в котором происходят, по меньшей мере, разрыв и образование новых ковалентных связей и который включает стадии экстракции, очистки⁷. Чем короче путь синтеза после ферментации и чем сложнее по составу продукт, полученный после ферментации, тем вероятнее, что к нему не могут быть применимы подходы ICH Q3A, Ph. Eur. и ОФС «Фармацевтические субстанции»⁸.

В 2012 г. Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) было утверждено руководство⁹ по составлению спецификаций для родственных примесей в антибиотиках [1]. Поскольку это руководство действует практически 10 лет и нормативная база ЕАЭС создается на основе документов Европейского союза, оценка применения принципов этого руководства в частных фармакопейных статьях ведущих зарубежных фармакопей и Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) для контроля примесей в антибиотиках имеет научно-практическое значение.

Нами была рассмотрена группа полусинтетических антибиотиков.

В руководстве ЕМА для фармацевтических субстанций полусинтетических антибиотиков приведены требования к органическим примесям, соответствующие критериям ICH Q3A (табл. 1). Эти требования применимы к антибиотикам, если полусинтетическая фармацевтическая субстанция состоит из одного соединения, а не из группы близкородственных соединений.

Следует отметить, что нормы содержания органических примесей в фармацевтических субстанциях согласно ICH Q3A устанавливаются

исходя из максимальной суточной дозы соответствующих лекарственных препаратов (ЛП) и длительности их применения.

В то же время для ЛП, фармацевтические субстанции которых представляют собой полусинтетические антибиотики, нормы по примесям в руководстве ЕМА установлены независимо от суточной дозы, как это предусмотрено в руководстве ICH Q3B, и составляют:

- 0,1% – порог регистрации примеси;
- 0,2% – порог идентификации примеси;
- 0,2% – порог квалификации примеси.

Цель работы – обосновать требования и методические подходы к контролю органических примесей в фармацевтических субстанциях и парентеральных лекарственных препаратах полусинтетических антибиотиков, представляющих собой рассыпку фармацевтической субстанции или лиофилизат.

Задачи исследования:

1. Сравнительный анализ требований ГФ РФ и ведущих зарубежных фармакопей к контролю органических примесей в фармацевтических субстанциях полусинтетических антибиотиков.
2. Сравнительный анализ требований ГФ РФ и ведущих зарубежных фармакопей к контролю органических примесей в парентеральных лекарственных препаратах полусинтетических антибиотиков, представляющих собой рассыпку фармацевтической субстанции или лиофилизат.
3. Оценка соответствия требований ведущих зарубежных фармакопей и ГФ РФ требованиям руководства ЕМА к контролю и нормированию содержания органических примесей в полусинтетических антибиотиках.
4. Оценка методических подходов к контролю органических примесей в фармацевтических субстанциях и ЛП полусинтетических антибиотиков в монографиях ведущих зарубежных фармакопей на фармацевтические субстанции полусинтетических антибиотиков.

Таблица 1. Критерии для установления порога нормирования, идентификации и квалификации органических примесей в фармацевтических субстанциях согласно руководству ICH Q3A

Table 1. Reporting, identification, and qualification thresholds for organic impurities in active substances, according to ICH Q3A

Максимальная суточная доза, г <i>Maximum daily dose, g</i>	Порог регистрации примеси, % <i>Reporting threshold, %</i>	Порог идентификации примеси, % <i>Identification threshold, %</i>	Порог квалификации примеси, % <i>Qualification threshold, %</i>
≤2	0,05	0,10	0,15
>2	0,03	0,05	0,05

⁷ ЕМА/CHMP/CVMP/QWP/199250/2009. Guideline on setting specifications for related impurities in antibiotics. EMA; 2012.

⁸ ОФС.1.1.0006.15. Фармацевтические субстанции. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁹ ЕМА/CHMP/CVMP/QWP/199250/2009. Guideline on setting specifications for related impurities in antibiotics. EMA; 2012.

Материалы и методы

Проведен анализ фармакопейных статей и монографий отечественной и ведущих зарубежных фармакопей¹⁰, регламентирующих качество полусинтетических антибиотиков доксициклина хиклата, кларитромицина, цефтриаксона и меропенема, а также руководств ЕМА и ИСН, включающих требования к органическим примесям в лекарственных средствах. В работе использовали методы сравнительного информационно-аналитического исследования и контент-анализа.

Применяемые в качестве лекарственных средств полусинтетические антибиотики представлены следующими основными группами¹¹:

- пенициллины (оксациллина натриевая соль, амоксициллин, тикарциллин, карфециллин, ампициллин+сульбактам, амоксициллин+клавулановая кислота, пиперациллин+тазобактам);
- цефалоспорины (цефалотин, цефалексин, цефаклор, цефотаксим, цефуроксим, цефоперазон, цефтриаксон);
- карбапенемы (имипенем, имипенем+циластатин, меропенем);
- макролиды (кларитромицин, рокситромицин, азитромицин);
- тетрациклины (доксициклина хиклат, миноциклин);

- циклические полупептиды (даптомицин, полимиксины).

С целью обоснования требований к контролю примесей в полусинтетических антибиотиках нами выбраны 4 лекарственных средства, относящихся к жизненно необходимым и важнейшим лекарственным препаратам из групп: тетрациклины (доксициклина хиклат), макролиды (кларитромицин), цефалоспорины (цефтриаксон), карбапенемы (меропенем).

По данным Государственного реестра лекарственных средств¹² (табл. 2) из четырех выбранных наименований наибольшее количество зарегистрированных в России препаратов представлено для антибиотиков групп цефалоспоринов и карбапенемов.

К группе тетрациклинов относятся природные — тетрациклин и окситетрациклин и полусинтетический антибиотик — доксициклин. Тетрациклины — классические бактериостатики. Имеют широкий спектр антимикробной активности в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и некоторых простейших. Как препараты выбора их используют при особо опасных инфекциях, при инфекциях, передаваемых половым путем, некоторых формах инфекции верхних и нижних дыхательных путей и др.¹³

Макролиды рассматриваются как один из наиболее безопасных классов антимикробных препаратов. Кларитромицин обладает

Таблица 2. Фармацевтические субстанции и лекарственные препараты доксициклина хиклата, кларитромицина, цефтриаксона и меропенема для парентерального применения согласно данным Государственного реестра лекарственных средств

Table 2. Doxycycline hyclate, clarithromycin, meropenem, and ceftriaxone active substances and parenteral products in the Russian State Register of Medicinal Products

Наименование антибиотика <i>Antibiotic name</i>	Количество фармацевтических субстанций <i>Number of active substances</i>	Количество лекарственных препаратов для парентерального применения <i>Number of parenteral medicinal products</i>
Доксициклина хиклат <i>Doxycycline hyclate</i>	1	2
Кларитромицин <i>Clarithromycin</i>	6	3
Цефтриаксон натрия <i>Ceftriaxone sodium</i>	14	55
Меропенем <i>Meropenem</i>	11	30

¹⁰ United States Pharmacopeia. USP 43–NF 38. 2021.
European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2021.
Japanese Pharmacopoeia. 18th ed. English version. Tokyo; 2021.
British Pharmacopoeia. 2019 ed.

¹¹ Харкевич ДА. Фармакология. Учебник. М.: ГЭОТАР Медиа; 2006.
Клец ОП, Минакина ЛН. Антибиотики: учебное пособие для студентов всех факультетов. Иркутск: ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России; 2013.

¹² <https://grls.rosminzdrav.ru/>

¹³ Хабриев РУ. Антибактериальные лекарственные средства. Методы стандартизации препаратов. Пособие. М.: Медицина; 2004.

высокой активностью в отношении клинически значимых грамположительных бактерий — стафилококков, стрептококков и некоторых других, а также некоторых грамотрицательных бактерий (*Bordetella pertussis*, *Helicobacter pylori* и некоторых других). Макролиды редко вызывают тяжелые нежелательные реакции. Кларитромицин успешно применяется в том числе для эрадикации *Helicobacter pylori* и в педиатрической практике.

Цефалоспорины (β -лактамы антибиотиков) являются производными 7-аминоцефалоспориновой кислоты, в структуре которой имеется 2 кольца: β -лактамное и дигидротиазиноное. Первый представитель группы цефалоспоринов (цефалоспоринон С) был выделен из гриба *Cephalosporium acremonium*. Цефалоспорины можно подразделить на природные (цефалоспоринон С) и полусинтетические. Полусинтетические цефалоспорины имеют преимущество по сравнению с природными, поскольку обладают большей активностью, более широким спектром действия, улучшенными фармакокинетическими свойствами, большей устойчивостью к лактаме.

Полусинтетические цефалоспорины подразделяются на четыре поколения. Цефтриаксон относится к цефалоспорином третьего поколения. В целом цефалоспорины третьего поколения отличаются от первого и второго поколений по спектру антибактериального действия (активны в отношении неспорообразующих грамотрицательных анаэробов, синегнойной палочки и других неферментирующих бактерий), по фармакокинетическим свойствам, по устойчивости к β -лактамазам, хорошо переносятся. Цефтриаксон выделяется среди цефалоспоринов третьего поколения по своим фармакокинетическим характеристикам (период полувыведения $T_{1/2}$ равен 8 ч, то есть препарат можно вводить 1–2 раза в сутки).

Карбапенемы имеют самый широкий из всех β -лактамов спектр активности (грамотрицательные и грамположительные аэробы, анаэробы). Приобретенная резистентность к карбапенемам возникает редко. Карбапенемы характеризуются хорошей переносимостью и низкой частотой развития нежелательных реакций. Меропенем может использоваться как препарат выбора для эмпирической монотерапии тяжелых угрожающих жизни инфекций¹⁴.

¹⁴ Там же.

¹⁵ <https://grls.rosminzdrav.ru/>

Результаты и обсуждение

Анализ требований к контролю органических примесей в лекарственных средствах доксициклина хиклата. Доксициклин является полусинтетическим представителем тетрациклинов — одного из самых известных и изученных классов антимикробных препаратов [2]. Доксициклина хиклат получают из окситетрациклина или метациклина, которые, в свою очередь, являются продуктами ферментации. Из окситетрациклина доксициклина хиклат (гидрохлорид гемизетанолатгемигидрата) получают путем четырехстадийного синтеза.

Фармацевтическая субстанция доксициклина хиклата не описана в ГФ РФ. По результатам сравнительного анализа требований Ph. Eur., USP и Японской фармакопеи (JP) к контролю содержания примесей в фармацевтической субстанции доксициклина хиклата выявлено, что требования к допустимому содержанию примесей различаются. Согласно Ph. Eur. нормы содержания примесей более жесткие, а профиль идентифицированных специфицируемых примесей включает 2 дополнительные примеси по сравнению с принятым согласно USP и JP. В USP указано, что основным продуктом деградации доксициклина хиклата является 4-эпидоксициклин (табл. 3). С июня 2022 г. USP дополнительно введено нормирование еще одной идентифицированной примеси и, таким образом, качественный профиль примесей согласно Ph. Eur. и USP стал одинаковым. Однако пределы содержания идентифицированных примесей метациклина, родственной примеси F, 4-эпидоксициклина и суммы примесей различаются, причем по двум из трех примесей существенно.

Согласно инструкции по медицинскому применению максимальная суточная доза доксициклина для ЛП, зарегистрированных в России, составляет 600 мг, длительность приема — 5 сут¹⁵. Если максимальная суточная доза ЛП превышает 2 г, то, как указано в руководстве ЕМА, при содержании примесей в фармацевтических субстанциях полусинтетических антибиотиков более 0,10 % их следует идентифицировать. Это требование выполняется только в монографии Ph. Eur. и с июня 2022 г. — в USP.

В составе парентеральных лекарственных препаратов доксициклина, зарегистрированных в России, используются фармацевтические субстанции доксициклина хиклата производства

Таблица 3. Нормы содержания родственных примесей в фармацевтической субстанции доксициклина хиклата согласно требованиям ведущих зарубежных фармакопей

Table 3. Limits for related substances in the doxycycline hyclate active substance, according to the requirements of leading world pharmacopoeias

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания <i>Content limits</i>		
	Европейская фармакопея ¹⁶ <i>European Pharmacopoeia</i> ¹⁶	Фармакопея США ¹⁷ <i>United States Pharmacopeia</i> ¹⁷	Японская фармакопея ¹⁸ <i>Japanese Pharmacopoeia</i> ¹⁸
Метациклин, % <i>Metacycline, %</i>	≤0,5 (примесь В / <i>impurity B</i>)	≤2,0	≤2
6-эпидоксициклин, % <i>6-epidoxycycline, %</i>	≤2,0 (примесь А / <i>impurity A</i>)	≤2,0	≤2
2-ацетил-2-декарбамил- доксициклин, % <i>2-acetyl-2-decarbamoyl- doxycycline, %</i>	≤1,2 (примесь F / <i>impurity F</i>)	с июня 2022 г. / <i>since June 1, 2022</i> : ≤1,0 (родственное соединение F / <i>related compound F</i>)	–
4-эпидоксициклин, % <i>4-epidoxycycline, %</i>	≤0,2 (примесь С / <i>impurity C</i>)	≤0,5	–
Единичные примеси, % <i>Individual impurities, %</i>	≤0,10 (единичные неспецифицируемые примеси / <i>individual unspecified impurities</i>)	≤0,5 (единичные несспецифицируемые примеси / <i>individual unspecified impurities</i>) с июня 2022 г. / <i>since June 1, 2022</i> : ≤0,1	≤0,5 (примеси, пики которых регистрируются между пиками растворителя и метациклина и после пика доксициклина / <i>impurities eluting between the solvent and metacycline peaks, and after the doxycycline peak</i>)
Сумма примесей, % <i>Total impurities, %</i>	≤3,0	≤2,5	–
Предел неучитываемых примесей, % <i>Reporting threshold, %</i>	0,05	с июня 2022 г. / <i>since June 1, 2022</i> : 0,05	–

Примечание. «–» – не нормируется.

Note. – not standardised.

КНР, причем одна из этих субстанций соответствует требованиям Ph. Eur., а другая – JP.

Вопрос контроля технологических примесей субстанции в ЛП является дискуссионным, и ведущие зарубежные фармакопеи (USP и Британская фармакопея (BP)) имеют противоположные позиции относительно необходимости определения таких примесей в ЛП. В руководстве ЕМА отмечается, что в ЛП следует контролировать только примеси, которые относятся к продуктам деградации.

Лекарственная форма доксициклина хиклата для парентерального применения описана только в USP (табл. 4).

В руководстве ЕМА¹⁹ указано, что независимо от суточной дозы ЛП примеси с содержанием 0,2% и выше должны быть идентифицированы,

а в монографии USP «Doxycycline for injection»²⁰ это указание не выполняется.

Проведенный анализ монографий Ph. Eur., USP и JP на фармацевтическую субстанцию доксициклина хиклата показал, что для контроля органических примесей используются стандартные образцы (СО) индивидуальных примесей: в USP это метациклина гидрохлорид и доксициклина родственное соединение А (6-эпидоксициклин), в JP – незаявленные как СО метациклина гидрохлорид и 6-эпидоксициклин, а в Ph. Eur. – стандартный образец, содержащий 4 примеси. Согласно методике определения органических примесей, принятой в Ph. Eur. и JP, оценивают разделительную способность хроматографической системы для пиков 6-эпидоксициклина и метациклина и для пиков доксициклина и метациклина. В Ph. Eur. также приведены относи-

¹⁶ Monograph Doxycycline hyclate. European Pharmacopoeia. 10.7th ed.

¹⁷ Monograph Doxycycline Hyclate. United States Pharmacopeia. 44th ed.

¹⁸ Monograph Doxycycline Hydrochloride Hydrate. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

¹⁹ ЕМА/CHMP/CVMP/QWP/199250/2009. Guideline on setting specifications for related impurities in antibiotics. EMA; 2012.

²⁰ Monograph Doxycycline for injection. United States Pharmacopeia. 44th ed.

Таблица 4. Нормы содержания родственных примесей в лекарственном препарате доксициклина хиклата для парентерального применения согласно требованиям Фармакопеи США

Table 4. Limits for related substances in the parenteral doxycycline hyclate product, according to the requirements of the United States Pharmacopeia

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания согласно Фармакопее США ²¹ , % <i>Content limits according to the United States Pharmacopeia²¹, %</i>
Метациклин <i>Metacycline</i>	Не контролируется, поскольку не является продуктом деградации <i>It is not a degradation product, so it is not controlled in the finished product</i>
4-эпидоксициклин <i>4-epidoxycycline</i>	≤2,2
6-эпидоксициклин <i>6-epidoxycycline</i>	Не контролируется, поскольку не является продуктом деградации <i>It is not a degradation product, so it is not controlled in the finished product</i>
Любая индивидуальная неспецифицируемая примесь <i>Any individual unspecified impurity</i>	≤0,5
Сумма примесей <i>Total impurities</i>	≤5,5
Предел неучитываемых примесей <i>Reporting threshold</i>	0,1

тельные времена удерживания для всех четырех примесей в составе СО. Подход USP иной: используют СО метациклина гидрохлорида, 6-эпидоксициклина и доксициклина хиклата. Раствор СО доксициклина хиклата подвергают «искусственному старению», при котором образуется 4-эпидоксициклин. Раствор для проверки пригодности хроматографической системы содержит три примеси и доксициклина хиклат. Оценивают разрешение между пиками 4-эпидоксициклина и метациклина, между пиками 4-эпидоксициклина и доксициклина, а также между пиками 6-эпидоксициклина и доксициклина.

Анализ требований к контролю органических примесей в лекарственных средствах кларитромицина. Быстрое развитие химии β-лактамов антибиотиков, внедрение в медицинскую практику большого количества цефалоспоринов широкого спектра действия, нестабильность эритромицина при низких значениях pH среды (инактивируется в желудке) и незначительные преимущества его производных привели к тому, что в 70-х гг. XX в. работы по получению производных эритромицина были практически свернуты. Однако в это же время возникает потребность в препаратах для лечения инфекций, вызываемых внутриклеточными паразитами и передающихся половым путем. Этот факт заставлял исследователей вернуться к эритроми-

цину как наиболее активному препарату в отношении многих внутриклеточных паразитов²².

6-О-метильный эфир эритромицина А — кларитромицин — имеет большую стабильность в кислой среде, чем исходный антибиотик. Кларитромицин получают из эритромицина тиоционата или эритромицина оксима. Фармацевтическая субстанция кларитромицина описана в ведущих зарубежных фармакопеях и ГФ РФ.

При сравнительном анализе требований ГФ РФ, Ph. Eur. и USP к контролю содержания примесей в фармацевтической субстанции кларитромицина установлено, что эти требования совпадают (табл. 5).

В Ph. Eur., USP и ГФ РФ приведен перечень 16 идентифицированных примесей (А, В, С, D, Е, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P) кларитромицина.

В JP²³ установлены менее жесткие нормы как для индивидуальной примеси, так и по сумме примесей, однако неучитываемый предел примесей в субстанции по требованиям JP ниже по сравнению с требованиями других фармакопей, что может отчасти объяснять увеличение нормы по сумме примесей. В монографии JP примеси кларитромицина не идентифицированы.

Следует отметить, что монография Ph. Eur. на фармацевтическую субстанцию кларитромицина

²¹ Monograph Doxycycline for injection. United States Pharmacopeia. 44th ed.

²² Глухарева ТВ, Селезнева ИС, Уломский ЕН. Основы получения и применения антибиотиков. Учебное пособие. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета; 2021.

²³ Monograph Clarithromycin. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

Таблица 5. Нормы содержания родственных примесей в фармацевтической субстанции кларитромицина согласно требованиям отечественной и зарубежных фармакопей

Table 5. Limits for related substances in the clarithromycin active substance, according to the requirements of the Russian and leading world pharmacopoeias

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания <i>Content limits</i>	
	Государственная фармакопея Российской Федерации ²⁴ Европейская фармакопея ²⁵ и Фармакопея США ²⁶ <i>State Pharmacopoeia of the Russian Federation²⁴, European Pharmacopoeia²⁵, and United States Pharmacopoeia²⁶</i>	Японская фармакопея ²⁷ <i>Japanese Pharmacopoeia²⁷</i>
Любая примесь, % <i>Any impurity, %</i>	≤1,0	≤2,0
Не более 4 примесей, % <i>Not more than 4 impurities, %</i>	>0,4	–
Сумма примесей, % <i>Total impurities, %</i>	≤3,5	≤5,0
Предел неучитываемых примесей, % <i>Reporting threshold, %</i>	0,1	0,05

Примечание. «–» – не нормируется.

Note. – not standardised.

относится к 2018 г., а USP – к 2020 г., то есть они были недавно пересмотрены, однако не приведены в полное соответствие с руководством ЕМА. Согласно руководству ЕМА порог регистрации примесей при максимальной суточной дозе полусинтетического антибиотика не более 2 г (максимальная суточная доза при инфузионном применении ЛП кларитромицина составляет 1 г²⁸) – 0,05%, согласно Ph. Eur. и USP предел неучитываемых примесей для данного препарата составляет 0,1%.

В ГФ РФ, помимо фармакопейной статьи (ФС) на субстанцию кларитромицина²⁹, включена ФС на ЛП кларитромицина³⁰. В ВР включена монография «Clarithromycin for Infusion»³¹. Нормы по примесям для препарата такие же, как для фармацевтической субстанции. В USP описаны только ЛП кларитромицина для приема внутрь, и согласно монографии на таблетки профиль определяемых примесей также соответствует профилю примесей для фармацевтической субстанции. Для ЛП, зарегистрированных в Российской Федерации, выполняются требования ФС.3.1.0056.18 «Кларитромицин, лиофилизат

для приготовления раствора для инфузий». Следует отметить, что эти требования соответствуют требованиям руководства ЕМА для ЛП полусинтетических антибиотиков.

В методиках определения примесей согласно монографиям Ph. Eur., USP и ГФ РФ на фармацевтическую субстанцию кларитромицина для идентификации пиков примесей предусмотрено применение СО, представляющего собой смесь кларитромицина, примеси D (3''-N-диметил-6-О-метилэритромицина А; C₃₇H₆₇NO₁₃; молекулярная масса 733,9) и других примесей. Оценка разделительной способности хроматографической системы осуществляется по отношению пик/впадина между пиком кларитромицина и пиком примеси D, тогда как согласно монографии JP «Clarithromycin»³² СО примесей не используются и оценка разделительной способности не предусмотрена.

Анализ требований к контролю органических примесей в лекарственных средствах цефтриаксона натрия. β-лактамы антибиотики – группа антибиотиков, имеющих в структуре β-лактамное кольцо. Ингибируют синтез клеточной

²⁴ ФС.2.1.0108.18. Кларитромицин. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

²⁵ Monograph Clarithromycin. European Pharmacopoeia. 10.7th ed.

²⁶ Monograph Clarithromycin. United States Pharmacopoeia. 44th ed.

²⁷ Monograph Clarithromycin. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

²⁸ <https://grls.rosminzdrav.ru/>

²⁹ ФС.2.1.0108.18. Кларитромицин. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³⁰ ФС.3.1.0056.18. Кларитромицин, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³¹ Monograph Clarithromycin for infusion. British Pharmacopoeia. 2019.

³² Monograph Clarithromycin. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

стенки микробных клеток путем связывания с активным центром пенициллинсвязывающих белков — ферментов, участвующих в синтезе основного компонента наружной мембраны (пептидогликана) как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. К β -лактамам относятся пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы [3].

Фармацевтическая субстанция цефтриаксона натрия описана в ГФ РФ и ведущих зарубежных фармакопеях.

Нормативные требования к контролю родственных примесей в фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия, указанные в ФС.2.1.0213.18 «Цефтриаксон натрия»³³ и монографии Ph. Eur. «Ceftriaxone sodium»³⁴, совпадают. Нормируется любая единичная примесь на уровне «не более 1,0%», сумма примесей на уровне «не более 4,0%». Следует отметить, что монография Ph. Eur. на фармацевтическую субстанцию цефтриаксона натрия не пересматривалась с 2008 г.

В монографии Ph. Eur. приведен перечень пяти идентифицированных примесей (А, В, С, D, Е), которые могут присутствовать в фармацевтической субстанции. В ФС.2.1.0213.18 «Цефтриаксон натрия» в примечании к разделу «Родственные примеси» указана только одна идентифицированная примесь — примесь А (6R,7R)-7-[(E)-2-(2-амино-4-тиазолил)-2-(метоксиимино)ацетамидо]-3-[[[2-метил-5,6-диоксо-2,5-дигидро-1,2,4-триазин-3-ил]сульфанил]метил]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоновая кислота. В USP³⁵ указано семь идентифицированных примесей, что больше, чем в Ph. Eur. Согласно JP³⁶ примеси специфицированы, но не идентифицированы.

Учитывая, что максимальная суточная доза ЛП составляет 4 г³⁷, согласно руководству ЕМА порог регистрации органических примесей должен быть на уровне 0,03%, что не выдерживается в ГФ РФ, Ph. Eur. и USP (табл. 6).

Препарат цефтриаксона натрия в лекарственной форме порошок для приготовления раствора для инъекций описан в USP и BP³⁸.

При сравнении монографий USP «Ceftriaxone sodium»³⁹ и «Ceftriaxone sodium for injection»⁴⁰ следует отметить, что в препарате в отличие от субстанции:

- не контролируется 7-аминоцефалоспоровая кислота, так как эта примесь является технологической при получении фармацевтической субстанции;
- увеличены нормы для деацетилцефтриаксона, цефтриаксон-Е-изомера, суммы примесей;
- пороговое значение для неидентифицированных примесей соответствует нормам руководства ЕМА для ЛП полусинтетических антибиотиков.

Согласно требованиям USP и BP качественный профиль контролируемых в ЛП цефтриаксона натрия примесей отличается, однако их суммарное содержание и наибольший возможный предел для индивидуальной примеси одинаковы (табл. 7).

При анализе фармакопейных методик определения примесей фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия установлено, что согласно JP разделительную способность хроматографической системы оценивают для пиков цефтриаксона и диэтилтерефталата (разрешение не менее 6), СО не используются. Согласно USP, Ph. Eur. и ГФ РФ для оценки разделительной способности хроматографической системы применяют СО цефтриаксона натрия и Е-изомера цефтриаксона (разрешение не менее 3).

Анализ требований к контролю органических примесей в лекарственных средствах меропенема. Карбапенемы представляют собой 1-карбапен-2-ем-3-карбоновые кислоты, замещенные в положении С-2 и С-6. В клинической практике нашел применение лекарственный препарат меропенем, обладающий бактерицидным действием в отношении широкого спектра аэробных и анаэробных бактерий за счет воздействия на синтез клеточной стенки бактерий [4].

Фармацевтическая субстанция меропенем описана в ведущих зарубежных фармакопеях (табл. 8) и отсутствует в ГФ РФ. В монографии Ph. Eur.⁴¹ указано, что меропенем может быть получен как в процессе химического синтеза, так

³³ ФС.2.1.0213.18. Цефтриаксон натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³⁴ Monograph Ceftriaxone sodium. European Pharmacopoeia. 10.7th ed.

³⁵ Monograph Ceftriaxone sodium. United States Pharmacopeia. 44th ed.

³⁶ Monograph Ceftriaxone sodium hydrate. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

³⁷ <https://grls.rosminzdrav.ru/>

³⁸ Monograph Ceftriaxone for injection. British Pharmacopoeia. 2019.

³⁹ Monograph Ceftriaxone sodium. United States Pharmacopeia. 44th ed.

⁴⁰ Monograph Ceftriaxone sodium for injection. United States Pharmacopeia. 44th ed.

⁴¹ Monograph Meropenem trihydrate. European Pharmacopoeia. 10.7th ed.

Таблица 6. Нормы содержания органических примесей в фармацевтической субстанции цефтриаксона натрия согласно требованиям отечественной и зарубежных фармакопей

Table 6. Limits for organic impurities in the ceftriaxone sodium active substance, according to the requirements of the Russian and leading world pharmacopoeias

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания <i>Content limits</i>		
	Государственная фармакопея Российской Федерации ⁴² и Европейская фармакопея ⁴³ <i>State Pharmacopoeia of the Russian Federation⁴² and European Pharmacopoeia⁴³</i>	Фармакопея США ⁴⁴ <i>United States Pharmacopoeia⁴⁴</i>	Японская фармакопея ⁴⁵ <i>Japanese Pharmacopoeia⁴⁵</i>
Идентифицированные и (или) специфицируемые примеси, % <i>Identified and/or specified impurities, %</i>	–	Деацетилцефотаксима лактон ≤0,5 7-Аминоцефалоспоровая кислота (если присутствует) ≤0,5 Аналог триазина цефтриаксона ≤1,0 Цефтриаксон бензотиазолил оксим ≤0,2 Деацилцефтриаксон ≤0,5 Цефтриаксон-3-ен изомер ≤0,3 Цефтриаксон-Е-изомер ≤0,5 <i>Deacetylcefotaxime lactone: ≤0.5</i> <i>7-Aminocephalosporanic acid (if present): ≤0.5</i> <i>Ceftriaxone triazine analogue: ≤1.0</i> <i>Ceftriaxone benzothiazolyl oxime: ≤0.2</i> <i>Deacylceftriaxone: ≤0.5</i> <i>Ceftriaxone 3-ene isomer: ≤0.3</i> <i>Ceftriaxone E-isomer: ≤0.5</i>	Примесь 1 с ОБУ 0,5 ≤0,9 Примесь 2 с ОБУ 1,3 ≤1,2 <i>Impurity 1 having the relative retention time of about 0.5: ≤0.9; and impurity 2 having the relative retention time of about 1.3: ≤1.2</i> Примеси, выходящие после пика цефтриаксона ≤1 <i>Impurities eluting after the ceftriaxone peak: ≤1</i>
Любая примесь, % <i>Any impurity, %</i>	≤1,0	≤0,2	–
Сумма примесей, % <i>Total impurities, %</i>	≤4,0	≤2,5	≤2,5
Предел неучитываемых примесей, % <i>Reporting threshold, %</i>	0,1	0,1	–

Примечание. ОБУ – относительное время удерживания, «–» – не нормируется.

Note. – not standardised.

и полусинтетическим способом, и в зависимости от этого меняются требования к примесям. Поскольку объектом проводимого нами анализа являются полусинтетические лекарственные средства, мы будем рассматривать требования только к качеству полусинтетического меропенема. Согласно данным таблицы 8 требования Ph. Eur., USP и JP по нормам содержания примесей меропенема различаются.

Для синтетического меропенема согласно требованиям Ph. Eur. нормируется неспецифицируемая примесь – «не более 0,05%» при неучитываемом пределе примесей – 0,03%.

Согласно руководству ЕМА при максимальной суточной дозе ЛП 2 г и выше (максимальная

суточная доза для парентерального ЛП меропенем – 6 г⁴⁶), порог идентификации примесей в фармацевтической субстанции должен составлять 0,05%, а порог контролируемых примесей – 0,03%. Согласно приведенным в таблице 8 данным требования Ph. Eur. и JP не соответствуют руководству ЕМА, хотя монография «Меропенем» Ph. Eur. от 2017 г.

ЛП «Меропенем, порошок для приготовления раствора для инъекций» описан в USP и JP (табл. 9).

Требования USP и JP к нормированию примесей в ЛП соответствуют руководству ЕМА, при этом нормы USP и JP различаются и в JP требования жестче.

⁴² ФС.2.1.0213.18. Цефтриаксон натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁴³ Monograph Ceftriaxone sodium. European Pharmacopoeia. 10.7th ed.

⁴⁴ Monograph Ceftriaxone sodium. United States Pharmacopoeia. 44th ed.

⁴⁵ Monograph Ceftriaxone sodium hydrate. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

⁴⁶ <https://grls.rosminzdrav.ru>

Таблица 7. Нормы содержания органических примесей в парентеральном лекарственном препарате цефтриаксона натрия согласно требованиям Британской фармакопеи и Фармакопеи США

Table 7. Limits for organic impurities in the ceftriaxone sodium parenteral product, according to the requirements of the British Pharmacopoeia and the United States Pharmacopoeia

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания <i>Content limits</i>	
	Британская фармакопея ⁴⁷ <i>British Pharmacopoeia</i> ⁴⁷	Фармакопея США ⁴⁸ <i>United States Pharmacopoeia</i> ⁴⁸
Идентифицированные примеси, % <i>Identified impurities, %</i>	–	Деацетилцефотаксима лактон ≤0,5 Триазинный аналог цефтриаксона ≤1,0 Цефтриаксон бензотиазолилосим ≤0,2 Деацилцефтриаксон ≤1,0 Изомер цефтриаксона-3-ена ≤0,3 Цефтриаксон-Е-изомер ≤1,0 <i>Deacetylcefotaxime lactone: ≤0.5</i> <i>Ceftriaxone triazine analogue: ≤1.0</i> <i>Ceftriaxone benzothiazolyl oxime: ≤0.2</i> <i>Deacylceftriaxone: ≤1.0</i> <i>Ceftriaxone-3-ene isomer: ≤0.3</i> <i>Ceftriaxone E-isomer: ≤1.0</i>
Любая примесь, % <i>Any impurity, %</i>	≤1	≤0,2 (неидентифицированная / <i>unidentified</i>)
Сумма примесей, % <i>Total impurities, %</i>	≤5	≤5,0
Предел неучитываемых примесей, % <i>Reporting threshold, %</i>	0,1	0,1

Примечание. «–» — не нормируется.

Note. — not standardised.

Таблица 8. Нормы содержания органических примесей в фармацевтической субстанции меропенема согласно требованиям ведущих зарубежных фармакопей

Table 8. Limits for organic impurities in the meropenem active substance, according to the requirements of leading world pharmacopoeias

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания <i>Content limits</i>		
	Европейская фармакопея ⁴⁹ <i>European Pharmacopoeia</i> ⁴⁹	Фармакопея США ⁵⁰ <i>United States Pharmacopoeia</i> ⁵⁰	Японская фармакопея ⁵¹ <i>Japanese Pharmacopoeia</i> ⁵¹
Меропенем с открытым β-лактамным кольцом, % <i>Meropenem open-ring impurity, %</i>	Примесь А <i>Impurity A</i> ≤0,5	≤0,3	≤0,3
Меропенем димер, % <i>Meropenem dimer, %</i>	Примесь В <i>Impurity B</i> ≤0,3	≤0,3	≤0,3
Любая неспецифицируемая примесь, % <i>Any individual unspecified impurity, %</i>	≤0,10	≤0,05	≤0,1
Сумма примесей, помимо двух идентифицированных, % <i>Total impurities, excluding the two identified impurities, %</i>	≤0,3	≤0,3	Сумма всех примесей <i>Total impurities</i> ≤0,9
Предел неучитываемых примесей, % <i>Reporting threshold, %</i>	0,05	–	–

Примечание. «–» — не нормируется.

Note. — not standardised.

⁴⁷ Monograph Ceftriaxone for injection. British Pharmacopoeia. 2019.

⁴⁸ Monograph Ceftriaxone sodium for injection. United States Pharmacopoeia. 44th ed.

⁴⁹ Monograph Meropenem trihydrate. European Pharmacopoeia. 10.7th ed.

⁵⁰ Monograph Meropenem. United States Pharmacopoeia. 44th ed.

⁵¹ Monograph Meropenem hydrate. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

Таблица 9. Нормы содержания органических примесей в препарате меропенем в лекарственной форме порошок для приготовления раствора для инъекций согласно требованиям Фармакопеи США и Японской фармакопеи

Table 9. Limits for organic impurities in the meropenem powder for solution for injection, according to the requirements of the United States Pharmacopeia and the Japanese Pharmacopoeia

Родственные примеси <i>Related substances</i>	Нормы содержания <i>Content limits</i>	
	Фармакопея США ⁵² <i>United States Pharmacopeia⁵²</i>	Японская фармакопея ⁵³ <i>Japanese Pharmacopoeia⁵³</i>
Меропенем с открытым β-лактамным кольцом, % <i>Meropenem open-ring impurity, %</i>	≤0,8	≤0,5
Меропенем димер, % <i>Meropenem dimer, %</i>	≤0,6	≤0,5
Любая неспецифицируемая примесь, % <i>Any individual unspecified impurity, %</i>	≤0,10	≤0,1
Сумма неспецифицируемых примесей, % <i>Total unspecified impurities, %</i>	≤1,0	–
Сумма примесей, % <i>Total impurities, %</i>	≤2,0	≤1,5
Предел неучитываемых примесей, % <i>Reporting threshold, %</i>	–	–

Примечание. «–» – не нормируется.

Note. – not standardised.

Следует отметить, что при определении примесей в фармацевтической субстанции меропенема согласно всем трем фармакопеям идентифицированные примеси обнаруживаются по относительным временам удерживания, при этом в Ph. Eur. и JP используют прием «искусственного старения» для получения известных примесей в растворе. При этом в методике Ph. Eur. используют СО меропенема. В монографии USP оценка разделительной способности хроматографической системы не описана и использования СО примесей не требуется.

Сравнительный анализ требований к контролю содержания органических примесей в полусинтетических антибиотиках в ГФ РФ и ведущих зарубежных фармакопеях показал, что в ГФ РФ включены фармакопейные статьи на фармацевтические субстанции кларитромицина и цефтриаксона натрия и ЛП кларитромицина и не описаны лекарственные средства доксициклина хиклат и меропенем. Требования ГФ РФ к содержанию и определению органических примесей для указанных лекарственных средств гармонизированы с Ph. Eur. и BP.

Показано, что, как правило, профиль органических примесей, описанных в монографиях ведущих зарубежных фармакопей на одноименную

фармацевтическую субстанцию, для каждого из исследуемых лекарственных средств различается либо качественно, либо количественно, и только в монографиях на кларитромицин требования Ph. Eur. и USP совпадают.

Указания руководства ЕМА относительно порога неучитываемых примесей и порога идентификации примесей в одной и той же фармакопее для одних субстанций могут выполняться, а для других – нет.

Одновременно в нескольких фармакопеях описаны лекарственные препараты для парентерального применения цефтриаксона натрия (BP и USP) и меропенема (JP и USP), при этом профили определяемых примесей для одного наименования в фармакопеях различаются.

Несоответствие указаниям ЕМА по порогу идентификации примесей отмечено только для доксициклина хиклата (USP).

В методиках определения примесей в фармацевтических субстанциях рассматриваемых полусинтетических антибиотиков согласно ГФ РФ, Ph. Eur. и USP, как правило, предусмотрено применение СО примесей. Исключение составляет меропенем, для которого согласно требованиям Ph. Eur. и JP используют прием «искусственного

⁵² Monograph Meropenem for injection. United States Pharmacopeia. 44th ed.

⁵³ Monograph Meropenem for injection. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed.

старения» для получения раствора, содержащего примеси. В отдельных случаях (JP — кларитромицин, USP — меропенем) разделительная способность хроматографической системы согласно утвержденной методике не оценивается. JP не применяет фармакопейные СО примесей при контроле качества трех из четырех рассмотренных фармацевтических субстанций, используя для оценки разделительной способности хроматографической системы вещества, которые не являются фармакопейными СО.

Выводы

1. Профили контролируемых примесей для фармацевтических субстанций и парентеральных лекарственных препаратов доксициклина хиклата, кларитромицина, цефтриаксона натрия и меропенема могут существенно различаться в ведущих зарубежных фармакопеях и не соответствовать требованиям руководства EMA «Guideline on setting specifications for related impurities in antibiotics».
2. Согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) методики и нормы по органическим примесям в полусинтетических антибиотиках кларитромицина и цефтриаксона натрия

гармонизированы с требованиями Европейской и Британской фармакопей.

3. Фармакопея США в настоящее время практикует включение в монографии на лекарственные средства различных методик для контроля примесей, при этом могут различаться также и нормы. Такой подход обосновывается использованием разных схем синтеза при получении фармацевтических субстанций и может быть применен и в ГФ РФ, так как ориентация только на требования Европейской фармакопеи не рассматривается в настоящее время как приоритетная стратегия.

4. Японская фармакопея не поддерживает практику Фармакопеи США и Европейской фармакопеи масштабного использования стандартных образцов примесей: перечень идентифицируемых примесей существенно сокращен, при контроле примесей для оценки разделительной способности хроматографической системы используются вещества, не являющиеся фармакопейными стандартными образцами. Подход Японской фармакопеи следует изучить более детально для возможного последующего его применения при подготовке фармакопейных статей и создании базы фармакопейных стандартных образцов для ГФ РФ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Jiang Y, Xia JP, Yang JH, Zhang ZF, Hu CQ, Zhang ZR. Guidelines and strategy of the International Conference of Harmonization (ICH) and its member states to overcome existing impurity control problems for antibiotics in China. *Chin J Nat Med*. 2015;13(7):498–506. [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(15\)30044-3](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(15)30044-3)
2. Зырянов СК, Голуб АВ, Козлов РС. Доксициклин в современной клинической практике. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2020;22(1):21–8. [Zyryanov SK, Golub AV, Kozlov RS. Doxycycline in the current clinical practice. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* = *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020;22(1):21–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.36488/cmasc.2020.1.21-28>
3. Шубникова ЕВ, Букатина ТМ, Дружинина АА, Журавлева ЕО, Вельц НЮ, Кутехова ГВ. Безопасность антибактериальных и противопро-
тозойных лекарственных препаратов. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2022;10(2):196–9. [Shubnikova EV, Bukatina TM, Druzhinina AA, Zhuravleva EO, Velts NYu, Kutekhova GV. Safety of antibacterial and antiprotozoal medicinal products. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii* = *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2022;10(2):196–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2022-10-2-196-199>
4. Казанова АМ, Степанова ЕС, Макаренкова ЛМ, Чистяков ВВ, Зырянов СК, Сенченко СП. Разработка и валидация методики количественного определения меропенема в плазме крови для терапевтического лекарственного мониторинга. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(4):56–60. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-4-56-60> [Kazanova AM, Stepanova ES, Makarenkova LM, Chistyakov VV, Zyryanov SK, Senchenko SP. Development and validation of a quantitative determination method for meropenem in blood plasma for therapeutic drug monitoring. *Pharm Chem J*. 2020;54(4):414–8] <https://doi.org/10.1007/s11094-020-02212-z>

Вклад авторов. Е.Л. Ковалева — идея исследования, систематизация и анализ нормативных требований (меропенем), написание текста, ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; К.С. Архипова — систематизация и анализ нормативных требований (цефтриаксон натрия); Е.А. Булова — систематизация и анализ нормативных требований (кларитромицин); А.А. Сталковская — систематизация и анализ нормативных требований (доксциклина хиклат); О.О. Терентьева — сбор данных и участие в обсуждении материалов, редактирование и переработка текста рукописи.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. Е.Л. Ковалева является членом редколлегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Elena L. Kovaleva — elaboration of the study idea, systematisation and analysis of the regulatory requirements for meropenem, writing of the text, supervision of all study aspects, responsibility for the integrity of all parts of the manuscript, approval of the final version of the manuscript for publication; Ksenia S. Arkhipova — systematisation and analysis of the regulatory requirements for ceftriaxone sodium; Ekaterina A. Bulova — systematisation and analysis of the regulatory requirements for clarithromycin; Alena A. Stralkovskaya — systematisation and analysis of the regulatory requirements for doxycycline hyclate; Olga O. Terentieva — collection of data, participation in material discussion, editing and reshaping of the manuscript.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

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

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>
Kovaleva@expmed.ru

Архипова Ксения Сергеевна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7855-8475>
ArkhipovaKS@expmed.ru

Булова Екатерина Александровна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7204-3219>
BulovaEA@expmed.ru

Сталковская Алена Анатольевна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3884-9101>
StralkovskayaAA@expmed.ru

Терентьева Ольга Олеговна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4980-6622>
Terenteva@expmed.ru

Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>
Kovaleva@expmed.ru

Ksenia S. Arkhipova.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7855-8475>
ArkhipovaKS@expmed.ru

Ekaterina A. Bulova.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7204-3219>
BulovaEA@expmed.ru

Alena A. Stralkovskaya.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3884-9101>
StralkovskayaAA@expmed.ru

Olga O. Terentieva.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4980-6622>
Terenteva@expmed.ru

Статья поступила 05.07.2022
После доработки 29.08.2022
Принята к печати 31.08.2022

Article was received 5 July 2022
Revised 29 August 2022
Accepted for publication 31 August 2022



И.А. Прокопов 
Е.Л. Ковалева 
Е.Д. Минаева 
А.Д. Автушенко 

Примеси в лекарственных средствах животного происхождения (актуальные вопросы)

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

✉ Прокопов Илья Алексеевич; Prokopov@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Негативным последствием антропогенной нагрузки на биосферу является неконтролируемое загрязнение экосистем органическими и неорганическими примесями, которые могут нести серьезные риски для здоровья человека. Поэтому разработка и производство лекарственных средств из источников животного происхождения требует риск-ориентированного изучения примесей, которые могут содержаться в конечном продукте. Цель работы – классифицировать примеси в лекарственных средствах животного происхождения, выделить и охарактеризовать специфичные группы примесей, предложить методологию контроля. В статье рассмотрены факторы, позволяющие сгруппировать примеси в лекарственных средствах животного происхождения: источник примеси – антропогенный или естественный; характер примеси – примесь, образующаяся в процессах производства, или примесь, присутствующая в сырье; природа примеси – родственная или посторонняя; наличие примеси – безусловно присутствующая в лекарственном средстве или возможно присутствующая. Авторами отмечено, что исходя из конкретных условий производства, происхождения сырья и предполагаемого применения препарата должен быть определен оптимальный подход к контролю содержания каждой группы примесей, обоснован выбор этапа, на котором следует контролировать ту или иную примесь: исходное сырье, фармацевтическая субстанция, этап производственного контроля или готовый лекарственный препарат. Регистрационное досье лекарственного препарата должно содержать исчерпывающие данные по выбору методологии контроля возможных примесей, такие как обоснование выбора этапа и детализация методов контроля, обоснование установленных нормативов, отчеты по определению уровня рисков.

Ключевые слова: лекарственные средства животного происхождения; сырье животного происхождения; примеси; происхождение примеси; оценка качества

Для цитирования: Прокопов И.А., Ковалева Е.Л., Минаева Е.Д., Автушенко А.Д. Примеси в лекарственных средствах животного происхождения (актуальные вопросы). *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):277–287. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-277-287>

I.A. Prokopov 
E.L. Kovaleva 
E.D. Minaeva 
A.D. Avtushenko 

Impurities in Animal-Derived Medicines (Relevant Issues)

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

✉ Ilya A. Prokopov; Prokopov@expmed.ru

ABSTRACT

The global anthropogenic load on the biosphere results in a potentially unmanageable problem of ecosystem pollution with organic and inorganic impurities, which may carry significant risks for human health. Therefore, the development and production of medicinal products from raw materials of animal origin require a careful risk-based assessment of impurities that may be found in the finished product. The aim of the study was to categorise the impurities in animal-derived medicines, identify and characterise specific impurity groups, and suggest a control methodology. The article reviews the factors that allow grouping impurities in animal-derived medicines, namely, the origin (anthropogenic or natural), type (process- or raw material-related), nature (product-related or foreign), and presence (inherent or potential impurities). The authors note the necessity of considering the specific production conditions, the origin of raw materials, and the intended use of medicinal products to determine an optimal control strategy for each impurity group and to justify the level at which a specific impurity should be controlled (the raw material, active substance, or finished product). A product's marketing authorisation application must contain comprehensive data on the choice of the control strategy for potential impurities, including a justification of the selected control level and the established limits, details of the chosen control procedures, and risk-assessment reports.

Key words: animal-derived medicinal products; raw material of animal origin; impurities; impurity origin; quality control

For citation: Prokopov I.A., Kovaleva E.L., Minaeva E.D., Avtushenko A.D. Impurities in animal-derived medicines (relevant issues). *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):277–287. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-277-287>

Введение

Принципиально важным аспектом при разработке лекарственного средства является баланс между его чистотой, сложностью и себестоимостью производства. Производство лекарственных средств с помощью химического синтеза является контролируемым и в целом прогнозируемым процессом, что позволяет относительно легко добиваться требуемых результатов. Получение лекарственных средств из сырья животного происхождения предполагает гораздо большую вариабельность исходных данных: разнородность сырья, сложность его состава, наличие инфекционных рисков [1, 2]. Одним из ключевых аспектов, требующих пристального и всестороннего изучения при разработке и производстве лекарственных средств животного происхождения, является их контаминация различными примесями, которые могут снижать терапевтический эффект и вызывать нежелательные реакции. Особенно опасны генотоксичные

примеси и примеси, способные накапливаться в организме человека и оказывать кумулятивное действие [3]. Источники примесей в лекарственных средствах животного происхождения различны — это и неполная очистка исходного сырья, и примеси, получаемые животными с пищей, и оборудование, используемое при производстве, и др. [4]. Факторами, определяющими приемлемую степень контаминации лекарственных средств, являются предполагаемые способ и частота применения, дозы, возраст пациентов и др. [5, 6].

В Российской Федерации, как и в ведущих зарубежных странах, на настоящий момент отсутствует нормативная база, определяющая общие подходы к контролю специфических примесей в лекарственных средствах животного происхождения. Принятые в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. «Правила проведения

исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» хотя и распространяются на все виды биологических лекарственных средств, однако описанные в них подходы к контролю примесей применимы в подавляющей степени к биотехнологическим лекарственным средствам, представляющими собой белки. Приведенных в них общих указаний недостаточно для надлежащего выбора стратегии оценки примесей в лекарственных средствах животного происхождения. Имеющиеся частные фармакопейные статьи и монографии на конкретные широко используемые лекарственные средства животного происхождения затрагивают только спецификации фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, оставляя, как правило, за рамками требования к используемому для их производства сырью и другим факторам, влияющим на степень загрязнения готового продукта. Таким образом, отсутствие общей нормативной базы создает определенные сложности для формирования регистрационного досье и составления спецификаций качества, особенно для не описанных в фармакопеях лекарственных средств животного происхождения.

Цель работы – классифицировать примеси в лекарственных средствах животного происхождения, выделить и охарактеризовать специфичные группы примесей, предложить методологию контроля.

Обобщение данных может иметь научно-практическое значение для разработчиков лекарственных средств животного происхождения, для экспертных организаций, а также послужить основой для создания отечественной нормативной базы, определяющей подходы к стандартизации и контролю качества рассматриваемой группы лекарственных средств.

Актуальными являются также вопросы микробиологических контаминантов и вирусной безопасности лекарственных средств животного происхождения, однако задача рассмотрения данной проблематики в рамках статьи не ставилась. Также в статье не затрагиваются подробно вопросы контроля остаточных органических растворителей, поскольку к данной группе примесей применимы подходы, описанные в фармакопеях и руководстве Q3C Международной конференции по гармонизации (ICH).

Основная часть

Выделяют следующие факторы, по которым можно классифицировать примеси в лекар-

ственных средствах животного происхождения:

- происхождение примеси – антропогенное или естественное (нативное);
- характер примеси – примесь, связанная с производственным процессом, или примесь, присутствующая в сырье;
- природа примеси – родственная или посторонняя;
- наличие примеси – безусловно присутствующая в лекарственном средстве или возможно присутствующая.

К примесям, являющимся специфичными для лекарственных средств животного происхождения, относятся посторонние фармакологически активные вещества, попадающие в сырье с кормами – прежде всего это гормональные препараты и антибиотики [7, 8]. К наиболее часто используемым в животноводстве антибиотикам относятся антибиотики тетрациклиновой группы, пенициллины, стрептомицин, а также антибиотики, не применяемые для лечения человека, такие как гризин, цинкбацитрацин. Одной из основных проблем, связанных с использованием лекарственных средств, содержащих повышенное количество остаточных антибиотиков, является вероятность развития резистентности микроорганизмов. Кроме того, антибиотики, содержащиеся в лекарственных препаратах в виде примесей, способны вызывать диспепсические расстройства и аллергические реакции [9, 10].

Гормональные препараты используют для стимулирования роста животных, повышения усвояемости кормов и контроля репродуктивных функций. Наиболее распространенными являются эстрогены, андрогены, анаболические стероиды, инсулин, фитогормоны [11]. Ряд гормональных препаратов (в том числе тестостерона пропионат, тренболон ацетат, эстрадиол, зеранол, прогестерон, меленгестрола ацетат и бычий соматотропин) одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для использования у сельскохозяйственных животных [12].

Принципиальные подходы, определяющие контроль остаточного содержания фармакологически активных веществ в сырье, изложены в нормативных документах, регламентирующих качество продукции для пищевой промышленности. Те же подходы применяются и для контроля сырья, используемого для производства лекарственных средств животного происхождения. Так, одним из актуальных

руководящих документов является Решение Коллегии ЕЭК от 13.02.2018 № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут содержаться в переработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения». Данный нормативный документ включает в себя перечень из 72 фармакологически активных веществ, подлежащих контролю в сырье животного происхождения, определяет вид животных, в тканях которых проводят определение остаточного содержания этих веществ, устанавливает требования к максимально допустимому количеству данных примесей в зависимости от вида сырья (продукции). Также нормативный документ содержит ссылки на соответствующие аналитические методики.

Основным сырьем, используемым для производства лекарственных средств животного происхождения, являются внутренние органы (субпродукты — мозг, печень, железы и др.) и специфические ткани (хрящевая ткань, слизистая оболочка и др.) животных. В тех случаях, когда в силу специфики сырья нормативы по содержанию нежелательных фармакологически активных веществ в общих документах отсутствуют, задачей разработчика лекарственного препарата является создание собственных стандартов, регламентирующих остаточное содержание нежелательных фармакологически активных веществ в используемом сырье. Регистрационное досье на лекарственный препарат животного происхождения должно содержать научно аргументированное обоснование установленно предельно допустимого уровня содержания примесей исходя из конкретных условий производства и предполагаемого применения лекарственного средства. Актуальной задачей является создание детализированной нормативной базы, определяющей единые подходы к установлению нормативов по предельно допустимому остаточному содержанию фармакологически активных примесей в сырье животного происхождения, используемому для производства лекарственных средств, а также в фармацевтических субстанциях.

Важной особенностью производства лекарственных средств животного происхождения

является многоэтапность технологического процесса, направленного на выделение действующего вещества или группы биологически активных веществ¹. Фармакологически активные компоненты имеют различную химическую природу и, соответственно, имеют различное сродство как к определенным тканям, так и к используемым на различных этапах технологического процесса растворителям. Данный факт приводит к рискам, связанным с вероятностью концентрирования примесных соединений в процессе производства, что обуславливает необходимость включения оценки данного фактора при разработке и валидации производственного процесса при определении критических этапов производства.

Согласно принятым при экспертизе регистрационного досье подходам в тех случаях, когда доказано, что концентрирования фармакологически активных примесей в процессе производства не происходит, допустимо проводить контроль их содержания только в исходном сырье. Во всех других случаях необходимо включать соответствующие показатели качества в спецификацию на фармацевтическую субстанцию, а в ряде случаев, таких как производство лекарственного препарата по непрерывному циклу, — в спецификацию на готовый лекарственный препарат.

Радионуклиды являются потенциальными примесями сырья, которое получают от животных, обитающих в естественной среде, прежде всего от животных морского происхождения². Радионуклиды, откладываясь преимущественно в донных отложениях, способны в существенных количествах накапливаться в организмах животных, что несет в себе безусловный риск в случае любого использования их человеком.

Основными источниками радиоактивных примесей являются выбросы радионуклидов в биосферу в результате ядерных испытаний, аварий на атомных электростанциях и других объектах атомной промышленности, утечек с предприятий, перерабатывающих радиоактивные отходы. Значительно реже источниками таких загрязнений являются естественные источники — первичные радиоактивные элементы в земной коре, продукты их распада и радионуклиды, образующиеся при взаимодействии космических

¹ Краснюк ИИ, Михайлова ГВ, Чижова ЕТ. Фармацевтическая технология: Технология лекарственных форм: Учебник для студентов сред. проф. учеб. заведений. М.: Академия; 2004.

² ГОСТ 32366-2013. Рыба мороженая.

ГОСТ 32744-2014. Рыба мелкая мороженая.

ТУ 9261-037-03886783-98. Мелкая морская рыба.

ТУ 9197-001-90615490-2013. Экстракт концентрированный из мелкой морской рыбы.

излучений³. Из большого количества радиоактивных изотопов основными контаминантами животного сырья, в том числе морского происхождения, являются цезий-137 (период полураспада 30,2 года) и стронций-90 (период полураспада 28,8 года). Цезий-137 относится к радионуклидам, относительно равномерно распределенным по тканям организма, основной риск которых связан с общим излучением. Стронций-90, являясь химическим аналогом кальция, накапливается преимущественно в костной ткани, что является критичным фактором риска развития лейкемии при попадании в организм человека [13].

Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. (далее – ГФ РФ) предписывает проводить радиационный контроль лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, установив общие требования к предельному содержанию цезия-137 на уровне не более 400 Бк/кг, стронция-90 – не более 200 Бк/кг. Аналогичные требования предъявляются ГФ РФ⁴ к рыбьему жиру, однако общих предписаний о необходимости контроля содержания радионуклидов в лекарственных средствах, получаемых из сырья животного происхождения, действующие в Российской Федерации фармакопейные стандарты не содержат.

Учитывая сродство радионуклидов к определенным тканям и органам животных [14], наиболее целесообразным является контроль их содержания в фармацевтической субстанции⁵. Контроль только исходного сырья может быть недостаточным в связи с тем, что различные этапы производства могут приводить к повышению концентрации радионуклидов вследствие использования растворителей, имеющих сродство к радионуклидам, вымыванию неконтаминированных радионуклидами фракций и по ряду других причин.

Также следует отметить, что контроль радиационного загрязнения актуален не только для лекарственных средств, получаемых от животных морского происхождения. Для обеспечения надлежащей радиационной безопасности лекарственных средств, получаемых

от сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи и т.д.), производитель должен выработать алгоритмы и процедуры, обеспечивающие минимизацию рисков, связанных с возможностью использования контаминированного радионуклидами сырья. Должны быть разработаны критерии выбора поставщиков, предусмотрен их мониторинг, а также проводиться входной контроль сырья по показателю «Радионуклиды» (в зависимости от региона – выборочный или постоянный).

Еще одним типом потенциальных примесей, присущих лекарственным средствам, получаемым из сырья животного происхождения, являются пестициды и ряд других токсикантов, используемых в сельском хозяйстве для борьбы с различными вредителями, сорными растениями, болезнями и т.д. В отличие от радионуклидов пестициды преднамеренно вносятся в окружающую среду, имеют тенденцию к накоплению и глобальный ареал применения [15]. Наиболее опасными являются пестициды, относящиеся к группе стойких органических загрязнителей, преимущественно – хлорорганические пестициды (гексахлорциклогексан, гексахлоран, альдрин и множество других). Помимо того что данные вещества сами по себе токсичны, они также являются предшественниками диоксинов и диоксиноподобных веществ. Усугубляет их потенциальный вред способность накапливаться в окружающей среде, концентрироваться в пищевой цепи, подвергаться чрезвычайно медленной биотрансформации и элиминации. Современная нормативная база, регламентирующая предельное содержание пестицидов в окружающей среде (в том числе в продуктах питания)⁶, содержит перечень из 603 веществ, подлежащих контролю, из них более 100 соединений необходимо контролировать в животной продукции.

Необходимость контроля исходного сырья животного происхождения, используемого для производства лекарственных средств, особенно актуальна, учитывая отсутствие надлежащей нормативной базы, предписывающей осуществлять контроль остаточного содержания пестицидов в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах животного

³ Schroevers W. Naturally occurring radioactive materials in construction: integrating radiation protection in reuse (COST action Tu1301 NORM4BUILDING). Woodhead Publ.; 2017.

⁴ ФС.3.7.0001.18 Печени рыб масло жирное. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

⁵ Howard B. Environmental pathways of radionuclides to animal products in different farming and harvesting systems. In: Naletoski I, Luckins AG, Viljoen G, eds. Nuclear and radiological emergencies in animal production systems, preparedness, response and recovery. Berlin: Springer; 2021. P. 53–105. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-63021-1>

⁶ Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 10.05.2018 № 33 «Об утверждении гигиенических нормативов ГН 1. 2.3539-18 «Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды».

происхождения. В настоящий момент в ГФ РФ представлена только одна ФС.3.7.0001.18 «Печени рыб масло жирное» (рыбий жир)⁷, согласно которой нормируется предельное содержание суммы хлорорганических пестицидов (0,05 мг/кг).

Одной из самой опасных групп примесей в лекарственных средствах животного происхождения являются диоксины и их производные – токсиранты, обладающие генотоксическим, онкогенным, тератогенным и общетоксическим действием [16]. Как правило, диоксины образуются в качестве побочного продукта при производстве гербицидов [17]. Монография Европейской фармакопеи на рыбий жир, полученный от фермерских хозяйств⁸, предписывает осуществлять контроль диоксинов и диоксиноподобных полихлорированных бифенилов с использованием методов и ограничений в соответствии с требованиями, установленными в Европейском союзе, или другими применимыми нормами. В обновленной монографии Фармакопеи США на концентрат этиловых эфиров рыбьего жира с омега-3 кислотами⁹ предусмотрен контроль содержания диоксинов, фуранов и диоксиноподобных полихлорированных бифенилов: сумма полихлорированных дибензопарадиоксинов и полихлорированных дибензофуранов не более 2 пг/г, сумма всех диоксинов, фуранов и диоксиноподобных полихлорированных бифенилов – не более 10 пг/г.

Элементные примеси, в отличие от рассмотренных выше групп примесей, не являются специфичной для лекарственных средств животного происхождения группой, а присущи практически всем лекарственным средствам. Особенностью данной группы примесей применимо к животному сырью является повышенная вероятность контаминации вследствие ряда антропогенных факторов, связанных с загрязнением окружающей среды. Так, согласно ОФС.1.1.0006.15 ГФ РФ¹⁰ необходимо проводить контроль остаточного содержания мышьяка в фармацевтических субстанциях, получаемых из сырья животного происхождения. Содержание мышьяка не должно превышать 0,0001%. Ранее

упомянутая ФС.3.7.0001.18¹¹ помимо мышьяка предусматривает контроль содержания меди, свинца, цинка и ртути атомно-абсорбционным методом с нормами не более 0,0001, 0,00005, 0,0004 и 0,00003% соответственно. Показательно, что монография Фармакопеи США на хондроитин сульфат натрия, полученный из акулий хрящей¹², предусматривает обязательный контроль мышьяка (не более 0,0002%), кадмия (не более 0,0001%), свинца (не более 0,0001%) и ртути (не более 0,0001%). Для хондроитина сульфата натрия, полученного от крупного рогатого скота, свиньи или птицы контроль элементных примесей не предусмотрен. Приведенный перечень элементных примесей является минимально необходимым для контроля качества данного конкретного лекарственного средства, но не является исчерпывающим. Производители и разработчики лекарственных средств при составлении спецификации должны аргументированно обосновывать выбор элементных примесей, подлежащих контролю в лекарственных средствах животного происхождения, предоставлять исчерпывающие данные по профилю элементных примесей в исходном сырье и готовом лекарственном средстве.

Специфичной группой примесей фармацевтических субстанций животного происхождения и органолептических являются балластные соединения, которые не полностью удаляются в процессе очистки исходного сырья. К таким сопутствующим примесям относятся жиры, белки, нуклеиновые кислоты. Так, в монографиях на панкреатин зарубежных фармакопей¹³ предусмотрено определение остаточного содержания жира (не более 3,0% и не более 5,0% соответственно). Монография Европейской фармакопеи «Heparin sodium»¹⁴ предписывает контролировать остаточное содержание белка (не более 0,5 %) и нуклеиновых кислот (по предельному значению оптической плотности при 260 нм). Согласно Фармакопее США¹⁵ предельное суммарное содержание нуклеиновых кислот в гепарине натрия не должно превышать 0,1%; для анализа предусмотрено использование высокоспецифичного метода ВЭЖХ,

⁷ ФС.3.7.0001.18 Печени рыб масло жирное. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

⁸ Monograph 1910 Salmon oil, farmed. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

⁹ Monograph Fish oil Omega-3 acid ethyl esters concentrate. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44–NF39. Rockville, MD; 2021.

¹⁰ ОФС.1.1.0006.15 Фармацевтические субстанции. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

¹¹ ФС.3.7.0001.18 Печени рыб масло жирное. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

¹² Monograph Fish oil Omega-3 acid ethyl esters concentrate. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44–NF39. Rockville, MD; 2021.

¹³ Monograph Pancreatin. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44–NF39. Rockville, MD; 2021.

Monograph 0350 Pancreas powder. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

¹⁴ Monograph 0333 Heparin sodium. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

¹⁵ Monograph Heparin sodium. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44–NF39. Rockville, MD; 2021.

позволяющего определить содержание 9 нуклеотидов и родственных соединений (уридин, гуанозин, цитидин, тимидин, аденозин, 2'-дезоксиаденозин, 2'-дезоксигуанозин, 2'-дезоксцитидин, 5-метил-2'-дезоксцитидин). Для определения белковых примесей в гепарине натрия Фармакопея США¹⁶ предлагает использовать количественный спектрофотометрический метод, предельное содержание установлено на уровне 0,1%.

Нельзя не упомянуть родственные примеси лекарственных средств животного происхождения, несмотря на то что данная группа примесей не является сугубо специфичной, а характерна для всех типов лекарственных средств. ОФС.1.1.0023.18 ГФ РФ «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах» определяет родственные примеси как технологические примеси и продукты деструкции действующего вещества, при этом к технологическим примесям относятся примеси, присутствие которых обусловлено технологическим процессом производства фармацевтической субстанции. Необходимо уточнить, что к родственным примесям относятся родственные по химической структуре к действующему компоненту / активной фракции примеси, которые образуются в процессе производства или хранения лекарственного средства или возникают в результате воздействия факторов окружающей среды или взаимодействия с материалом первичной упаковки и укупорочных средств.

Хрестоматийным примером родственных примесей являются гиперсульфатированные гликозаминогликаны в гепарине натрия, в частности гиперсульфатированный хондроитин сульфат. Данная примесь ответственна за ряд случаев, связанных с существенными побочными эффектами аллергического типа и острой гипотензией [18, 19]. Согласно требованиям Фармакопеи США¹⁷ данная примесь должна отсутствовать в фармацевтической субстанции, при этом ее отсутствие подтверждается двумя независимыми методами – ¹H-ЯМР и ВЭЖХ.

К охарактеризованным родственным примесям относятся дез-Ala-апротинин и дез-Ala-дез-Gly-апротинин в фармацевтической субстанции апротинина (согласно монографии Европейской фармакопеи¹⁸ определяются методом капил-

лярного электрофореза, их содержание не должно превышать 8,0 и 7,5% соответственно), ненасыщенные дисахариды в хондроитина сульфате, образующиеся при разрушении N-ацетилгексозаминидной связи (согласно Фармакопее США¹⁹ определяются методом ВЭЖХ, суммарное содержание не должно превышать 10%), родственные пептиды протамина сульфата – пептиды помимо пептидов А, В, С и D (согласно Европейской фармакопее²⁰ определяются методом ВЭЖХ – суммарное содержание не более 8,0%) и ряд других. Родственными примесями лекарственных средств животного происхождения, представляющих собой комплекс активных веществ, например низкомолекулярных пептидов и аминокислот, являются высокомолекулярные пептиды и белки. Родственными примесями сурфактантов – фосфолипиды, не обладающие фармакологической активностью и т.д. [20, 21]. В целом можно заключить, что структура родственных примесей в лекарственных средствах животного происхождения чрезвычайно разнообразна, а подходы к их определению и нормированию требуют индивидуального подхода для каждого конкретного лекарственного средства.

Таким образом, регистрационное досье на лекарственные средства животного происхождения должно включать в себя сведения о следующих группах примесей.

1. Примеси, образующиеся в результате процесса производства, присутствие которых связано с технологией производства (остаточные органические растворители, тяжелые металлы, анионы и катионы). Контроль данных примесей следует осуществлять в фармацевтических субстанциях. В тех случаях, когда используется непрерывный цикл производства, предполагающий получение лекарственного препарата непосредственно из сырья, минуя стадию выделения фармацевтической субстанции, или имеет место возможность контаминации данными примесями в процессе производства лекарственного препарата, контроль примесей процесса должен быть предусмотрен в готовом лекарственном препарате. При установлении нормативов по предельному содержанию данной группы примесей следует использовать общие подходы, описанные в соответствующих руководствах ICH: Q(3)C «Примеси: руководство по остаточным

¹⁶ Там же.

¹⁷ Monograph Heparin sodium. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44–NF39. Rockville, MD; 2021.

¹⁸ Monograph 0580 Aprotinin. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

¹⁹ Monograph Chondroitin sulfate sodium. United States Pharmacopeia. 44th ed. USP44–NF39. Rockville, MD; 2021.

²⁰ Monograph 0569 Protamine sulfate. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

растворителям»²¹ и Q(3)D «Руководство по элементным примесям»²².

2. Родственные примеси, образующиеся в результате химического изменения компонентов лекарственного средства в процессе воздействия различных факторов. К родственным примесям относятся технологические примеси и продукты деструкции действующего вещества/активной фракции. Контроль данных примесей следует осуществлять в фармацевтических

субстанциях (технологические примеси и продукты деструкции) и в готовом лекарственном препарате (продукты деструкции).

3. Сопутствующие примеси, присутствующие в исходном сырье животного происхождения в силу его специфики, которые не удаляются полностью в процессе производства (например, жиры, белки, нуклеиновые кислоты и их фрагменты). Данные примеси имеют естественное происхождение. Контроль данных примесей

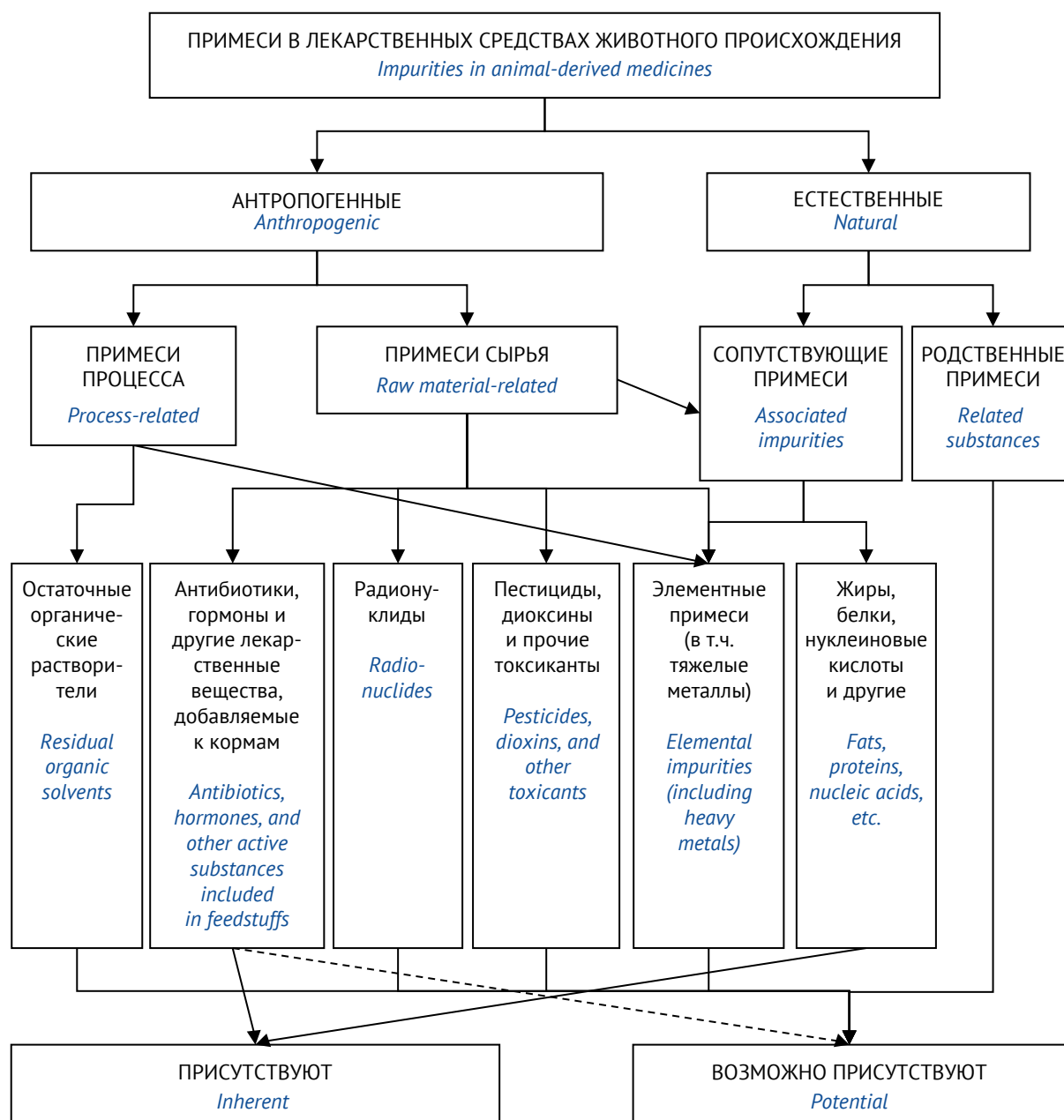


Рис. 1. Классификация примесей в лекарственных средствах животного происхождения

Fig. 1. Impurity classification for animal-derived medicines

²¹ ICH Q3C (R6) Impurities: guideline for residual solvents, 2016.

²² ICH Q3D (R1) Guideline on elemental impurities, 2019.

следует осуществлять в фармацевтических субстанциях.

4. Антропогенные посторонние примеси, присутствующие в исходном сырье животного происхождения в силу условий выращивания и содержания животных, которые не удаляются полностью в процессе производства (например, антибиотики или вещества, стимулирующие рост). Контроль данных примесей следует осуществлять в исходном сырье и в фармацевтической субстанции в случае концентрирования посторонних агентов.

5. Посторонние, как правило антропогенные, примеси, возможно, присутствующие в исходном сырье животного происхождения, наличие которых связано с экологической обстановкой в месте обитания животного, его пищевым рационом (например, тяжелые металлы, мышьяк, радионуклиды, пестициды, диоксины). Контроль данных примесей следует осуществлять в исходном сырье и в фармацевтической субстанции в случае концентрирования посторонних агентов.

Следует отметить, что не всегда ту или иную группу примесей можно однозначно отнести к конкретной группе. Например, источник контаминации тяжелыми металлами может быть связан с используемым производственным оборудованием, с упаковкой лекарственного средства, с экологической обстановкой в месте обитания животного [22]. Схематическая классификация примесей в лекарственных средствах животного происхождения приведена на рисунке 1 (пунктиром обозначена неопределенность в отношении сырья, полученного из животных, обитающих в дикой природе).

При определении требований, предъявляемых к качеству сырья, фармацевтических субстанций и готовых лекарственных препаратов, в обязательном порядке следует принимать во внимание способ применения (парентеральный, эндотрахеальный, пероральный, наружный), длительность применения лекарственного препарата, целевую группу пациентов (новорожденные, детский возраст, взрослые пациенты),

а также глубину и степень переработки сырья в процессе производства.

Заключение

Разнообразие используемого сырья, вариантов производства, сложность химического состава и большая в сравнении с синтетическими лекарственными средствами межсерийная вариативность лекарственных средств животного происхождения обуславливают определенную сложность в выборе надлежащих методологических подходов к оценке примесных соединений. Исходя из конкретных условий производства, происхождения сырья и предполагаемого применения препарата должен быть определен оптимальный подход к контролю содержания каждой группы примесей, обоснован выбор уровня, на котором следует контролировать ту или иную примесь (исходное сырье, фармацевтическая субстанция, производственный процесс или готовый лекарственный препарат). Стратегия контроля примесей в лекарственных средствах животного происхождения должна представлять собой многоступенчатую риск-ориентированную систему, включающую как мониторинг критических условий и параметров производства, так и рутинный контроль содержания примесей в сырье, фармацевтической субстанции и лекарственном препарате. Регистрационное досье лекарственного препарата должно содержать исчерпывающие данные по выбору методологии контроля, такие как обоснование уровня и детализации контроля, обоснование установленных нормативов, отчеты по определению уровня рисков. В настоящее время для включения в ГФ РФ подготовлен проект ОФС «Фармацевтические субстанции животного происхождения», который будет являться базовым нормативным документом, определяющим основные подходы к стандартизации рассматриваемой группы лекарственных средств. Актуально дальнейшее совершенствование действующих и создание новых современных фармакопейных стандартов, направленных на обеспечение безопасности лекарственных средств, полученных из сырья животного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM, International Natural Product Sciences Taskforce, Supuran CT. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(3):200–16. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>
2. Makurvet FD. Biologics vs. small molecules: Drug costs and patient access. *Med Drug Discov.* 2021;9:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100075>
3. Bercu JP, Hoffman WP, Lee C, Ness DK. Quantitative assessment of cumulative carcinogenic risk for multiple genotoxic impurities in a new drug substance. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2008;51(3):270–7. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.04.011>
4. Prokopov IA, Kovaleva EL, Minaeva ED, Pryakhina EA, Savin EV, Gamayunova AV, et al. Animal-derived medicinal products in Russia: cur-

- rent nomenclature and specific aspects of quality control. *J Ethnopharmacol.* 2019;240:111933. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111933>
5. Liu K, Chen C. Determination of impurities in pharmaceuticals: why and how? In: Pereira P, Xavier S, eds. *Quality Management and Quality Control*. 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83849>
 6. Pilaniya K, Chandrawanshi HK, Pilaniya U, Manchandani P, Jain P, Singh N. Recent trends in the impurity profile of pharmaceuticals. *J Adv Pharm Technol Res.* 2010;1(3):302–10. <https://doi.org/10.4103/0110-5558.72422>
 7. Bacanlı M, Başaran N. Importance of antibiotic residues in animal food. *Food Chem Toxicol.* 2019;125:462–6. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.033>
 8. Baynes RE, Dedonder K, Kissell L, Mzyk D, Marmulak T, Smith G, et al. Health concerns and management of select veterinary drug residues. *Food Chem Toxicol.* 2016;88:112–22. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.12.020>
 9. Мурленков НВ. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве. *Биология в сельском хозяйстве*. 2019;(4):11–4. [Murlenkov NV. Problems and factors of development of antibiotic resistance in agriculture. *Biologiya v sel'skom khozyaystve = Biology in Agriculture*. 2019;(4):11–4 (In Russ.)]
 10. Чаплыгина ОС, Просеков АЮ, Белова ДД. Определение остаточного количества антибиотиков в продуктах животного происхождения. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2022;84(1):140–8. [Chaplygina OS, Prosekov AYU, Belova DD. Determination of antibiotic residues in animal products. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologiy = Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2022;84(1):140–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2022-1-140-148>
 11. Шамберев ЮН. Влияние гормональных и субстратных препаратов на рост, обмен веществ и адаптивные способности животных. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2007;(4):111–21. [Shamberev YuN. Influence of hormonal and substrate preparations on growth, metabolism and adaptive abilities of animals. *Izvestiya Timiryazevskoy selskokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy*. 2007;(4):111–21 (In Russ.)]
 12. Nachman KE, Smith TJ. Hormone use in food animal production: assessing potential dietary exposures and breast cancer risk. *Curr Environ Health Rep.* 2015;2(1):1–14. <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0042-8>
 13. Исамов НН, Исамов (мл.) НН, Рудаков АП, Сидорова ЕВ. Дезактивация сельскохозяйственных животных при авариях на предприятиях ядерно-топливного цикла. *Проблемы анализа риска*. 2005;2(3):221–30. [Isamov NN, Isamov (Jr.) NN, Rudakov AP, Sidorova EV. Decontamination of farm animals in accidents at nuclear fuel cycle facilities. *Problemy analiza riska = Risk Analysis Problems*. 2005;2(3):221–30 (In Russ.)]
 14. Olobatoke RY, Mathuthu M. Radionuclide exposure in animals and the public health implications. *Turkish J Vet Animal Sci.* 2015;39(4):381–8. <https://doi.org/10.3906/vet-1502-85>
 15. Лаврухина ОИ. Химическая безопасность продуктов питания: контроль и нормирование содержания пестицидов в продукции животноводства. *Химическая безопасность*. 2019;3(1):154–65. [Lavrukina OI. Chemical safety of food products: control and regulation of pesticide content in livestock production. *Khimicheskaya bezopasnost' = Chemical Safety Science*. 2019;3(1):154–65 (In Russ.)] <https://doi.org/10.25514/CHS.2019.1.15012>
 16. Продовольственная безопасность и развитие рынка продовольственных товаров в современных социально-экономических условиях. Сборник по итогам Региональной научно-практической конференции. Коломна; 2016. [Food security and development of the food market in modern socio-economic conditions. Proceedings of the Regional scientific and practical conference. Kolomna; 2016 (In Russ.)]
 17. Николаева ЛА, Игнатиева ЛП, Савченков МФ. Факторы риска загрязнения окружающей среды диоксинсодержащими соединениями. *Здоровье населения и среда обитания*. 2020;(1):39–43. [Nikolaeva LA, Ignatieva LP, Savchenkov MF. Risk factors for environmental pollution with dioxin-containing compounds. *Zdorovie naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*. 2020;(1):39–43 (In Russ.)] <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-322-1-39-43>
 18. Guerrini M, Beccati D, Shriver Z, Naggi A, Viswanathan K, Bisio A, et al. Oversulfated chondroitin sulfate is a contaminant in heparin associated with adverse clinical events. *Nat Biotechnol.* 2008;26(6):669–75. <https://doi.org/10.1038/nbt1407>
 19. Corbier A, Berre N, Rampe D, Meng H, Lorenz M, Vicat P, et al. Oversulfated chondroitin sulfate and OSCS-contaminated heparin cause dose- and route-dependent hemodynamic effects in the rat. *Toxicol Sci.* 2011;121(2):417–27. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr072>
 20. Shahjahan M, Afzal M, Dharmi MSI. Characterization of impurities in nonionic surfactants and their effect on ultraviolet light absorbers. *J Environ Sci Health A.* 1992;27(6):1459–75.
 21. Angelini G, Rigano L, Foti C, Vena GA, Grاندolfo M. Contact allergy to impurities in surfactants: amount, chemical structure and carrier effect in reactions to 3-dimethylaminopropylamine. *Contact Dermatitis.* 1996;34(4):248–52. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02194.x>
 22. Дорожкин ВИ, Смирнов АМ, Попов ПА, Гуненкова НК. Основные направления научной деятельности по обеспечению качества и биологической безопасности животноводческой продукции и охраны окружающей среды. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной са-*

нитации, гигиены и экологии». 2021;(2):104–13.
[Dorozhkin VI, Smirnov AM, Popov PA, Gunenkova NK. Main directions of scientific activity on ensuring quality and biological safety of livestock

products and environmental protection. *Russian Journal «Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology»*. 2021;(2):104–13 (In Russ.))
<https://doi.org/10.36871/vet.san.hygiene.ecol.202102001>

Вклад авторов. И.А. Прокопов – разработка концепции статьи, критический анализ литературы, написание и оформление текста рукописи; Е.Л. Ковалева – ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Е.Д. Минаева – сбор и анализ данных литературы, редактирование текста рукописи; А.Д. Автушенко – сбор и анализ данных литературы, редактирование текста рукописи.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. Е.Л. Ковалева является членом редколлегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Ilya A. Prokopov—elaboration of the study concept, critical review of literature, drafting and formatting of the text of the manuscript; Elena L. Kovaleva—supervision over the study; responsibility for the integrity of the article, approval of the final version of the manuscript for publication; Elena D. Minaeva—collection and analysis of literature, editing of the text of the manuscript; Anastasia D. Avtushenko—collection and analysis of literature, editing of the text of the manuscript.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

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

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Прокопов Илья Алексеевич, канд. фарм. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4603-3233>
Prokopov@expmed.ru

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>
Kovaleva@expmed.ru

Минаева Елена Дмитриевна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2379-251X>
minaevaed@expmed.ru

Автушенко Анастасия Дмитриевна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7418-5824>
avtushenload@expmed.ru

Ilya A. Prokopov, Cand. Sci. (Pharm.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4603-3233>
Prokopov@expmed.ru

Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>
Kovaleva@expmed.ru

Elena D. Minaeva.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2379-251X>
minaevaed@expmed.ru

Anastasia D. Avtushenko.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7418-5824>
avtushenload@expmed.ru

Статья поступила 05.07.2022
После доработки 31.08.2022
Принята к печати 31.08.2022

Article was received 5 July 2022
Revised 31 August 2022
Accepted for publication 31 August 2022



Я.Ф. Копытько 
О.Л. Сайбель 
А.Е. Бурова 

Определение содержания остаточных хлорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем терпеноиды

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных
и ароматических растений» (ВИЛАР),
ул. Грина, д. 7, Москва, 117216, Российская Федерация

✉ Копытько Янина Федоровна; kopytko@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Важным показателем безопасности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов является содержание остаточных количеств пестицидов. Особую сложность представляет определение пестицидов в лекарственном растительном сырье эфиромасличных растений, характеризующихся разнообразным составом терпеноидов, которые соизвлекаются вместе с хлорорганическими пестицидами и образуют множество продуктов деградации, мешающих определению. **Цель работы:** разработка и валидация аналитической методики определения хлорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем терпеноиды, в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации. **Материалы и методы:** в исследовании были использованы образцы лекарственного растительного сырья 21 вида растений, содержащих терпеноиды, различных морфологических групп. Анализ проводили методом ГЖХ-МС на хроматомасс-спектрометре 450GC-220MS (Varian, США) с масс-анализатором типа «ионная ловушка», с кварцевой капиллярной колонкой FactorFour VF-5ms (30 м × 0,25 мм). **Результаты:** разработана методика определения хлорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем терпеноиды. Подтверждена специфичность методики для всех анализируемых соединений по времени удерживания и масс-спектру. Полнота извлечения пестицидов оценивалась на модельных смесях лекарственного растительного сырья и составила 70,04–99,27%. Для установления линейности методики использовался метод построения калибровочного графика для внутреннего стандарта (4,4'-дибромдифенил) в диапазоне концентраций 1,0–18,1 мкг/мл. Линейная зависимость наблюдалась во всем изучаемом диапазоне, коэффициент корреляции составил 0,999. Правильность и прецизионность методики соответствовали критериям приемлемости. **Выводы:** методика внедрена в работу Испытательного центра ФГБНУ ВИЛАР. С 2018 по 2020 г. проанализировано 63 образца 21 вида лекарственного растительного сырья, поступившего на анализ, и выявлено, что оно удовлетворяет требованиям безопасности по содержанию хлорорганических пестицидов. Случаи выявления остаточных количеств пестицидов в лекарственном растительном сырье носят единичный характер.

Ключевые слова: остаточные хлорорганические пестициды; лекарственное растительное сырье; терпеноиды; газовая хроматография; ГЖХ-МС

Для цитирования: Копытько Я.Ф., Сайбель О.Л., Бурова А.Е. Определение содержания остаточных хлорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем терпеноиды. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(3):288–299. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-288-299>

Ya.F. Kopytko 
O.L. Saybel 
A.E. Burova 

Quantification of Residual Organochlorine Pesticides in Medicinal Plant Raw Materials Containing Terpenoids

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR),
7 Grin St., Moscow 117216, Russian Federation

✉ Yanina F. Kopytko; kopytko@mail.ru

ABSTRACT

An important indicator of the safety of plant raw materials and herbal medicinal products is the content of residual pesticides. Its determination is particularly difficult in aromatic plants characterised by a diverse composition of terpenoids co-extracting with organochlorine pesticides and forming numerous degradation products that interfere with the analysis. **The aim of the study** was to develop and validate an analytical procedure for the quantification of organochlorine pesticides in plant raw materials containing terpenoids, compliant with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. **Materials and methods:** the study analysed samples of morphologically different raw materials from 21 plant species containing terpenoids. The analysis was carried out by GLC-MS on a 450-GC gas chromatograph coupled to a 220-MS ion-trap mass spectrometer (Varian, USA) using a FactorFour VF-5ms quartz capillary column (30 m × 0.25 mm). **Results:** the authors developed the analytical procedure for organochlorine pesticides in medicinal plant raw materials containing terpenoids. Its specificity was confirmed by retention times and mass spectra for all the tested analytes. The recovery of pesticides was studied on model mixtures of a plant raw material and ranged from 70.04 to 99.27%. The authors established the linearity using a calibration curve for internal standard (4,4'-dibromodiphenyl) concentrations from 1.0 to 18.1 µg/mL. The procedure was linear across the entire studied range; the correlation coefficient equalled 0.999. The trueness and precision of the analytical procedure met the acceptance criteria. **Conclusions:** the analytical procedure has been put into use at the Testing Centre of VILAR. From 2018 to 2020, 63 samples of 21 types of medicinal plant raw materials were analysed and found to be corresponding to the safety requirements for the organochlorine pesticide content. Residual pesticides were detected in the medicinal plant raw materials in few sporadic cases.

Key words: residual organochlorine pesticides; plant raw materials; terpenoids; gas chromatography; GLC-MS

For citation: Kopytko Ya.F., Saybel O.L., Burova A.E. Quantification of residual organochlorine pesticides in medicinal plant raw materials containing terpenoids. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):288–299. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-288-299>

Введение

Пестициды — это препараты химического или биологического происхождения, используемые для борьбы с вредителями растений, зоопаразитами, переносчиками трансмиссивных болезней (малярия, клещевой энцефалит, желтая лихорадка, брюшной тиф, лихорадка денге), а также в качестве дефолиантов, десикантов и регуляторов роста растений. В настоящее время применение пестицидов является самым массовым способом защиты растений из-за технологической простоты и эффективности. Однако применение пестицидов

также связано с негативным воздействием на окружающую среду и потенциальным риском для здоровья из-за их биоцидной активности и способности к накоплению в тканях человека и животных [1].

В зависимости от химической природы пестициды подразделяются на неорганические и синтетические органические пестициды. К последним относятся хлорорганические, циклодиеновые, органофосфатные, карбаматные пестициды и синтетические пиретроиды [2]. Из них самыми опасными для окружающей среды и человека являются хлорорганические пестициды (ХОП),

которые начали широко применяться с 30-х гг. XX века, большинство из них в десятки тысяч раз токсичнее известных неорганических ядов [3]. В соответствии со Стокгольмской конвенцией о стойких органических загрязнителях¹, которая является основным международным правовым актом, направленным на охрану окружающей среды и защиту здоровья населения от воздействия особо опасных химических соединений, основными задачами являются прекращение производства, сокращение использования и последующая ликвидация ХОП, входящих в список загрязнителей, регулируемых конвенцией.

В Российской Федерации разрешены для применения 2,4,5,4-тетрахлордифенилсульфон (тетрадифон), 1,2,5,6-тетрагидро-N-трихлорметилтиофталимид (каптан) и некоторые другие. Такие пестициды, как альдрин, дильдрин, эндрин, галекрон, дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), запрещены к использованию как в России, так и во многих других странах. Однако ДДТ пока сохраняет свое значение в карантинных ситуациях в борьбе с переносчиками трансмиссивных болезней. За время использования ХОП было распылено несколько миллионов тонн этих веществ и в настоящее время они являются одними из основных загрязнителей окружающей среды, что усугубляется их химической стойкостью, низкой растворимостью в воде, выраженной липофильностью, высокой степенью аккумуляции в живых организмах. Они обладают выраженной мутагенной и канцерогенной активностью, способны нарушать репродуктивные и эндокринные функции различных живых существ [4–7].

В связи с ограничением использования ХОП в настоящее время на их содержание в лекарственном растительном сырье (ЛРС) влияют ХОП и их метаболиты, содержащиеся в почве, водах, донных отложениях и др. К сожалению, последствия длительного использования приводят к постоянному обнаружению ХОП в объектах окружающей среды [8–13].

Территории, где ХОП не использовали, являются благополучными в отношении этих загрязнителей, например, таковыми являются поверхностные слои почвы г. Москвы, которые по содержанию остаточных количеств пестицидов относятся к категориям загрязнения «чистая» (80,0% от всей территории города) и «допустимая» (7,5% территории) [14, 15].

Использование в различных отраслях народного хозяйства сырья растительного

и животного происхождения нуждается в контроле их безопасности применения по содержанию остаточных ХОП. Для фармацевтической отрасли актуальной задачей является мониторинг остаточных пестицидов в ЛРС и препаратах из него. Для этого осуществляют извлечение ХОП, концентрирование и последующий анализ физико-химическими методами.

Самым распространенным методом анализа ХОП является газожидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ГЖХ-МС), при этом на результат анализа значительное влияние оказывает пробоподготовка образца. Обнаружение пестицидов затруднено из-за их низкой концентрации и интерференции матрицы (внутреннего или внешнего отклика, не связанного с анализируемым компонентом и обусловленного влиянием соизвлекаемых, мешающих, соединений, которые в идеальных условиях должны отсутствовать). В связи с этим возрастает роль аналитической методологии, дизайна, планирования эксперимента, программного обеспечения, поскольку они способствуют оценке влияния различных параметров, оптимизации процессов экстракции (растворитель, его объем, время экстракции, pH и др.) и дают возможность получить более точные результаты [16].

Основное внимание уделяется разработке упрощенных, экономичных и экологически безопасных методов подготовки проб, микроэкстракции и хроматографическому анализу остаточных пестицидов [2, 17]. Экспресс-методы извлечения остаточных пестицидов представлены жидкостно-жидкостной экстракцией, твердофазной экстракцией в картриджах или на твердых сорбентах, твердофазной микроэкстракцией, жидкостно-жидкостной микроэкстракцией, матричной твердофазной дисперсией, ультразвуковой экстракцией и методом QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe), позволяющим извлечь ХОП с использованием в качестве адсорбента первичных и вторичных аминов (PSA) на сферическом диоксиде кремния с добавлением сульфата магния, графитированного технического углерода. Эти быстрые методы пробоподготовки позволяют выполнить процесс выделения и очистки анализируемых соединений в один этап [3, 18, 19], удалить органические кислоты, некоторые сахара, большое количество липидов и стеролов и хорошо подходят

¹ Федеральный закон Российской Федерации от 27.06.2011 № 164-ФЗ «О ратификации Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях».

для пищевых продуктов, например свежих фруктов и овощей².

ЛРС содержит большое количество сложных соединений: флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, алкалоидов, аминокислот, жирных кислот, сахаров, углеводов и др. При этом соединения, которые растворяются в экстрагентах, используемых для извлечения ХОП, будут мешать анализу ГЖХ-МС. К ним относятся липиды (воски, триглицериды, фосфолипиды), пигменты (хлорофиллы, каротиноиды, меланоидины), смолы, компоненты эфирного масла, углеводороды. Среди летучих соединений, продуцируемых растениями, важное место занимают терпеноиды (монотерпены, сесквитерпены, терпеновые спирты, ацетаты, альдегиды, эфиры и др.). Так как они имеют двойные связи, то способны вступать в различные реакции с кислотами, окислителями, подвергаться полимеризации, дегидрированию и термическому разложению [20].

Терпеноиды легко извлекаются неполярными растворителями и способны вызывать негативные матричные эффекты при анализе пестицидов методом ГЖХ/МС, в частности при масс-спектрометрическом детектировании. Эффекты, обусловленные матрицей, могут привести к изменениям в хроматографических сигналах, которые увеличиваются за счет положительных и уменьшаются за счет отрицательных эффектов матрицы. Они могут быть результатом адсорбции анализируемых веществ и компонентов матрицы в инжекторе, детекторе и (или) хроматографической колонке, взаимодействия между анализируемыми соединениями и неподвижной фазой хроматографической колонки или из-за неподходящих параметров ввода пробы [21].

Выявлено влияние на негативные матричные эффекты при анализе методом ГЖХ-МС таких терпеновых соединений, как олеаноловая и урсоловая кислоты, при этом различиями структуры молекул пестицидов (наличием неподеленной пары электронов, лабильного водорода, способности к конъюгации) могут быть объяснены различия по влиянию матричных эффектов на результаты анализа пестицидов [22].

Методики определения пестицидов в ЛРС в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС)³ включают обработку пробы

серной кислотой для избавления от соизвлекаемых веществ, являются трудоемкими и длительными. Подготовка пробы зачастую требует многократности обработки, сопровождается недостаточной степенью извлечения целевых компонентов, а также их деструкцией при контакте с концентрированной серной кислотой. В связи с этим актуальной является оптимизация процесса экстракции и анализа применительно к различным видам ЛРС в условиях каждой отдельно взятой лаборатории.

Основные из соизвлекаемых веществ при анализе ХОП в ЛРС – это алифатические углеводороды, на которые при обычных условиях не действует серная кислота и которые не адсорбируются на оксиде алюминия, но присутствие которых снижает специфичность методики анализа. Наличие этих веществ можно спрогнозировать заранее, зная состав ЛРС. Чем больше, например, воскового налета на частях растения, тем больше будет содержаться парафинов в пробе. Более того, парафинов может быть так много, что они выпадают в испытуемом растворе в виде хлопьев. Разработка методики удаления этой группы веществ является важной задачей. Их можно частично отделить фильтрацией или центрифугированием после охлаждения раствора при 2–5 °С, но при этом также есть вероятность соосаждения вместе с ними анализируемых веществ.

ЛРС эфиромасличных растений характеризуется еще более сложным составом соизвлекаемых веществ, включающим терпеноиды, которые вместе с ХОП экстрагируются н-гексаном. Содержание терпеноидов в пробе может быть таково, что они, в отличие от липидов, не разрушаются до конца серной кислотой, в то время как визуально слой серной кислоты становится бесцветным. В пробе остается множество продуктов деградации терпеноидов, которые мешают определению ХОП, поэтому необходимо проводить дополнительную однократную или двукратную обработку серной кислотой, что учтено в предлагаемой методике.

Цель работы – разработка и валидация аналитической методики определения хлорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем терпеноиды, в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации.

² Методические указания МУК 4.1.3351-16 Многоостаточное определение пестицидов различной химической природы в продукции растениеводства. https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=7905

³ ОФС.1.5.3.0011.15 Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

Материалы и методы

Объектами исследования служили образцы ЛРС 21 вида растений различных морфологических групп: ромашки аптечной (*Matricaria recutita* L.), календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.) цветки; любистока лекарственного (*Levisticum officinale* W.D.J. Koch) и аира болотного (*Acorus calamus* L.) корневища; валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L. s. l.) корневища с корнями; багульника болотного (*Ledum palustre* L.) побеги; шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.), эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L.) листья; Melissa лекарственной (*Melissa officinalis* L.), чабреца (*Thymus serpyllum* L.), золототысячника (*Centaureum erythraea* Rafn.) трава; сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и березы (*Betula pendula* Roth.) почки; хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.) соплодия; укропа пахучего (*Anethum graveolens* L.), тмина обыкновенного (*Carum carvi* L. s. l.), фенхеля обыкновенного (*Foeniculum vulgare* Mill.), аниса обыкновенного (*Pimpinella anisum* L.) и амми большой (*Ammi majus* L.) плоды.

В работе использованы образцы ЛРС, поступившего на анализ в Испытательный центр ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» с 2018 по 2020 г. от фармацевтических компаний, выпускающих фасованное ЛРС и реализующих его на российском фармацевтическом рынке. Всего было проанализировано 63 образца ЛРС, содержащего терпеноиды.

Анализ проводили методом ГЖХ-МС на хромато-масс-спектрометре 450GC-220MS (Varian, США) с масс-анализатором типа «ионная ловушка». Хроматографическое разделение компонентов пробы проводили на кварцевой капиллярной колонке FactorFour VF-5ms (30 м × 0,25 мм, 5% фенил, 95% диметилполисилоксан). Условия хроматографирования: газ носитель — гелий с постоянной скоростью потока 1,0 мл/мин; температура инжектора хроматографа 200 °С; объем вводимой пробы 1 мкл; деление потока 2. Температурная программа колонки: 150 °С — 1 мин, нагрев до 240 °С со скоростью 10 °С/мин, изотерма при 240 °С — 15 мин. Включение ионизации на 4-й мин. Общее время анализа — 25 мин.

Для контроля полноты извлечения ХОП из ЛРС в качестве внутреннего стандарта использовали 4,4'-дибромдифенил (CAS 92-86-4). Для количественного определения содержания ХОП использовали следующие стандартные образцы (СО): α-гексахлоциклогексан (ГСО 8888-2007);

β-гексахлоциклогексан (ГСО 8889-2007); γ-гексахлоциклогексан (ГСО 8890-2007); 4,4-ДДТ (ГСО 8892-2007); 4,4-ДДД (ГСО 8891-2007); 4,4-ДДЭ (ГСО 8893-2007); алдрин (СОП 14-08); гептахлор (СОП 03-15 раствора гептахлора в ацетоне). Для приготовления растворов СО около 0,01 г (точная навеска) соответствующего ХОП помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 50 мл гексана, доводили до метки этим же растворителем и перемешивали. Затем из каждой колбы отбирали по 0,1 мл раствора и помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки н-гексаном и перемешивали (концентрация каждого компонента около 0,1 мкг/мл).

Подготовку пробы проводили следующим образом: около 5 г (точная навеска) ЛРС, измельченного и просеянного через сито с размером отверстий 0,5 мм, помещали в круглодонную колбу вместимостью около 250 мл, прибавляли 100 мкл стандартного раствора внутреннего стандарта 4,4'-дибромдифенила в гексане с концентрацией 1 мкг/мл, 50 мл н-гексана, присоединяли обратный холодильник и перемешивали на магнитной мешалке со скоростью 400 об./мин при 60 °С в течение 1 ч. Экстракцию с 50 мл н-гексана при таких же условиях проводили еще четыре раза, каждый раз промывая воронку с ватой 10 мл н-гексана. Объединенное н-гексановое извлечение упаривали на ротаторном вакуумном испарителе до объема около 35–50 мл.

В делительную воронку вместимостью 100 мл количественно переносили полученное извлечение и прибавляли 20–25 мл серной кислоты концентрированной. Содержимое делительной воронки осторожно взбалтывали в течение 1 мин и оставляли до расслоения фаз, после чего нижний (кислотный) слой отбрасывали. Очистку повторяли столько раз, сколько требуется до получения бесцветного слоя серной кислоты.

Для ЛРС, содержащего терпеноиды, после получения визуально бесцветного слоя серной кислоты проводили дополнительную однократную или двукратную очистку серной кислотой.

При обработке н-гексанового извлечения концентрированной серной кислотой делительную воронку нельзя сильно встряхивать, поскольку при этом может происходить интенсивное окисление компонентов пробы с выделением тепла и газов, способное привести к выталкиванию пробки и выбросу содержимого.

Полученное извлечение промывали 50 мл воды очищенной, пропускали через колонку (длиной

10 см и диаметром 1 см), последовательно заполненную алюминия оксидом (высота слоя 3 см) и натрия сульфатом безводным (высота слоя 3 см). Колонку промывали 20 мл метиленхлорида. Элюат упаривали на ротаторном вакуумном испарителе при температуре 40–60 °С досуха. Сухой остаток растворяли в 1–2 мл ацетона (н-гексана или этилацетата) и количественно переносили в вialу автоматического пробоотборника, после чего анализировали методом ГЖХ-МС.

Идентификацию разделенных компонентов проводили по времени удерживания с использованием растворов стандартных образцов ХОП, библиотеки масс-спектров NIST-08 (MS Library

and MS Search Program, Version 2f) и алгоритмов сравнения программного обеспечения Saturn (Varian). Количественную оценку осуществляли методом внешнего стандарта. Полнота извлечения пестицидов по площади пика внутреннего стандарта, 4,4'-дибромдифенила, добавляемого в ЛРС, должна составлять 70–110%.

Содержание определяемого пестицида в пробе ($C_{\text{исп}}$, мг/кг) определяли по формуле:

$$C_{\text{исп}} = \frac{S \times C_{\text{ст}} \times V}{S_{\text{ст}} \times P}, \quad (1)$$

где S – площадь пика определяемого соединения на хроматограмме испытуемого раствора; $S_{\text{ст}}$ – площадь пика определяемого соединения

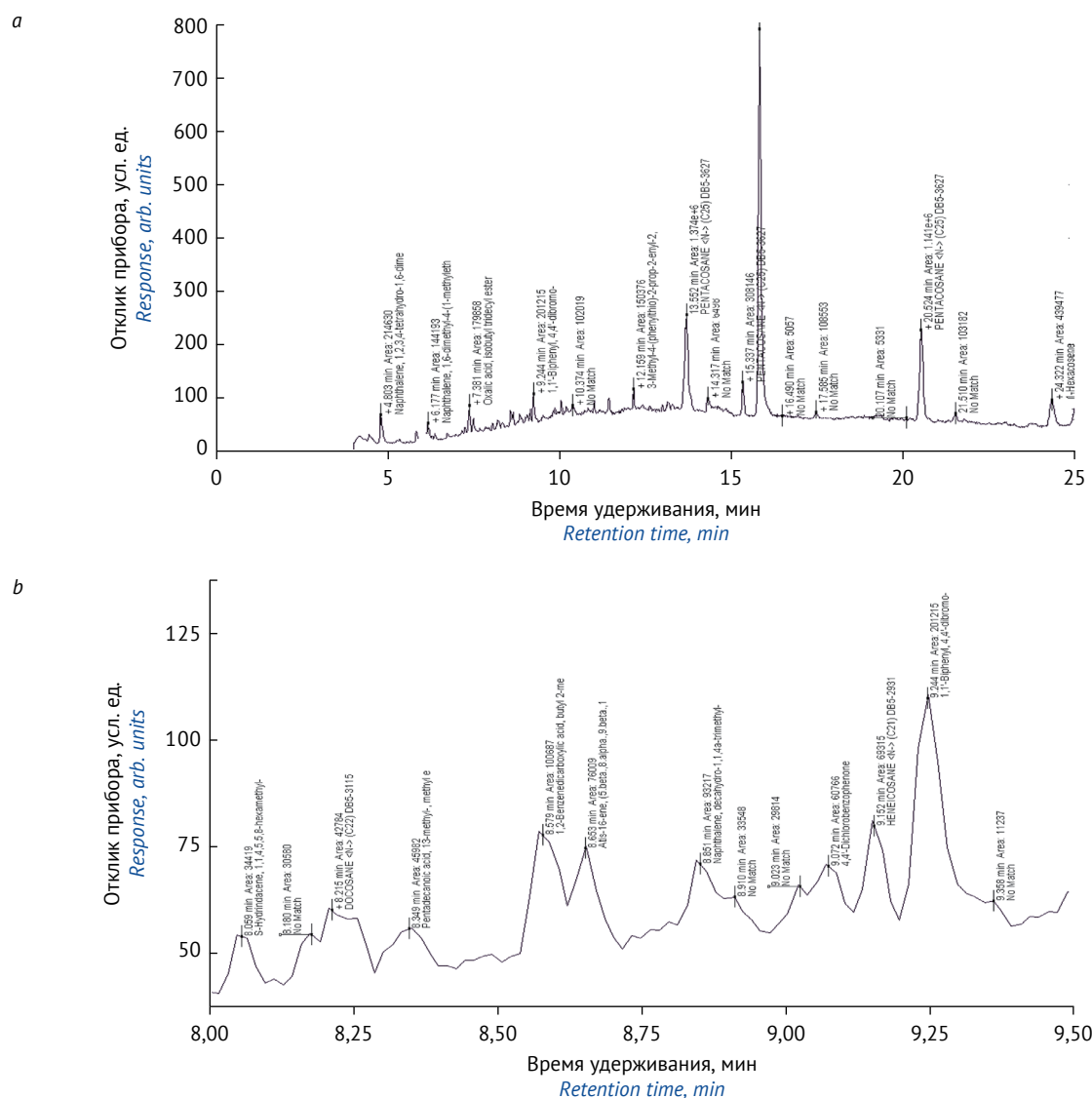


Рис. 1. Хроматограммы извлечения из соплодий хмеля: общий вид (а); фрагмент с пиком 4,4'-дихлорбензофенона, время удерживания 9,072 мин (б). Условия анализа указаны в тексте

Fig. 1. Chromatograms of a hop strobile extract: the full view (a) and the zoomed-in part with the 4,4'-dichlorobenzophenone peak at the retention time of 9.072 min (b). Testing conditions are specified in the text

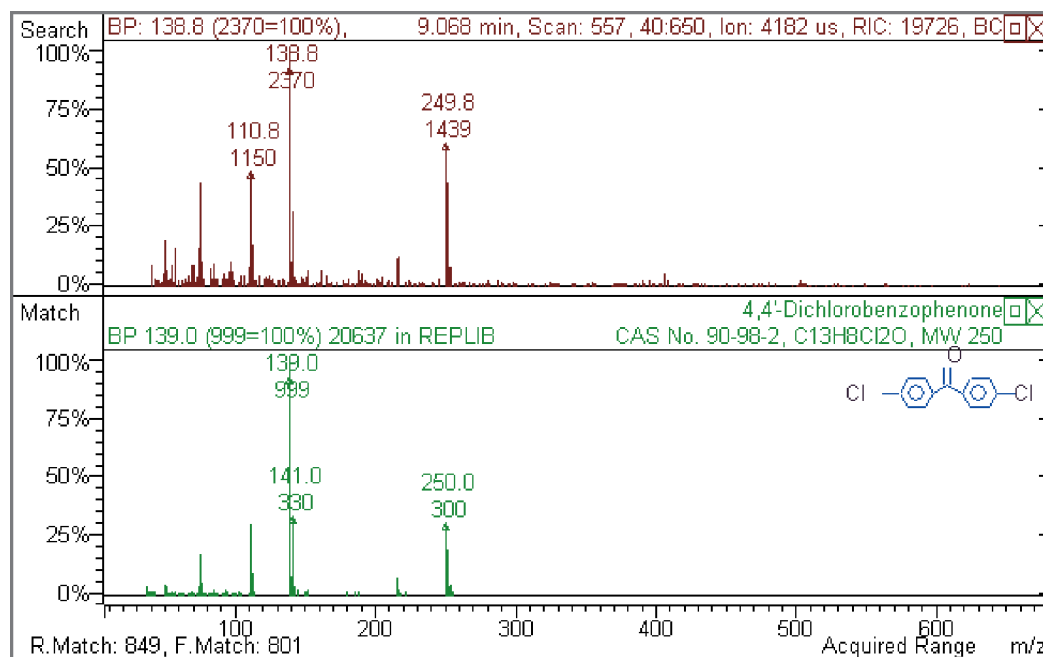


Рис. 2. Масс-спектры найденного вещества и 4,4'-дихлорбензофенона

Fig. 2. Mass spectra of the detected substance and 4,4'-dichlorobenzophenone

на хроматограмме стандартного раствора; $C_{\text{ст}}$ — концентрация определяемого соединения в стандартном растворе, мг/мл; P — навеска ЛРС в граммах; V — объем ацетона (н-гексана), использованный для растворения сухого остатка, мл.

Пределы допустимого содержания хлорсодержащих и других остаточных пестицидов в ЛРС не должны превышать значений, указанных в таблицах 4 и 5 ОФС.1.5.3.0011.15.

Результаты и обсуждение

Из 63 проанализированных образцов, содержащих терпеноиды, только в одном из них, соплодиях хмеля обыкновенного, найден 4,4'-дихлорбензофенон (метаболит дикофола) в количестве 2,26 мг/кг (рис. 1 и 2) при предельно допустимом содержании дикофола 0,5 мг/кг⁴. Такое превышение ХОП в более чем в 4 раза свидетельствует о его применении в качестве инсектицида для борьбы с амбарными вредителями, что является недопустимым.

Во всех других образцах ХОП отсутствовали, или их концентрации не превышали допустимых пределов, что свидетельствует о безопасности по содержанию ХОП в ЛРС, используемом для изготовления фасованной продукции.

Оценены пределы количественного определения ХОП, которые могут меняться в зависимости от эффективности хроматографической колонки,

состава ЛРС, всегда содержащего мешающие определению вещества, увеличивающие уровень шума, и множества других факторов. Предел количественного определения пестицидов устанавливали на основании визуальной оценки хроматограммы и величины соотношения сигнал/шум = 10. Времена удерживания пестицидов в данных условиях и пределы количественного определения приведены в таблице 1, хроматограмма СО пестицидов приведена на рисунке 3.

Подтверждена подлинность для всех анализируемых соединений по времени удерживания и масс-спектру.

Все определяемые вещества хорошо разделяются при использовании капиллярной колонки FactorFour VF-5ms (30 м × 0,25 мм) в предложенных условиях хроматографирования. Полнота извлечения пестицидов изучена на модельных смесях с ЛРС календулы и находится в пределах 70,04–99,27%.

Линейность методики определяли методом построения калибровочного графика для внутреннего стандарта (4,4'-дибромдифенила) в диапазоне концентраций 1,0–18,1 мкг/мл. Линейная зависимость наблюдалась во всем изучаемом диапазоне, коэффициент корреляции составил 0,999 (табл. 2, рис. 4).

Установлено, что калибровочный график характеризуется линейной зависимостью в диапазоне

⁴ Там же, таблица 5.

Таблица 1. Времена удерживания и пределы количественного определения хлорорганических пестицидов

Table 1. Retention times and quantification limits of organochlorine pesticides

Время удерживания, мин <i>Retention time, min</i>	Название <i>Name</i>	Предел количественного определения, мкг/мл <i>Quantification limit, µg/mL</i>	Площадь пика <i>Peak area</i>	Фактор обратного совпадения* <i>Reverse match factor*</i>
6,256	α-Гексахлоциклогексан <i>α-Hexachlorocyclohexane</i>	0,057	2212	917
6,514	β-Гексахлоциклогексан <i>β-Hexachlorocyclohexane</i>	0,053	1945	906
6,839	γ-Гексахлоциклогексан <i>γ-Hexachlorocyclohexane</i>	0,063	2511	932
8,326	Гептахлор <i>Heptachlor</i>	0,047	3163	891
9,079	Алдрин <i>Aldrin</i>	0,060	1810	878
9,132	4,4'-дибромдифенил <i>4,4'-Dibromodiphenyl</i>	0,047	3056	768
10,697	4,4-ДДЭ <i>4,4-DDE</i>	0,031	3536	870
11,618	4,4-ДДД <i>4,4-DDD</i>	0,029	3424	862
12,676	4,4-ДДТ <i>4,4-DDT</i>	0,033	2980	882

Примечание. 4,4-ДДЭ – 4,4-дихлордифенилдихлорэтилен; 4,4-ДДД – 4,4-дихлордифенилдихлорметилметан; 4,4-ДДТ – 4,4-дихлордифенилтрихлорэтан.

* Фактор обратного совпадения – это коэффициент совпадения масс-спектров, полученный путем игнорирования всех пиков, которые находятся в спектре образца, но не совпадают с соответствующими пиками в спектре библиотеки. Коэффициент совпадения не может превышать 999.

Note. 4,4-DDE – 4,4-dichlorodiphenyldichloroethylene; 4,4-DDD – 4,4-dichlorodiphenyldichloromethylmethane; 4,4-DDT – 4,4-dichlorodiphenyltrichloroethane.

* The reverse match factor (R.Match) is a match factor obtained by ignoring all the peaks that are present in a sample spectrum but do not match the corresponding peaks in a library spectrum. The R.Match cannot exceed 999.

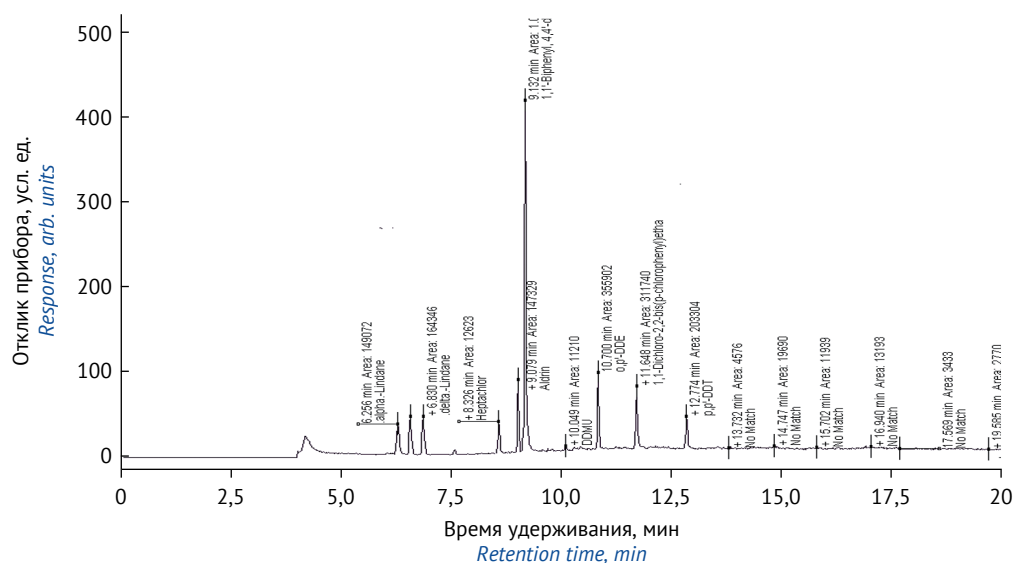


Рис. 3. Хроматограмма смеси стандартных образцов пестицидов в н-гексане

Fig. 3. The chromatogram of the mixture of pesticide reference standards in n-hexane

Таблица 2. Зависимость площади пика 4,4'-дибромдифенила от концентрации раствора в н-гексане

Table 2. Dependence of the 4,4'-dibromodiphenyl peak area on its concentration in the n-hexane solution

№ измерения <i>Measurement No.</i>	Концентрация стандартного образца 4,4'-дибромдифенила, мкг/мл <i>4,4'-dibromodiphenyl reference standard concentration, µg/mL</i>	Аналитический отклик (площадь пика) <i>Analytical response (peak area)</i>
1	1,010	125431
2	2,020	250862
3	4,035	501103
4	8,070	1002206
5	10,090	1227636
6	12,110	1488882
7	18,160	2155264

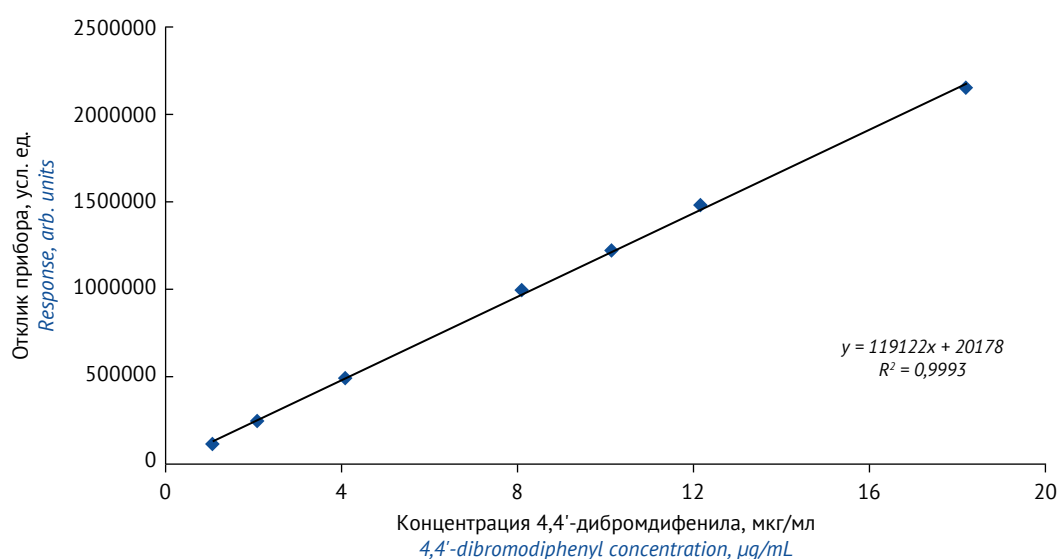


Рис. 4. Зависимость площади пика 4,4'-дибромдифенила от концентрации

Fig. 4. Dependence of the 4,4'-dibromodiphenyl peak area on its concentration

концентраций 1,0–18,1 мкг/мл, коэффициент корреляции близок к единице (0,9993), что соответствует критерию приемлемости.

Правильность и прецизионность методики устанавливали путем анализа трех калибровочных растворов СО 4,4'-дибромдифенила с концентрациями 1,010, 4,035, 10,090 мкг/мл в течение первого дня (intra-day) и второго дня (inter-day). Каждый раствор хроматографировали в трех повторностях. Данные представлены в таблице 3.

Критерий приемлемости — средний процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100%, и его средняя величина должна находиться в пределах 100±5%. В разработанной методике процент восстановления находился в пределах от 98,82 до 100,74%, среднее

значение составило 99,77%, что соответствует требованиям критерия приемлемости.

Метрологические характеристики результатов количественного определения 4,4'-дибромдифенила (10,090 мкг/мл) в модельном образце с ЛРС календулы: число измерений $n=5$; число степеней свободы $f=4$; $t(P, f)=2,78$ при доверительной вероятности $P=95\%$; среднее значение результата анализа $\bar{X}_{cp}=10,073$; дисперсия $S^2=5,2 \times 10^{-2}$; стандартное отклонение $S=7,2 \times 10^{-3}$; стандартное отклонение среднего результата $S_x=4,14 \times 10^{-3}$; граница доверительного интервала среднего результата $\Delta \bar{X}_{cp}=8,95 \times 10^{-2}$; граница доверительного интервала результата отдельного определения $\Delta X=0,2$; относительная ошибка среднего результата $\epsilon_{cp}=0,89\%$; относительная ошибка результата отдельного определения $\epsilon=1,98\%$.

Таблица 3. Результаты оценки правильности и прецизионности разработанной методики

Table 3. Results of the assessment of the developed analytical procedure for trueness and precision

№ раствора <i>Solution No.</i>	Ожидаемое значение, мкг/мл <i>Expected value, µg/mL</i>	Полученное значение, мкг/мл <i>Obtained value, µg/mL</i>	Абсолютная погрешность <i>Absolute error</i>	Выход (процент восстановления), % <i>Percent recovery, %</i>	Среднее значение процента восстановления, % <i>Average percent recovery, %</i>
В течение первого дня / <i>intra-day</i>					
1.1	1,010	1,016	+0,006	99,00	99,53
1.2	1,010	1,007	−0,003	99,7	
1.3	1,010	1,001	−0,009	99,9	
2.1	4,035	4,030	−0,005	99,88	99,94
2.2	4,035	4,030	−0,005	99,88	
2.3	4,035	4,037	+0,002	100,05	
3.1	10,090	10,098	+0,008	100,08	99,99
3.2	10,090	10,089	−0,001	99,99	
3.3	10,090	10,081	−0,009	99,91	
В течение второго дня / <i>inter-day</i>					
1.1	1,010	1,008	−0,002	99,80	99,41
1.2	1,010	1,003	−0,007	99,31	
1.3	1,010	1,001	−0,009	99,11	
2.1	4,035	4,017	−0,018	99,55	99,77
2.2	4,035	4,011	−0,024	99,40	
2.3	4,035	4,049	+0,014	100,34	
3.1	10,090	10,071	−0,019	99,81	99,98
3.2	10,090	10,165	−0,025	100,74	
3.3	10,090	10,069	−0,021	99,39	

Правильность и прецизионность методики соответствовали требованиям ОФС.1.5.3.0011.15 (процент восстановления — от 98,82 до 100,74%, среднее значение 99,75%), что позволяет считать методику количественного определения остаточных ХОП методом ГЖХ-МС в ЛРС прошедшей валидационные испытания.

Закключение

Разработана и валидирована аналитическая методика определения ХОП методом

ГЖХ-МС для ЛРС, содержащего терпеноиды, на 63 образцах 21 вида сырья различных морфологических групп. В результате проведенного мониторинга содержания ХОП в ЛРС, используемого для производства фасованной продукции на территории Российской Федерации, выявлено, что сырье удовлетворяет требованиям безопасности по содержанию ХОП в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации. Случаи выявления пестицидов в ЛРС носят единичный характер.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Abdulra'uf LB, Tan GH. Chemometric approach to the optimization of HS-SPME/GC-MS for the determination of multiclass pesticide residues in fruits and vegetables. *Food Chem.* 2015;177:267–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.031>
2. Narendran ST, Meyyanathan SN. Sample treatment and determination of pesticide residues in potato matrices: a review. *Potato Res.* 2019;62:47–67. <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9396-x>
3. Черняев АП, Рычкова ЕЮ, Кондриков НБ, Зык ЕН. Современная модификация способа определения ХОП в органических объектах. *Известия ТИИРО.* 2017;188(1):244–50. [Chernyaev AP, Rychkova EY, Kondrikov NB, Zyk EN. Modern modification

- of the method for determination of organochlorine pesticides in organic vehicles. *Izvestiya TINRO = Izvestia TINRO*. 2017;188(1):244–50 (In Russ.)] <https://doi.org/10.26428/1606-9919-2017-188-244-250>
4. Ширапова ГС, Утюжникова НС, Рабина ОА, Вялков АИ, Морозов СВ, Батоев ВБ. Загрязнение хлорорганическими пестицидами и полихлорированными бифенилами бассейна озера Байкал: озеро Гусиное. *Химия в интересах устойчивого развития*. 2013;21(2):197–205. [Shirapova GS, Utyuzhnikova NS, Rabina OA, Vyalkov AI, Morozov SV, Batoev VB. Contamination of the Lake Baikal basin by organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls: the Gusinoe Lake. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya = Chemistry for Sustainable Development*. 2013;21(2):187–195]
 5. Wetterauer B, Ricking M, Otte JC, Hallare AV, Rastall A, Erdinger L, et al. Toxicity, dioxin-like activities, and endocrine effects of DDT metabolites-DDA, DDMU, DDMS, and DDCN. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2012;19(2): 403–15. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0570-9>
 6. Jiang X, Tang T, Zhao H, Song Q, Zhou H, Han Q, Diao X. Differential gene responses in the embryo of the green mussel *Perna viridis* exposed to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *Toxicol Res (Camb)*. 2017;6(4):477–86. <https://doi.org/10.1039/c7tx00087a>
 7. Jaga K. What are the implications of the interaction between DDT and estrogen receptors in the body? *Med Hypotheses*. 2000;54(1):18–25. <https://doi.org/10.1054/mehy.1998.0811>
 8. Зыбалов ВС, Крупнова ТГ. Исследование содержания хлорорганических пестицидов в объектах окружающей среды на территории Челябинской области. *Вестник ЮУрГУ. Серия: Химия*. 2014;6(3):39–42. [Zybalov VS, Krupnova TG. Study of obsolete and unusable pesticides in environmental objects on the territory of the Chelyabinsk region. *Vestnik YuUrGU. Seriya: Khimiya = Bulletin of SUSU. Series: Chemistry*. 2014;6(3):39–42 (In Russ.)]
 9. Turgut C, Cutright TJ, Mermer S, Atatanir L, Turgut N, Usluy M, Erdogan O. The source of DDT and its metabolites contamination in Turkish agricultural soils. *Environ Monit Assess*. 2013;185(2):1087–93. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2616-y>
 10. Malusá E, Tartanus M, Danelski W, Miszczak A, Szustakowska E, Kicińska J, Furmanczyk EM. Monitoring of DDT in agricultural soils under organic farming in Poland and the risk of crop contamination. *Environ Manage*. 2020;66(5):916–29. <https://doi.org/10.1007/s00267-020-01347-9>
 11. Erdem Z, Cutright TJ. Sorption/desorption of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane(4,4'-DDT) on a sandy loam soil. *Environ Monit Assess*. 2015;187(2):24. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4262-7>
 12. Peng S, Kong D, Li L, Zou C, Chen F, Li M, et al. Distribution and sources of DDT and its metabolites in porewater and sediment from a typical tropical bay in the South China Sea. *Environ Pollut*. 2020;267:115492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115492>
 13. Исакова АН, Кошелев СН. Поведение дихлорфенилтрихлорэтана (ДДТ) в профиле почв Курганской области. *Вестник Курганской ГСХА*. 2019;1(29):10–12. [Isakova AN, Koshelev SN. The behavior of dichlorophenyltrichloroethane (DDT) in the soil profile of the Kurgan region. *Vestnik Kurganskoy GSHA = Bulletin of the Kurgan State Agricultural Academy*. 2019;1(29):10–12 (In Russ.)]
 14. Бродский ЕС, Шелепчиков АА, Фешин ДБ, Агапкина ГИ, Артюхова МВ. Содержание и распределение дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) в почвах Москвы. *Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение*. 2016;(1):32–40. [Brodsky ES, Shelepchikov AA, Feshin DB, Agapkina GI, Artyukhova MV. Content and distribution of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) in soils of Moscow. *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2016;71(1):27–34. <https://doi.org/10.3103/S0147687416010038>]
 15. Агапкина ГИ, Бродский ЕС, Шелепчиков АА, Фешин ДБ. Приоритетные органические загрязнители в почве дендропарка Ботанического сада МГУ имени М.В. Ломоносова. Сообщение 3. Особенности вертикального распределения хлорорганических пестицидов в профиле урбанозема. *Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение*. 2015;(4):49–55. [Agapkina GI, Brodsky ES, Shelepchikov AA, Feshin DB. Priority organic pollutants in soil of arboretum of the Botanical Garden of Moscow State University. Report 3. Specific features of vertical distribution pattern of organochlorine pesticide in profile of urbanozem. *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2015;70(4):180–6 <https://doi.org/10.3103/S014768741504002X>]
 16. Narendran ST, Meyyanathan SN, Karri VVSR. Experimental design in pesticide extraction methods: a review. *Food Chem*. 2019;289:384–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.045>
 17. Fang Y, Tian W, Pei F, Li P, Shao X, Fan Y, Hu Q. Simultaneous determination of pesticide residues and antioxidants in blended oil using a liquid-liquid extraction combined with dispersive solid phase extraction method. *Food Chem*. 2017;229:347–53. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.094>
 18. Fernandes VC, Domingues VF, Mateus N, Delerue-Matos C. Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction. *J Sep Sci*. 2013;36(2):376–82. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200673>
 19. Abdulrauf LB, Sirhan AY, Tan GH. Applications of experimental design to the optimization of microextraction sample preparation parameters for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J AOAC Int*. 2015;98(5):1171–85. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE3Abdulrauf>
 20. Yadava N, Yadava R, Goyalb A. Chemistry of terpenoids. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2014;27(2):272–8.
 21. Giacinti G, Raynaud C, Capblancq S, Simon V. Matrix-matching as an improvement strategy for the detection of pesticide residues. *J Food Sci*. 2016;81(5):1342–50. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13296>
 22. Giacinti G, Raynaud C, Capblancq S, Simon V. Evaluation and prevention of the negative matrix

effect of terpenoids on pesticides in apples quantification by gas chromatography-tandem mass

spectrometry. *J Chromatogr A*. 2017;1483:8–19. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.056>

Вклад авторов. Я.Ф. Копытько — разработка методики, сбор и обработка аналитических данных, написание текста рукописи; О.Л. Сайбель — обработка результатов анализа, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; А.Е. Бурова — подготовка проб, сбор аналитических данных.

Благодарности. Работа проведена согласно плану научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме «Фитохимическое обоснование ресурсосберегающих технологий переработки лекарственного растительного сырья и рационального использования биологически активных веществ растительного происхождения» (FGUU-2022-0011).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Yanina F. Kopytko—development of the analytical procedure, collection and processing of analytical data, writing of the text of the manuscript; Olga L. Saybel—processing of the analysis results, approval of the final version of the article for publication; Alla E. Burova—preparation of samples, collection of analytical data.

Acknowledgements. The study was carried out as part of the research plan of VILAR on Phytochemical substantiation of sustainable processing technologies for plant raw materials and the rational use of plant-derived bioactive compounds (FGUU-2022-0011).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Копытько Янина Федоровна, канд. фарм. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1716-4020>
kopytko@mail.ru

Сайбель Ольга Леонидовна, канд. фарм. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8059-5064>
saybel@vilarnii.ru

Бурова Алла Евгеньевна.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3883-576X>
burova@vilarnii.ru

Yanina F. Kopytko, Cand. Sci. (Pharm.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1716-4020>
kopytko@mail.ru

Olga L. Saybel, Cand. Sci. (Pharm.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8059-5064>
saybel@vilarnii.ru

Alla E. Burova.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3883-576X>
burova@vilarnii.ru

Статья поступила 28.02.2022

После доработки 23.06.2022

Принята к печати 31.08.2022

Article was received 28 February 2022

Revised 23 June 2022

Accepted for publication 31 August 2022



А.Г. Солодовников^{1,2} 
Е.И. Морковин^{1,3,4} 
Д.В. Куркин³ 
Е.Ю. Сорокина¹ 
Т.Ф. Перетолчина²

Особенности расчета допустимой ежедневной экспозиции контаминантов при производстве лекарственных препаратов на общих технологических линиях

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

✉ Солодовников Александр Геннадьевич; asolodovnikov@statandocs.com

РЕЗЮМЕ

Производство лекарственных препаратов на общих технологических линиях создает риск перекрестной контаминации. Одним из способов выбора пределов содержания возможных контаминантов является подход, основанный на расчете допустимой ежедневной экспозиции (permitted daily exposure, PDE) — дозы активной фармацевтической субстанции или другого контаминирующего вещества, потребление которого в течение всей жизни не будет ассоциировано у человека с нежелательными явлениями. Цель работы — представить методику определения коэффициентов для расчета значений PDE, используемых для установления пределов содержания потенциальных контаминантов на общих технологических линиях фармацевтических производств. Проанализированы требования нормативных документов и источники литературы, необходимые для оценки критически значимых эффектов контаминантов, приведены сведения о возможных допущениях при использовании токсикометрических показателей, описана взаимосвязь PDE с другими показателями, характеризующими безопасность химических соединений в отношении человеческого организма. Рассмотрен пример расчета PDE экспериментального лекарственного средства, обладающего гипогликемической активностью, на основании ограниченного объема данных, полученных из открытых источников. Продемонстрирована роль сведений о первичных фармакодинамических эффектах лекарственных средств в оценке их критических эффектов, необходимой для реализации наиболее консервативных подходов к расчету PDE. Предложенный в качестве примера порядок расчета значений PDE может быть использован для оценки рисков перекрестной контаминации на технологических линиях фармацевтических производств.

Ключевые слова: допустимая ежедневная экспозиция; PDE; контаминация; межвидовая экстраполяция доз; безопасность применения лекарственных средств; контроль рисков

Для цитирования: Солодовников А.Г., Морковин Е.И., Куркин Д.В., Сорокина Е.Ю., Перетолчина Т.Ф. Особенности расчета допустимой ежедневной экспозиции контаминантов при производстве лекарственных препаратов на общих технологических линиях. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):300–309. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-399>

A.G. Solodovnikov^{1,2} 
E.I. Morkovin^{1,3,4} 
D.V. Kurkin³ 
E.Yu. Sorokina¹ 
T.F. Peretolchina²

Considerations for Permitted Daily Exposure Calculation for Contaminants in Medicinal Products Manufactured in Shared Facilities

¹ Statandocs 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

✉ Alexander G. Solodovnikov; asolodovnikov@statandocs.com

ABSTRACT

The manufacture of different medicinal products in shared facilities creates a risk of cross-contamination. One of the approaches to select the limits for possible contaminants is based on calculating the permitted daily exposure (PDE), i.e. the dose of an active pharmaceutical ingredient or any other substance contaminating a medicinal product that will not be associated with any adverse events in a human in the case of lifetime exposure. The aim of this study was to provide practical guidance on selecting adjustment factors for calculating PDEs to establish limits for potential contaminants in multi-purpose pharmaceutical facilities. The authors analysed the regulatory requirements and literature needed to establish critical effects of contaminants, outlined possible assumptions in the use of quantitative indicators for measuring toxicity, and described the relationship between the PDE and other indicators of the safety of chemical compounds for human health. The article presents an example of PDE calculation for an investigational hypoglycemic medicinal product using a limited amount of open-source literature data. Thus, the article demonstrates the role of information on the primary pharmacodynamic effects of medicinal products in the assessment of their critical effects, which is necessary to implement the most conservative approaches to PDE calculation. The example of PDE calculation presented in the article may be used to assess cross-contamination risks associated with non-dedicated manufacturing facilities.

Key words: permitted daily exposure; PDE; contamination; interspecies dose extrapolation; safety of the use of medicines; risk control

For citation: Solodovnikov A.G., Morkovin E.I., Kurkin D.V., Sorokina E.Yu., Peretolchina T.F. Considerations for permitted daily exposure calculation for contaminants in medicinal products manufactured in shared facilities. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):300–309. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-399>

Введение

Производство лекарственных препаратов обычно осуществляется на производственных площадках, на которых количество производственных линий ограничено. В случаях, когда несколько лекарственных препаратов выпускают на общей производственной линии, возникает риск перекрестной контаминации, который следует учитывать при оценке рисков на производствах, поскольку контаминация любой продукции представляет риск для безопасности пациентов в зависимости от характера и степени контаминации. Согласно Решению Совета Евразийской экономической комис-

сии (ЕЭК) от 03.11.2016 № 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза» для оценки и контроля риска перекрестной контаминации производимой продукции должен быть использован процесс управления рисками для качества, включая оценку активности и токсикологическую оценку, при этом методы установления порогов содержания загрязнителей описаны в руководствах Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements

for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)¹, а также в Решении Коллегии ЕЭК от 14.01.2020 № 1 «Об утверждении Руководства по установлению допустимых пределов воздействия на здоровье в целях идентификации рисков при производстве лекарственных средств на общих производственных (технологических) линиях».

Контаминантами, присутствие которых неизбежно, могут быть любые компоненты лекарственных препаратов, в том числе действующее вещество (активная фармацевтическая субстанция, АФС, active pharmaceutical ingredient, API), вспомогательные вещества, примеси и продукты разложения, связанные с технологическим процессом, элементарные примеси, остаточные растворители и другие вещества. Одним из способов определения пределов содержания возможных контаминантов является подход, основанный на расчете допустимой ежедневной экспозиции (permitted daily exposure, PDE, или acceptable daily exposure, ADE) — дозы API или любого иного контаминирующего вещества, при ежедневном воздействии которой в течение всей жизни человек с минимальной вероятностью будет испытывать возможные побочные эффекты². Подход, основанный на расчете PDE, является относительно новым для Российской Федерации, поэтому практические аспекты расчетов требуют разъяснения.

Цель работы — представить методику определения коэффициентов для расчета значений PDE, используемых для установления пределов содержания потенциальных контаминантов на общих технологических линиях фармацевтических производств.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи: провести отбор источников получения сведений, необходимых для установления критически значимых эффектов контаминантов; проанализировать данные о возможных допущениях при использовании токсикометрических показателей; оценить взаимосвязь PDE с другими показателями, характеризующими безопасность химических соединений в отношении человеческого организма.

Выбор и обоснование критических эффектов

Для расчета PDE в первую очередь необходимо проанализировать все значимые данные для выявления наиболее критических эффектов. В ряде случаев необходимая для расчетов информация может быть найдена в специализированных базах данных, например в базе данных опасных веществ (Hazardous Substances Data Bank, HSDB) Национальной медицинской библиотеки США (National Library of Medicine, NLM), которая в настоящее время интегрирована в базу данных химических соединений и смесей (PubChem)³, а также в монографиях компаний-производителей или консенсусных рекомендациях профильных медицинских агентств, в частности Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC), или в отчетах Национальной токсикологической программы США (National Toxicology Program, NTP). Тем не менее в ряде случаев необходим поиск данных в научной периодической литературе, целью которого будет выступать критическая оценка сведений о фармакодинамических эффектах лекарственного средства, зарегистрированных у животных, результатов исследований токсичности с многократным дозированием, исследований канцерогенности, генотоксичности (как *in vitro*, так и *in vivo*), репродуктивной и онтогенетической токсичности, а также доступных клинических данных, в том числе о фармакодинамических эффектах лекарственного средства, возникающих у человека, и соответствующих им уровнях доз. При этом следует учитывать, что клинические данные (при их наличии, например, для API) более предпочтительны для расчета PDE, чем доклинические, поскольку первичный фармакодинамический эффект лекарственного средства зачастую не рассматривается в качестве нежелательного в токсикологических исследованиях, в то время как фармакодинамические эффекты контаминанта могут быть причиной возникновения как нежелательных реакций, так и межлекарственных взаимодействий, а следовательно, могут угрожать безопасности потенциального потребителя.

Для каждого критического эффекта лекарственного средства следует установить пороговый

¹ ICH Q3D Elemental impurities. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/353369/2013.

ICH Q3C (R6) Residual solvents. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/213867/2020.

² ICH Q3D Elemental impurities. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/353369/2013.

ICH Q3C (R6) Residual solvents. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/213867/2020.

Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.01.2020 № 1 «Об утверждении Руководства по установлению допустимых пределов воздействия на здоровье в целях идентификации рисков при производстве лекарственных средств на общих производственных (технологических) линиях».

³ <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

уровень, который будет использоваться в качестве отправной точки при дальнейших расчетах. Наиболее предпочтительным для расчетов показателем является доза без наблюдаемых нежелательных эффектов (no observed adverse effect level, NOAEL) или доза без наблюдаемых эффектов (no observed effect level, NOEL). Как правило, эти показатели устанавливаются по результатам исследований с многократным дозированием, однако при отсутствии таковых и при должном обосновании приемлемы также результаты исследований острой токсичности⁴. В частности, это может быть обосновано, когда контаминируемый продукт предназначен для кратковременного или однократного применения, поскольку в подобных случаях введение поправочных коэффициентов для учета длительности дозирования не требуется [1, 2].

Хотя в большинстве случаев NOAEL и NOEL эквивалентны, в некотором смысле NOEL следует считать более консервативным показателем. Например, для перорального гипогликемического лекарственного средства снижение уровня глюкозы в крови является целевым фармакодинамическим эффектом, который может стать нежелательным эффектом в случае, если это лекарственное средство будет контаминировать лекарственный препарат, не предназначенный для лечения сахарного диабета. Поэтому для нового неопептидного агониста рецептора GPR119 с лабораторным шифром ZB-16, эффективность сахароснижающего действия которого в дозе 1 мг/кг/сут в течение 4 недель была продемонстрирована на модели экспериментального сахарного диабета, вызванного у крыс введением стрептозотоцина и никотиамида [3], указанная доза может рассматриваться как наименьшая доза, вызывающая наблюдаемый эффект (lowest observed effect level, LOEL). Это согласуется с данными, полученными на здоровых животных: у крыс без экспериментальной патологии статистически значимое снижение уровня гликемии наблюдали после однократного введения ZB-16 в дозах 1 или 10 мг/кг, в то время как у животных, получавших лекарственное средство в дозе 0,1 мг/кг, снижение уровня глюкозы было незначительным при сравнении с показателями, зарегистрированными у крыс, которым вводили физиологический раствор [4]. Таким образом,

NOEL ZB-16 по результатам описанных экспериментов на крысах составляла 0,1 мг/кг, а NOAEL совпадала с LOEL и достигала 1 мг/кг. В случаях, когда NOEL или NOAEL установить невозможно, допустимо использование для расчетов LOEL или наименьшей дозы, вызывающей наблюдаемый нежелательный эффект (lowest observed adverse effect level, LOAEL).

Ни один из перечисленных показателей не находится в строгой взаимосвязи с медианной летальной дозой (median lethal dose, LD₅₀) при однократном введении, от определения которой в настоящее время отказались все ведущие регуляторные органы, поскольку летальность не должна рассматриваться в качестве единственной конечной точки в токсикологических исследованиях. Более важными для оценки безопасности лекарственного средства становятся данные о возникновении специфических симптомов интоксикации и пороговых уровнях для возникновения нежелательных эффектов, причем необходимость в однократном введении исследуемых соединений в дозах более 2000 мг/кг, как правило, отсутствует⁵. Тем не менее важно, чтобы необходимые сведения были отражены в наиболее точном виде: записи вида «LD₅₀ превышала 2000 мг/кг, поскольку гибели мышей не зарегистрировали» и «при введении вещества в дозах до 2000 мг/кг признаки интоксикации и случаи гибели мышей отсутствовали» могут быть основаны на результатах одного и того же исследования, но только вторую запись возможно использовать для выбора NOAEL = 2000 мг/кг, поскольку в данном случае NOAEL будет соответствовать максимальной переносимой дозе (maximum tolerated dose, MTD). Альтернативно может применяться наименьшая токсическая доза (lowest toxic dose, TD_{Lo}), которая может быть принята за LOAEL, однако при использовании такого подхода необходимым будет введение поправок на недостаточную длительность исследования для обеспечения наибольшей консервативности расчетов. Таким образом, использование NO(A)EL или LO(A)EL, полученных в исследованиях с многократным дозированием, является более предпочтительным, поскольку оно не требует дополнительных обоснований, критерии приемлемости которых в актуальных регуляторных документах в настоящее время отсутствуют.

⁴ EMA/CHMP/CVMP/SWP/169430/2012 Questions and answers on implementation of risk-based prevention of cross-contamination in production and "Guideline on setting health-based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities".

⁵ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

Расчет допустимой ежедневной экспозиции (PDE)

После того как произведен выбор отправных точек для оценки безопасности лекарственного средства, расчет PDE выполняют по формуле:

$$PDE = \frac{NOEL \times \text{поправка на массу}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}, \quad (1)$$

где F1 — коэффициент, учитывающий поправку на экстраполяцию между видами животных, F2 — коэффициент, учитывающий межиндивидуальную вариабельность (всегда равен 10), F3 — коэффициент, учитывающий продолжительность исследований, F4 — коэффициент, который применяется в случаях опасных видов токсичности контаминанта, F5 — переменный коэффициент, который применяется в случае, если не установлена NOEL. Вместо NOEL при расчетах по формуле (1) могут применяться другие характеристики лекарственного средства, описанные выше, в том числе NOAEL, LOEL и LOAEL. В качестве поправки на массу используют 50 кг, принятые за стандартную массу человека, однако в некоторых случаях данный коэффициент может быть снижен при наличии соответствующего обоснования, например если контаминируемый лекарственный препарат предназначен для применения у детей [5]. Подробная характеристика коэффициентов F1–F5 (согласно нормативным документам ICH) приведена в таблице 1.

Следует заметить, что коэффициент F1 по смыслу совпадает с аллометрическим коэффициентом пересчета, используемым для расчетов эквивалентной дозы для человека (human equivalent dose, HED), и отношение NOEL (или NOAEL, LOAEL, LOEL) к F1 будет полностью соответствовать HED. Более того, при доступности клинических данных дозу, оказывающую (или не оказывающую) целевой эффект у человека, возможно использовать напрямую, поскольку F1 будет равен 1. В руководствах ICH⁶ указаны стандартные массы тела животных различных биологических видов: 28 г для мыши, 425 г для крысы, 4 кг для кролика, 11,5 кг для собаки и 50 кг для человека. В то же время массы тела животных, использованных непосредственно в экспериментах, могут существенно отличаться от стандартных. Например, кролики породы советская шиншилла, которых часто используют в токсикологических исследованиях в России, могут весить до 8 кг, что делает коэффициент

F1 = 2,5 завышенным, а масса тела крыс, используемых в краткосрочных экспериментах, редко превышает 200–250 г, что делает коэффициент F1 = 5 заниженным. В подобных случаях обоснованным будет использование коэффициента пересчета, основанного на реальных данных.

Коэффициент F1 рассчитывают по формуле:

$$F1 = \frac{S_a / m_a}{S_h / m_h}, \quad (2)$$

где S_a и S_h — площади поверхности тела животного и человека соответственно, m_a и m_h — массы тела животного и человека соответственно. При этом площадь поверхности тела может быть вычислена по формуле⁷:

$$S = k \times m^{0,67}, \quad (3)$$

где k — константа, равная 10.

Таким образом, формула (2) приобретает следующий вид:

$$F1 = \frac{S_a / m_a}{S_h / m_h} = \frac{k \times m_a^{0,67}}{k \times m_h^{0,67}} = \frac{m_a^{-0,33}}{m_h^{-0,33}} = \frac{m_h^{0,33}}{m_a^{0,33}} = \left(\frac{m_h}{m_a} \right)^{0,33}. \quad (4)$$

Примеры результатов расчетов по формуле (4) для животных разных видов и человека (с массой тела 50 кг) представлены в таблице 2.

Для демонстрации расчетов PDE можно использовать пример с соединением ZB-16 [3, 4, 6]. ZB-16 представляет собой производное диарилксиметилпиперидина, обладающее активностью в качестве агониста рецептора GPR119, взаимодействие с которым обуславливает гипогликемические свойства рассматриваемого соединения. Клинические испытания ZB-16 в настоящее время не инициированы, поэтому для оценки критических эффектов возможно использование доклинических данных. Согласно результатам исследований острой токсичности, выполненных на мышах и крысах обоих полов, однократное внутривенное введение ZB-16 в дозах до 2000 мг/кг включительно не вызывало изменение внешнего вида, проявлений токсического действия или случаев гибели животных в течение 14 сут наблюдения⁸. Таким образом, MTD могла бы составлять 2000 мг/кг, однако у здоровых крыс однократное пероральное введение ZB-16 в дозе 1 мг/кг вызывало статистически значимый фармакодинамический эффект,

⁶ ICH Q3D Elemental impurities. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/353369/2013.

ICH Q3C (R6) Residual solvents. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/213867/2020.

⁷ Там же.

⁸ Куркин ДВ. Противодиабетические свойства и некоторые плейотропные эффекты агонистов GPR119 и их комбинаций с гипогликемическими препаратами: дис. ... д-ра фарм. наук. Волгоград; 2018.

Таблица 1. Поправочные коэффициенты, используемые для расчетов допустимой ежедневной экспозиции (PDE)⁹

Table 1. Adjustment factors used to calculate the permitted daily exposure (PDE)⁹

Коэффициент <i>Factor</i>	Значения коэффициента <i>Factor values</i>
F1, межвидовая экстраполяция* <i>F1, interspecific extrapolation*</i>	1 — для данных, полученных у человека <i>1 for human data</i> 2 — для данных, полученных на собаках <i>2 for dog data</i> 2,5 — для данных, полученных на кроликах <i>2.5 for rabbit data</i> 3 — для данных, полученных на обезьянах <i>3 for monkey data</i> 5 — для данных, полученных на крысах <i>5 for rat data</i> 12 — для данных, полученных на мышах <i>12 for mouse data</i> 10 — для данных, полученных на других животных <i>10 for other animal data</i>
F2, межиндивидуальная вариабельность <i>F2, interindividual variability</i>	10 — во всех случаях <i>10 for all cases</i>
F3, продолжительность исследований** <i>F3, duration of studies **</i>	1 — для исследований продолжительностью не менее половины от максимальной продолжительности жизни у использованного вида животных (1 год для грызунов и кроликов, 7 лет для кошек, собак и обезьян) <i>1 for studies lasting at least half of the maximum lifespan of the animal species used (i.e. at least 1 year for rodents and rabbits, 7 years for cats, dogs, and monkeys)</i> 1 — для исследований репродуктивной токсичности исследуемого соединения, полностью охватывающих весь период органогенеза у использованного вида животных <i>1 for studies of reproductive toxicity of the medicinal product of interest, fully covering the entire organogenesis period in the animal species used</i> 2 — для исследований продолжительностью не менее четверти от максимальной продолжительности жизни у использованного вида животных (6 месяцев для грызунов и кроликов, 3,5 года для кошек, собак и обезьян) <i>2 for studies lasting at least a quarter of the maximum lifespan of the animal species used (i.e. at least 6 months for rodents and rabbits, 3.5 years for cats, dogs, and monkeys)</i> 5 — для исследований продолжительностью 3 месяца на грызунах и кроликах или 2 года на кошках, собаках и обезьянах <i>5 for studies lasting 3 months in rodents and rabbits or 2 years in cats, dogs, and monkeys</i> 10 — для исследований меньшей продолжительности <i>10 for studies of a shorter duration</i>
F4, наличие опасных эффектов <i>F4, severe toxic effects</i>	1–10 в зависимости от значимости эффекта, например для фетотоксичности без материнской токсичности F4 = 1, в то время как для тератогенности без материнской токсичности F4 = 10 <i>1–10, depending on the significance of the effect; e.g. F4 = 1 for fetotoxicity without maternal toxicity, whereas F4 = 10 for teratogenicity without maternal toxicity</i>
F5, поправка на используемый показатель <i>F5, reference point used</i>	1 — при использовании NOEL <i>1 for NOEL</i> 1–5 — при использовании NOAEL <i>1–5 for NOAEL</i> 5–10 — при использовании LOEL <i>5–10 for LOEL</i> 10 — при использовании LOAEL <i>10 for LOAEL</i>

Примечание. NOEL — доза без наблюдаемых эффектов, NOAEL — доза без наблюдаемых нежелательных эффектов, LOEL — наименьшая доза, вызывающая наблюдаемый эффект, LOAEL — наименьшая доза, вызывающая наблюдаемый нежелательный эффект.

* коэффициент зависит от соотношения массы тела животного и человека.

** для исследований промежуточной продолжительности следует использовать большее значение фактора, например для исследования на крысах продолжительностью 5 месяцев F3 = 5.

Note. NOEL—no observed effect level, NOAEL—no observed adverse effect level, LOEL—lowest observed effect level, LOAEL—lowest observed adverse effect level.

* This factor depends on the ratio of body masses of the animal used and a human.

** The larger value of the factor should be used for study durations between the time points; for example, for a 5-month study on rats, F3 = 5.

⁹ ICH Q3D Elemental impurities. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/353369/2013.

ICH Q3C (R6) Residual solvents. European Medicines Agency. EMA/CHMP/ICH/213867/2020.

Таблица 2. Примеры результатов расчета коэффициента F1 для мышей, крыс и кроликов

Table 2. Examples of F1 calculation results for mice, rats, and rabbits

Вид животного <i>Species of animals</i>	Масса тела, г <i>Body mass, g</i>	Величина F1 с округлением <i>Rounded F1 value</i>	
		до десятых <i>to tenths</i>	до целого <i>to the nearest integer</i>
Мышь <i>Mouse</i>	15	14,5	15
	20	13,2	13
	25	12,3	12
	30	11,6	
	35	11,0	11
	40	11,5	
Крыса <i>Rat</i>	100	7,8	8
	150	6,8	7
	200	6,2	6
	250	5,7	
	300	5,4	5
	350	5,1	
	400	4,9	
	450	4,7	
	500	4,6	
Кролик <i>Rabbit</i>	2000	2,9	3
	2500	2,7	
	3000	2,5	
	3500	2,4	2
	4000	2,3	
	4500	2,2	
	5000	2,1	
	6000	2,0	

проявляющийся снижением уровня глюкозы в крови [4], что однозначно не позволяет рассматривать уровень 2000 мг/кг как NOEL и/или NOAEL. Сведения об исследованиях токсичности ZB-16 при многократном введении ограничены: в научной литературе доступно описание исследования фертильности, выполненного на самцах крыс, которым ZB-16 вводили внутривенно в дозах 0,5 или 100 мг/кг/сут в течение 2 мес., согласно результатам данного исследования ZB-16 не оказывало негативного влияния на сперматогенез и фертильность животных [6]. На этом основании было бы возможно принять дозу 100 мг/кг/сут за NOAEL, однако полное отсутствие в цитируемой статье информации об общетоксическом действии ZB-16 не позволяет использовать эти данные для квалификации исследуемого соединения. Поэтому единственным показателем, подходящим для расчета PDE ZB-16, становится

эффективная доза, использованная в фармакодинамических исследованиях: у крыс (масса тела 250–280 г) с экспериментальным сахарным диабетом, получавших ZB-16 в дозе 1 мг/кг/сут в течение 4 недель, отмечали снижение уровня гликемии и замедление прироста массы тела — эффекты, обусловленные первичными фармакодинамическими свойствами исследуемого соединения [3, 4]. Сведения об исследованиях генотоксичности, канцерогенности, сенсибилизирующего потенциала, а также влияния ZB-16 на эмбриональное, пре- и постнатальное развитие отсутствуют. В исследованиях *in vitro* данное соединение не проявляло кардиотоксического действия в отношении специфических для кардиомиоцитов человека калиевых каналов и не вызывало ингибирования изоферментов цитохрома P450. Структура ZB-16 не содержит обычных генотоксических угроз и обеспечивает высокую микросомальную

Таблица 3. Оценка идентифицированных опасностей ZB-16

Table 3. Evaluation of the hazards identified for ZB-16

Возможные токсические свойства соединения <i>Possible toxic properties of the compound</i>	Да <i>Present</i>	Нет <i>Absent</i>	Неизвестно <i>No data</i>
Генотоксикант <i>Genotoxicity</i>			+
Репродуктивный (онтогенетический) токсикант <i>Reproductive (ontogenetic) toxicity</i>		+	
Канцероген <i>Carcinogenicity</i>			+
Высокий сенсibiliзирующий потенциал <i>High sensitising potential</i>			+

* На основании исследования фертильности на самцах крыс.

* Based on a fertility study in male rats.

стабильность, что в сочетании с отсутствием цитотоксического действия и низкой системной абсорбцией (8% после однократного перорального введения препарата в дозе 10 мг/кг) позволяет считать наличие генотоксических и канцерогенных свойств маловероятным [4]. Таким образом, LOEL ZB-16 у крыс составляет 1 мг/кг/сут на основании способности соединения снижать уровень глюкозы в крови, а оценка идентифицированных опасностей ZB-16 в табличном виде может быть представлена следующим образом (табл. 3):

Подобная оценка опасностей делает очевидным дефицит информации о результатах доклинических исследований отдельных типов. Наиболее критично отсутствие данных о генотоксическом и канцерогенном потенциале соединения: ZB-16 предназначен для лечения сахарного диабета 2 типа, поэтому можно ожидать, что пациентам будет необходимо регулярно принимать лекарственный препарат с этим действующим веществом в течение длительного (более 6 мес.) периода времени — это делает необходимым проведение как долгосрочных исследований токсичности на грызунах и животных, не относящихся к грызунам (продолжительностью не менее 6 мес.)¹⁰, так и исследований канцерогенности на грызунах продолжительностью 2 года¹¹. Вместе с тем наличие генотоксичности, которое, безусловно, могло бы помешать регистрации подобного препарата, не является препятствием для определения PDE: в таких случаях порог

токсикологической угрозы (threshold of toxicological concern, TTC) принимают за 1,5 мкг/сут без необходимости в дополнительных расчетах¹².

Другие недостатки описанной выше токсикологической программы дискуссионны: с учетом того, что сахарный диабет 2 типа преимущественно является заболеванием зрелого и пожилого возраста, сужение критериев отбора пациентов в целевую популяцию (например, применение только у мужчин и/или у женщин без репродуктивного потенциала) устраняет необходимость в дополнительном изучении репродуктивной токсичности¹³, а для предположений о наличии высокого сенсibiliзирующего потенциала химических соединений, как правило, требуются клинические данные, отсутствующие в настоящее время. Тем не менее, поскольку PDE рассчитывается для оценки безопасности содержания контаминанта в лекарственном препарате с другим действующим веществом, необходимо, чтобы особенности клинического применения контаминируемого лекарственного препарата в некоторой степени компенсировали риски, возникающие из-за контаминации. Конкретно в описанном случае приемлемым был бы выпуск лекарственного препарата ZB-16 на одной производственной линии со средством для лечения эректильной дисфункции, применяемым «по потребности», — это ограничило бы целевую популяцию мужчинами (без необходимости проведения исследований

¹⁰ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

¹¹ ICH S1B Carcinogenicity: testing for carcinogenicity of pharmaceuticals. CPMP/ICH/299/95.

¹² Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.01.2020 № 1 «Об утверждении Руководства по установлению допустимых пределов воздействия на здоровье в целях идентификации рисков при производстве лекарственных средств на общих производственных (технологических) линиях».

¹³ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

репродуктивной токсичности на самках животных и на неполовозрелых особях) и позволило бы в некоторой степени игнорировать отсутствие информации о канцерогенных свойствах.

С учетом ограничений, описанных выше, для расчетов по формуле (1) можно использовать следующие коэффициенты для соединения ZB-16:

F1 = 6 (так как использованы крысы массой 250–280 г [3, 4]),

F2 = 10 (постоянное значение коэффициента),

F3 = 10 (так как длительность эксперимента составляла менее 3 мес.),

F4 = 1 (отсутствие тяжелых признаков токсичности),

F5 = 5 (для расчетов использована LOEL, определенная как доза, оказывающая желаемый терапевтический эффект).

При подстановке полученных значений формула (1) примет вид:

$$PDE = \frac{1 \text{ мг/кг/сут} \times 50 \text{ кг}}{6 \times 10 \times 10 \times 1 \times 5} = \frac{1 \text{ мг/сут}}{60} = 0,0167 \text{ мг/сут} = 16,7 \text{ мкг/сут}$$

Если выпуск контаминирующего лекарственного препарата будет осуществлен на общей производственной линии с препаратом, отличающимся путем введения, то понадобится также ввести поправку на системную биодоступность, которую рассчитывают как отношение биодоступности контаминанта при пероральном введении к его биодоступности при том же пути введения, что у контаминируемого лекарственного препарата¹⁴. Например, если контаминируемый препарат будет предназначен для внутривенного введения (биодоступность 100%), то PDE ZB-16 (биодоступность 8% при пероральном введении) составит 0,08×16,7 мкг/сут или 1,34 мкг/сут.

Следовательно, PDE ZB-16 при пероральном или внутривенном введении составляет 16,7 и 1,34 мкг/сут соответственно, в то время как HED для желаемого гипогликемического эффекта при пероральном приеме будет равен отношению LOEL к F1, то есть 167 мкг/кг/сут, что соответствует 8,35 мг/сут для человека массой 50 кг или 11,69 мг/сут для человека массой 70 кг. Это позволяет проиллюстрировать важный аспект используемого подхода: PDE лекарственных средств могут оказываться на порядки ниже рекомендуемых суточных доз, а PDE вспомогательных веществ, являющихся витаминами или нутриентами (токоферол, аскорбиновая кислота, сахароза, лактоза, глюкоза и т.д.), — существенно ниже норм

поступления, предусмотренных диетическими рекомендациями. Таким образом, PDE (или ADE) не является синонимом по отношению к допустимому суточному потреблению (acceptable daily intake, ADI), а представляет собой отдельный токсикологический показатель, предназначенный не для оценки безопасности целенаправленного применения какого-либо лекарственного средства или иного соединения человеком, а для определения допустимого порогового уровня непреднамеренного поступления этого соединения с иными продуктами ежедневно в течение всей жизни человека.

Заключение

Расчет PDE требует тщательной оценки возможных рисков взаимной контаминации лекарственных препаратов, выпускаемых на общих производственных линиях. Как правило, для этого применимы данные научной литературы, из которых можно получить наиболее значимую информацию о возможных фармакодинамических и токсикологических эффектах контаминанта, а также о важных аспектах проведения эксперимента: биологическом виде животного, массе тела, длительности дозирования, наличии тяжелых токсических эффектов. Во всех случаях предпочтение в расчетах следует отдавать наиболее консервативной величине NOEL, однако вместо нее также могут быть применены NOAEL, LOEL и LOAEL, использование которых должно быть обосновано и учтено в дополнительных поправочных коэффициентах. Наиболее высокие значения поправочных коэффициентов применяются в случаях, когда отсутствуют результаты долговременных токсикологических исследований, или в ситуациях, когда контаминант способен вызывать тяжелые токсические реакции или когда на основании доступных данных установление NO(A)EL не представляется возможным. Поскольку PDE используется для определения допустимого порогового уровня ежедневного пожизненного непреднамеренного поступления контаминанта, данный показатель не эквивалентен допустимому суточному потреблению и может быть ниже него на порядки.

Предложенный порядок расчета значений PDE на примере производного диарилдоксиметилпиперидина, обладающего гипогликемической активностью, может быть использован для установления пределов содержания потенциальных контаминантов на технологических линиях фармацевтических производств.

¹⁴ ICH S1B Carcinogenicity: testing for carcinogenicity of pharmaceuticals. CPMP/ICH/299/95.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wiesner L, Prause M, Lovsin Barle E. Topical otic drugs in a multi-purpose manufacturing facility: a guide on determination and application of permitted daily exposure (PDE). *Pharm Dev Technol.* 2018;23(3):261–4. <https://doi.org/10.1080/10837450.2017.1334665>
2. Lovsin Barle E, Pfister T, Fux C, Röthlisberger D, Jere D, Mahler H-C. Use of the permitted daily exposure (PDE) concept for contaminants of intravitreal (IVT) drugs in multipurpose manufacturing facilities. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2019;101:29–34. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.10.007>
3. Tyurenkov IN, Kurkin DV, Bakulin DA, Volotova EV, Chafeev MA, Smirnov AV, et al. ZB-16, a novel GPR119 agonist, relieves the severity of streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in rats. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:152. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00152>
4. Tyurenkov IN, Kurkin DV, Bakulin DA, Volotova EV, Morkovin EI, Chafeev MA, et al. Chemistry and hypoglycemic activity of GPR119 agonist ZB-16. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:543. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00543>
5. Ball DJ, Beierschmitt WP. Permitted daily exposure values: application considerations in toxicological risk assessments. *Int J Toxicol.* 2020;39(6):577–85. <https://doi.org/10.1177/1091581820946746>
6. Бугаева ЛИ, Кузубова ЕА, Мальцев МВ, Лаврова ЕБ, Тюренок ИИ, Куркин ДВ и др. Влияние агониста рецепторов GPR-119 (соединения ZB-16) на сперматогенез и оплодотворяющую функцию крыс-самцов. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* 2020;(3):103–6. [Bugaeva LI, Kuzubova EA, Maltsev MV, Lavrova EB, Tyurenkov IN, Kurkin DV, et al. The influence of the agonist of receptors GPR-119 (compounds ZB-16) on spermatogenesis and fertilization function of male rats. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University.* 2020;(3):103–6. (In Russ.)] [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2020-3\(75\)-103-106](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2020-3(75)-103-106)

Вклад авторов. Все авторы внесли равный вклад в поиск литературы и написание текста рукописи; А.Г. Солодовников — идея разработки темы и обоснование актуальности работы, научное редактирование текста рукописи; Е.И. Морковин — оформление рукописи и иллюстративного материала, выполнение расчетов; Д.В. Куркин — участие в критической оценке рисков, ассоциированных с производством ZB-16, проверка расчетов; Е.Ю. Сорокина — планирование работы и постановка задачи; Т.Ф. Перетолчина — научное редактирование текста рукописи, проверка расчетов.

Благодарности. Работа выполнялась без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. All authors contributed equally to the literature search and writing of the manuscript. Aleksandr G. Solodovnikov—elaboration of the study idea and justification of its relevance, scientific editing of the text of the manuscript; Evgeny I. Morkovin—formatting of the manuscript and preparation of the illustrative material, performing of the calculations; Denis V. Kurkin—participation in the critical assessment of risks associated with ZB-16 manufacturing, verification of the calculations; Ekaterina Yu. Sorokina—study planning and formulation of the study objectives; Tatiana F. Peretolchina—scientific editing of the text of the manuscript; verification of the calculations.

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Солодовников Александр Геннадьевич, канд. мед. наук, доцент.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4564-2168>
asolodovnikov@statandocs.com

Морковин Евгений Игоревич, канд. мед. наук, доцент.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7119-3546>
emorkovin@statandocs.com

Куркин Денис Владимирович, д-р фарм. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1116-3425>
strannik986@mail.ru

Сорокина Екатерина Юрьевна.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3557-6224>
esorokina@statandocs.com

Перетолчина Татьяна Федоровна, д-р мед. наук, профессор.

estvmed2011@mail.ru

Alexander G. Solodovnikov, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4564-2168>
asolodovnikov@statandocs.com

Evgeny I. Morkovin, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7119-3546>
emorkovin@statandocs.com

Denis V. Kurkin, Dr. Sci. (Pharm.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1116-3425>
strannik986@mail.ru

Ekaterina Yu. Sorokina.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3557-6224>
esorokina@statandocs.com

Tatiana F. Peretolchina, Dr. Sci. (Med.), Professor.

estvmed2011@mail.ru

Статья поступила 27.10.2021

После доработки 23.03.2022

Принята к печати 07.06.2022

Online first 17.08.2022

Article was received 27 October 2021

Revised 23 March 2022

Accepted for publication 07 June 2022

Online first 17 August 2022



Р.А. Еникеева¹
Ю.В. Мирошниченко¹
В.Л. Багирова²
О.А. Попова

Контроль чистоты кислорода 93%, получаемого из воздуха методом короткоциклового безнагревной адсорбции

¹ Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, ул. Ак. Лебедева, д. 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

² 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

✉ Еникеева Римма Айратовна; rimmaspec@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Оценка качества кислорода 93%, получаемого из воздуха методом короткоциклового безнагревной адсорбции, является значимой научно-практической задачей и позволяет гарантировать безопасность оксигенотерапии при применении кислородных установок, реализующих данную технологию как в стационарных, так и в полевых условиях. Специалистами ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова представлены рекомендации по внедрению в деятельность медицинских организаций (подразделений) ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%», утвержденной приказом Минздрава России от 01.03.2022 № 126, опубликование которого завершает совместную работу, направленную на включение кислорода 93% в Государственный реестр лекарственных средств.

Ключевые слова: кислород медицинский; мобильная установка для получения, накопления (хранения), распределения кислорода медицинского газообразного 93%; МУПК-КБА-93; короткоциклового безнагревная адсорбция; фармакопейная статья ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%»; военная медицина

Для цитирования: Еникеева Р.А., Мирошниченко Ю.В., Багирова В.Л., Попова О.А. Контроль чистоты кислорода 93%, получаемого из воздуха методом короткоциклового безнагревной адсорбции. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(3):310–314. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-310-314>

R.A. Enikeeva¹
Yu.V. Miroshnichenko¹
V.L. Bagirova²
O.A. Popova

Control of the Purity of 93% Oxygen Obtained from the Air by Pressure Swing Adsorption

¹ S.M. Kirov Military Medical Academy,
6 Academician Lebedev St., Saint-Petersburg 194044, Russian Federation

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

✉ Rimma A. Enikeeva; rimmaspec@mail.ru

ABSTRACT

The assessment of the quality of 93% oxygen obtained from the air by pressure swing adsorption (PSA) presents an important challenge for applied research. Such an assessment provides a possibility to guarantee the safety of oxygen therapy using both stationary and portable PSA-based oxygen concentrators. In this article, the experts of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

and S.M. Kirov Military Medical Academy offer their recommendations for the implementation of monograph 2.2.0037.22 Oxygen (93 per cent) in civil healthcare organisations or military medical units. The publication of this monograph, which was approved by order No. 126 issued by the Ministry of Health of the Russian Federation on 01.03.2022, became the endpoint of the experts' cooperation aimed at the inclusion of 93% oxygen into the Russian State Register of Medicinal Products.

Key words: medical oxygen; portable unit for production, accumulation (storage), and distribution of gaseous medicinal oxygen, 93%; PUPO-PSA-93; pressure swing adsorption technology; Pharmacopoeia monograph 2.2.0037.22 Oxygen (93 per cent); military medicine

For citation: Enikeeva R.A., Miroshnichenko Yu.V., Bagirova V.L., Popova O.A. Control of the purity of 93% oxygen obtained from the air by pressure swing adsorption. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):310–314. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-310-314>

Некоторые патологии человека и определенные его состояния требуют оксигенотерапии и (или) респираторной поддержки. Сегодня в Российской Федерации необходимость оказания медицинской помощи при боевых травмах в экстренной и неотложной формах на передовых этапах эвакуации, а также при остром респираторном синдроме или системной гипоксии, вызванных различными причинами, в том числе вирусом SARS-CoV-2, выявила сложности в организации обеспечения жидким и газообразным кислородом медицинским (КМ) 99,5%, получаемым технологией низкотемпературной ректификации. В этой связи остро встал вопрос об использовании кислорода 93% (КМ93%), вырабатываемого установками короткоциклового безнагревной адсорбции (КБА), в качестве лекарственного средства. Для этого фармацевтическую субстанцию КМ93% необходимо было включить в Государственный реестр лекарственных средств (ЛС), а также разработать и подготовить соответствующую фармакопейную статью (ФС) для Государственной фармакопеи Российской Федерации.

В 2019 г. по заказу Министерства обороны Российской Федерации и при научном сопровождении Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова была создана мобильная установка для получения, накопления (хранения) и распределения КМ в войсковое и госпитальное звенья медицинской службы Вооруженных Сил Российской Федерации (МУПК-КБА-93). С ее помощью были наработаны опытные образцы КМ93%. Качество получаемого с помощью установки КМ93% было оценено химико-аналитическим центром «Арбитраж» Всероссийского научно-исследовательского института метрологии имени Д.И. Менделеева и ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

Специфика термодинамических закономерностей протекания процесса адсорбции, разнообразие применяемых адсорбентов, видов кислородных установок (станции, системы, генераторы, концентраторы), режимов их работы и особенности их эксплуатации указывали на широкую вариабельность состава получаемого КМ93% и, соответственно, необходимость валидации процесса, а также дальнейшей стандартизации и контроля качества получаемого газа в потоке, то есть в режиме онлайн.

На начальном этапе исследований был проведен контент-анализ требований к качеству КМ газообразного и жидкого, получаемого с помощью низкотемпературной ректификации с объемной кислорода долей 99,0–99,5% в РФ и за рубежом; показателей качества КМ газообразного, полученного по технологии КБА, на основании данных ведущих зарубежных фармакопей; методов испытаний показателей качества КМ газообразного в России и за рубежом.

Из результатов сравнительного анализа зарубежных фармакопей (табл. 1) следует, что требования к качеству КМ93% в Фармакопее США и Европейской фармакопее не гармонизированы. Так, в монографии Европейской фармакопеи регламентировано определение пяти примесей, а в Фармакопее США – двух, методы нормирования также различаются. В этой связи нами был проведен анализ состава КМ93%, полученного с помощью МУПК-КБА-93%, оценка физико-химических и токсикологических свойств каждой из возможных примесей. Полученные данные были сопоставлены с предельно допустимыми концентрациями газов в воздухе¹ (табл. 2).

¹ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 2 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания».

Таблица 1. Показатели качества кислорода медицинского 93%, полученного по технологии короткоциклового безнагревной адсорбции, по данным ведущих зарубежных фармакопей

Table 1. Quality attributes of 93% medicinal oxygen obtained by the pressure swing adsorption (PSA) technology, according to leading world pharmacopoeias

Наименование показателя качества <i>Quality attribute</i>	Значение показателя в соответствии с монографией зарубежной фармакопей <i>Quality attribute values as per the monographs of</i>	
	Европейская фармакопея ² <i>European Pharmacopoeia²</i>	Фармакопея США ³ <i>United States Pharmacopoeia³</i>
Объемная доля кислорода <i>Volume fraction of oxygen</i>	90,0–96,0 об. % 90.0–96.0 % v/v	90,0–96,0 об. % 90.0–96.0 % v/v
Диоксид углерода <i>Carbon dioxide</i>	≤300 ppm (0,03%)	≤0,03% (300 ppm)
Монооксид углерода <i>Carbon monoxide</i>	≤5 ppm (0,0005%)	≤0,001% (10 ppm)
Оксиды азота <i>Nitrogen oxides</i>	≤2 ppm суммарно / <i>in total</i> (0,0002%)	Не определяется <i>Not defined</i>
Диоксид серы <i>Sulfur dioxide</i>	≤0,1 мг/м ³ ≤0.1 mg/m ³	Не определяется <i>Not defined</i>
Масло <i>Oil</i>	≤0,1 мг/м ³ ≤0.1 mg/m ³	Не определяется <i>Not defined</i>
Вода <i>Water</i>	Пары воды ≤67 ppm <i>Water vapour ≤67 ppm</i>	Не определяется <i>Not defined</i>
Запах <i>Smell</i>	Не определяется <i>Not defined</i>	Не должен ощущаться <i>No appreciable odour is discernible</i>

Примечание. В скобках приведены данные в разных единицах измерения для возможности сопоставления.

Note. Parentheses enclose measurement unit options to facilitate comparison across the attributes.

Начиная с 1 марта 2022 г. все медицинские организации независимо от ведомственной принадлежности, эксплуатирующие адсорбционные установки, должны контролировать качество КМ93% по показателям, регламентированным ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%»: описание, подлинность, объемная доля кислорода, содержание примесей: углерода диоксида, углерода монооксида, азота монооксида и азота диоксида (нитрозных газов), серы диоксида, водяных паров и масла.

Для лабораторной практики крайне важно, что в ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%» определение каждого показателя качества предложено проводить альтернативными методами. Так, объемная доля (концентрация) кислорода может быть определена двумя методами: классическим химическим (поглотительный метод с медной стружкой с помощью измерительного аппарата типа АК-М1) и современным парамагнитным, избирательным по отношению к кислороду и с высокими валидными показателями, а примеси оксидов углерода могут быть определены методами ИК-спектроскопии, с помощью индикаторной трубки, или поглотительным методом с раствором бария гидроксида в склянках для промывания газов и т.п.

С учетом специфики адсорбции на цеолитах и правил надлежащих фармацевтических практик была проведена валидация процесса получения кислорода 93% из воздуха методом КБА в условиях наихудшего случая (подача в установку воздуха, загрязненного составами, сходными с дымовыми и пороховыми газами). Результаты показали, что в случае подачи в установку загрязненного воздуха молекулярные сита цеолита быстро достигают максимальных значений адсорбционной емкости и уровень маркерных примесей следует контролировать в режиме реального времени. Превышение нормируемых значений следует расценивать как сигнал к остановке работы установки и, возможно, необходимости ее технического обслуживания (замены цеолита). Наиболее показательными в этом отношении являются показатели содержания углерода монооксида и углерода диоксида, содержание которых регламентировано ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%», и их уровень целесообразно мониторировать в режиме реального времени: углерода монооксида — «не более 0,0005% (5 ppm)», углерода диоксида — «не более 0,003% (300 ppm)».

Для решения вопросов, связанных с обращением газов медицинских, следует учитывать тот факт,

² Monograph 04/2011:2455 Oxygen (93 percent). European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2019.

³ Oxygen 93 Percent. United States Pharmacopoeia. USP 43 — NF 38. Rockville, MD; 2020.

Таблица 2. Показатели качества кислорода медицинского 93%, полученного по технологии короткоциклового безнагревной адсорбции

Table 2. Quality attributes of 93% medicinal oxygen obtained by the pressure swing adsorption (PSA) technology

Наименование компонента <i>Component name</i>	Предельно допустимые концентрации веществ в воздухе, мг/м ³ <i>Maximum permissible concentration in the air, mg/m³</i>	Результаты оценки качества КМ 93% <i>Results of 93% medicinal oxygen quality evaluation</i>	Нормируемые значения по ФС 2.2.0037 «Кислород 93%» <i>Requirements of monograph 2.2.0037.22 Oxygen (93 per cent)</i>
Кислород <i>Oxygen</i>	Не применимо <i>Not applicable</i>	93,7%	90,0–96,0%
Углерода диоксид <i>Carbon dioxide</i>	27000/9000* (14751/4917 ppm)	0,29 ppm (0,529 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)	≤0,03% (300 ppm; 547,8 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)
Углерода монооксид <i>Carbon monoxide</i>	20 (17,169 ppm)	<0,1 ppm (0,116 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)	≤0,0005% (5 ppm; 5,809 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)
Серы диоксид <i>Sulfur dioxide</i>	10 (3,754 ppm)	<0,05 ppm (0,133 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)	≤0,0001% (1 ppm; 2,657 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)
Азота оксиды <i>Nitrogen oxides</i>	3 (2,404 ppm)	<1 ppm (1,245 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)	≤0,0002% (2 ppm; 2,489 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>)
Вода <i>Water</i>	Не нормируется <i>Not defined</i>	0,0055% / 0,0062%**	≤0,0067%
Азот <i>Nitrogen</i>	Не нормируется <i>Not defined</i>	0,0377% / 0,0068%**	Не нормируется <i>Not defined</i>
Аргон <i>Argon</i>	Не нормируется <i>Not defined</i>	4,83±0,24% / 4,76±0,24%**	Не нормируется <i>Not defined</i>
Масло <i>Oil</i>	Не нормируется <i>Not defined</i>	Отсутствует <i>Not detected</i>	≤0,1 мг/м ³ / <i>mg/m³</i>

Примечание. В скобках приведены данные в разных единицах измерения для возможности сопоставления.

* В соответствии с СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» значение предельно допустимой концентрации углерода диоксида в рабочей зоне приведено для разовой и среднесменной концентрации соответственно, мг/м³.

** Приведены результаты по двум экспериментам.

Note. Parentheses enclose measurement unit options to facilitate comparison across the attributes.

* The maximum permissible concentrations of carbon dioxide at the workplace are given as single and full-shift time-weighted exposure limits, according to Sanitary rules and regulations No. SanPiN 1.2.3685-21 Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and/or harmlessness of environmental factors for humans, in mg/m³.

** The results are given for two experiments.

что готовая газовая смесь формируется в наркозно-дыхательной аппаратуре, и концентрация компонентов подбирается индивидуально с учетом физиологических особенностей газообмена человека, специфики патологического процесса, длительности кислородной терапии, парциального давления кислорода и т.д. КМ93% применяется для дальнейшего разбавления до 40–60% иными медицинскими газами или воздухом. Таким образом, содержание всех возможных примесей кратно уменьшается.

Приведенные нами комментарии к ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%» доказывают целесообразность дальнейших исследований, направленных на совершенствование данной ФС в частности и стандартизации газов медицинских в целом. На сегодня в России разработаны проекты общих фармакопейных статей (ОФС) по определению примесей в медицинских газах: углерода диоксида и углерода оксида, азота оксида и азота диоксида, серы диоксида,

кислорода. Введены в действие и совершенствуются ОФС.1.4.1.0023.18 «Газы медицинские» и ОФС.1.2.3.28.20 «Количественное определение кислорода в лекарственных средствах на основе кислорода медицинского». Важно, что ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%» коррелирует с проектами данных ОФС. В перспективе планируется внесение изменений в ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%» в части включения методов физико-химического анализа, которые позволят воспроизводить методику с помощью многоканального газоанализатора внутри установки и контролировать качество КМ93% в режиме онлайн.

В настоящее время уровень информированности участников системы обращения лекарственных средств в отношении требований к качеству КМ93%, получаемого с помощью адсорбционных установок, крайне низкий. Внедрение в деятельность медицинских организаций (подразделений) ФС 2.2.0037.22 «Кислород 93%» позволит минимизировать риски при закупке нового

кислородного оборудования или организовать работу по «дооснащению» имеющегося оборудования газораспределительной сети газоаналитическим комплексом, наладить соответствующий документооборот, а также повысить уровень компетентности фармацевтических работников медицинских организаций в вопросах контроля качества КМ93%, получаемого из воздуха методом короткоциклового безнагревной адсорбции.

Таким образом, решена значимая научно-практическая задача по оценке качества кислорода 93%, получаемого из воздуха методом короткоциклового безнагревной адсорбции, которая позволяет гарантировать безопасность оксигенотерапии при применении кислородных установок, реализующих данную технологию как в стационарных, так и в полевых условиях.

Вклад авторов. Р.А. Еникеева — сбор, анализ данных, написание текста, интерпретация результатов исследования, целостность всех частей статьи; Ю.В. Мирошник — дизайн исследования, критический анализ и корректировка текста, решение вопросов достоверности представленных данных; В.Л. Багирова — существенный вклад в концепцию изложения материала, редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; О.А. Попова — участие в проведении экспериментальной части исследования, оценка качества кислорода, редактирование текста, надлежащее оформление.

Благодарности. Работы по созданию опытного образца мобильной установки для получения, накопления (хранения), распределения кислорода медицинского газообразного 93% на этапах медицинской эвакуации и военно-медицинских организациях, результаты оценки чистоты которого были представлены в данной статье, выполнялись в рамках опытно-конструкторской работы «Разработка технических средств обеспечения кислородом медицинским войсковым и госпитальным звеньев медицинской службы ВС РФ» в соответствии с Государственным контрактом от 09.11.2016 № 1619187109242452248001205 для нужд Министерства обороны Российской Федерации. Авторы выражают благодарность главному исполнителю опытно-конструкторских работ — ООО «НПО «ПОЛЮС» (г. Воронеж).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Rimma A. Enikeeva—collection and analysis of data, writing of the text, interpretation of the study results, responsibility for the integrity of all parts of the article; Yuri V. Miroshnichenko—elaboration of the study design, critical analysis and correction of the text, solution of issues related to data reliability; Valeria L. Bagirova—substantial contribution to the concept of material presentation, editing of the text, approval of the final version of the publication; Olga A. Popova—participation in the experimental part of the study, assessment of the quality of oxygen, editing and proper formatting of the text.

Acknowledgements. This article presents purity assessment results for the oxygen obtained using a prototype portable unit for the production, accumulation (storage), and distribution of gaseous medicinal oxygen, 93%, intended for medical evacuation and military medical organisations that has been developed for the Ministry of Defense of the Russian Federation as part of the experimental design research project Development of technical means for providing oxygen to field and hospital medical units of the medical service of the Armed Forces of the Russian Federation in accordance with State Contract No. 1619187109242452248001205 of 09.11.2016. The authors express their gratitude to the research and production association POLYUS LLC (Voronezh).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Еникеева Римма Айратовна, канд. фарм. наук, доцент.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6058-7187>

rimmaspec@mail.ru

Мирошник Юрий Владимирович, д-р фарм. наук, профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1630-3992>

miryv61@gmail.com

Багирова Валерия Леонидовна, д-р фарм. наук, профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0379-6158>

bagirova@expmed.ru

Попова Ольга Анатольевна, канд. фарм. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2933-5632>

Rimma A. Enikeeva, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6058-7187>

rimmaspec@mail.ru

Yuri V. Miroshnichenko, Dr. Sci. (Pharm.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1630-3992>

miryv61@gmail.com

Valeria L. Bagirova, Dr. Sci. (Pharm.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0379-6158>

bagirova@expmed.ru

Olga A. Popova, Cand. Sci. (Pharm.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2933-5632>

Статья поступила 02.08.2022

После доработки 31.08.2022

Принята к печати 31.08.2022

Article was received 2 August 2022

Revised 31 August 2022

Accepted for publication 31 August 2022



О.В. Шредер 
Н.Д. Бунятян 
Д.В. Горячев 
Р.Д. Сябаев 
Г.Н. Енгальчева 
А.Д. Кузнецова 
В.В. Косенко 

Математическое прогнозирование эффективности лекарственных средств в доклинических исследованиях

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

✉ Шредер Ольга Васильевна; shredrov@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Проведение доклинических исследований лекарственных средств в соответствии с рекомендациями отечественных и зарубежных регуляторных органов в целом позволяет минимизировать риски выявления серьезных нежелательных явлений у пациентов на этапе клинических исследований, однако с учетом современных аналитических тенденций разработка новых прогностических подходов к повышению надежности и точности оценок безопасности остается актуальной. **Цель работы:** разработка и апробация методических подходов к комплексной оценке на доклиническом этапе исследований ключевых факторов риска и математическому прогнозированию пользы и риска применения лекарственных средств у человека. **Материалы и методы:** в исследовании были использованы информационно-аналитический и статистические методы. Материалами послужили сводные данные доклинического изучения протекторных свойств фабомотизола, отечественные и зарубежные нормативные документы, содержащие описание принципов и методов доказательной медицины, в частности байесовской статистики и прогностических методов исследования. **Результаты:** представлены математические подходы подтверждения статистической достоверности и прогностической значимости результатов доклинической оценки безопасности лекарственных средств на основе байесовской статистики, в частности коэффициента весомости доказательств (WoE), информационной ценности (IV), нормализованной плотности (ND). В зависимости от объема оцениваемых данных коэффициент WoE может применяться как для определения весомости доказательств отдельных показателей, так и совокупности показателей отдельных тестов или целой батареи тестов, оцениваемых в исследованиях общетоксического действия, репродуктивной токсичности, генотоксичности и других исследований, характеризующих состояние жизненно важных органов при оценке безопасности лекарственных средств. **Выводы:** предложенная методика позволяет оценить весь объем информации, полученный в доклинических исследованиях лекарственных препаратов. Критерии в виде коэффициентов WoE и IV в рамках доклинической оценки безопасности лекарственных средств могут использоваться для оценки пользы и риска применения лекарственных средств, включая препараты, разрабатываемые непосредственно для беременных женщин и детей.

Ключевые слова: весомость доказательств; информационная ценность; математическое прогнозирование; доклинические исследования; фабомотизол

Для цитирования: Шредер О.В., Бунятян Н.Д., Горячев Д.В., Сябаев Р.Д., Енгальчева Г.Н., Кузнецова А.Д., Косенко В.В. Математическое прогнозирование эффективности лекарственных средств в доклинических исследованиях. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(3):315–330. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-315-330>

O.V. Shreder 
N.D. Bunyatyan 
D.V. Goryachev 
R.D. Syubaev 
G.N. Engalycheva 
A.D. Kuznetsova 
V.V. Kosenko 

Mathematical Prediction of the Efficacy of Medicinal Products in Preclinical Studies

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

✉ Olga V. Shreder; shrederov@expmed.ru

ABSTRACT

Generally, preclinical studies of medicines conducted in accordance with national and international regulatory recommendations allow minimising the risks of detecting serious adverse events in patients at the stage of clinical trials. Nevertheless, current analytical trends motivate the development of new prognostic approaches aimed at improving the reliability and accuracy of safety assessments. **The aim of this study** was to develop and test methodological approaches to comprehensive preclinical assessment of the key risk factors associated with the use of medicinal products in humans and to mathematical prediction of the corresponding benefits and risks. **Materials and methods:** the study combined information analysis and statistics; it used consolidated preclinical data on the protective properties of fabomotizole and national and international regulatory documents describing the principles and methods of evidence-based medicine, in particular, Bayesian statistics and prognostic research methods. **Results:** The article presents mathematical approaches developed to confirm the statistical reliability and prognostic significance of the results of preclinical assessment of the safety of medicines, based on Bayesian statistics, in particular, the concepts of weight of evidence (WoE), information value (IV), and normalised density (ND). Depending on the volume of the evaluated data, the WoE can be used to determine the weight of evidence of single variables, as well as entire groups of variables from individual tests or whole test panels, considered in the studies of general toxic effects, reproductive toxicity, genotoxicity and other studies characterising the condition of vital organs when evaluating the safety of medicines. **Conclusions:** The developed methodology allows evaluating the entire volume of information obtained in preclinical studies of medicinal products. The criteria in the form of WoE and IV in preclinical safety assessment of medicines can be used to estimate the benefits and risks of using medicines, including the products developed specifically for children and pregnant women.

Key words: weight of evidence; information value; mathematical prediction; preclinical studies; fabomotizole

For citation: Shreder O.V., Bunyatyan N.D., Goryachev D.V., Syubaev R.D., Engalycheva G.N., Kuznetsova A.D., Kosenko V.V. Mathematical prediction of the efficacy of medicinal products in preclinical studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulatorynye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):315–330. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-315-330>

Введение

Современные подходы к управлению рисками здоровью базируются на обеспечении контроля безопасности на всех этапах фармацевтической разработки лекарственных средств и соблюдении главного принципа — превышение пользы над рисками назначения фармакотерапии.

В этой связи неотъемлемой частью фармацевтической разработки лекарственных средств являются доклинические исследования (фармакологические, общетоксикологические, токсико-

кинетические, фармакокинетические исследования, в том числе изучение генотоксичности и репродуктивной токсичности у животных). Выводы о безопасности применения лекарственного средства по результатам доклинических исследований осуществляются в соответствии с требованиями отечественных и зарубежных нормативных документов, из которых основными являются ГОСТ Р 56701-2015, ГОСТ Р 57689-2017, Руководство Евразийской экономической комиссии

№ 202, ICH M3(R2)¹. Согласно этим документам, заключительные выводы о безопасности исследуемых лекарственных средств прежде всего строятся на оценке их фармакологического воздействия на основные системы жизненно важных органов, в частности сердечно-сосудистую, центральную нервную, дыхательную системы и желудочно-кишечный тракт, а также другие органы в соответствии с их значимостью для функций организма человека.

Вышеуказанные требования и рекомендации ведущих регуляторов фармацевтических рынков сводятся к единым подходам к контролю безопасности применения препаратов на основе принципов лабораторной практики, включающих применение широкого спектра методов тестирования и критериев оценки факторов риска (данных о побочных эффектах, степени влияния на основные системы жизненно важных органов). Значительно меньше в фармацевтической регуляторной практике освещены вопросы экстраполяции на человека данных, выявленных при изучении животных моделей, фармакологических эффектов и связанных с этими эффектами способов математического прогнозирования пользы и риска применения лекарственных средств [1].

В этом отношении может быть эффективным использование на этапе доклинической разработки лекарственных средств математических моделей на основе байесовских оценок, широко применяющихся сегодня в доказательной медицине. Адаптация и применение методов доказательной медицины в доклинических исследованиях, в частности вероятностной статистики, необходима для получения точных и достоверных сведений о пользе и риске фармакологических эффектов и научно обоснованного принятия решения о целесообразности дальнейшей разработки лекарственного средства с участием человеческой популяции. Кроме того, такой подход позволит на этапе доклинической разработки определять важные для планирования клинических исследований критерии выбора первичных конечных точек

эффективности, предполагать риски в плане оценок безопасности и на основе математически подтвержденных у животных фармакологических эффектов, более тщательно проводить отбор показаний для применения изучаемого лекарственного средства и режимов дозирования для различных популяций пациентов. Решение этих вопросов представляет собой актуальную проблему, в частности относительно выбора методов и критериев прогностической оценки, позволяющих минимизировать риски непредвиденных фармакологических эффектов при планировании клинических исследований с участием человека и особенно в случаях, когда лекарственное средство разрабатывается для применения в особых группах пациентов — беременных женщин и детей².

Цель работы — разработка и апробация методических подходов к комплексной оценке на доклиническом этапе исследований ключевых факторов риска и математическому прогнозированию пользы и риска применения лекарственных средств у человека.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели разработан научно-методический подход к комплексной оценке и прогнозированию риска применения лекарственных средств на основе байесовской статистики, ассоциированной с методами доказательной медицины, для подтверждения априорной и апостериорной вероятностей гипотез о наступлении положительных или отрицательных событий [2, 3]:

$$P(A|B) = P(B|A) \times P(A) / P(B), \quad (1)$$

где A и B — события, $P(A|B)$ — условная вероятность того, что событие A произойдет относительно события B , с учетом того, что уже произошло событие B относительно события A ($P(B|A)$, которое имеет то же значение, что и отношение A и B , но наоборот) и $P(A)$, а также $P(B)$ — предельные вероятности события A и события B соответственно.

¹ ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств.

ГОСТ Р 57689-2017. Лекарственные средства для медицинского применения. Выявление токсического действия на репродуктивную функцию и мужскую репродуктивную функцию.

Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

ICH M3(R2) Guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, 2020.

² Проект Методических рекомендаций «Применение математического моделирования в доклинических исследованиях в целях проведения клинических исследований с участием особых популяций», выполненный в рамках рабочей программы НИР ФГБУ «НЦЭСМП» по этапу № 2 НИР «Разработка руководств по проведению научной экспертизы новых и зарегистрированных лекарственных препаратов для медицинского применения».

Прогнозирование осуществлялось на базе модификации описанной модели Байеса и представлении в виде коэффициентов весомости доказательств (WoE) и информационной ценности (IV) данных о фармакологических эффектах, наблюдаемых у животных моделей в доклинических исследованиях в концепции оценки отношения рисков [2–4].

При разработке подхода для расчета коэффициентов весомости доказательств (WoE) и информационной ценности (IV) данных о фармакологических эффектах, наблюдаемых у животных моделей в доклинических исследованиях, с целью их экстраполяции и реализации прогнозных решений в клинические исследования с участием человека учитывали схемы, применяемые в моделировании кредитного риска в проектах маркетинговой аналитики [4].

Математическое выражение, определяющее коэффициент WoE, имеет вид:

$$\text{WoE} = \ln \left(\frac{\% \text{ положительных событий}}{\% \text{ отрицательных событий}} \right). \quad (2)$$

Для достоверности оценки весомости доказательств дополнительно определяли связь между нормализованной плотностью распределения вариационного ряда данных (ND) и весовым коэффициентом, то есть отношением частоты W^+ (доля положительных весов отдельного теста) (частная оценка) к суммарной доле положительных весов по батарее тестов (комплексная оценка):

$$\text{ND} = \frac{\text{доля положительных весов (частная оценка)}}{\text{суммарная доля положительных весов (комплексная оценка)}}. \quad (3)$$

Стандартизацию данных, то есть пропорциональное масштабирование данных для снятия ограничений между полученными исходными (абсолютными) значениями и результатом их логарифмического преобразования для облегчения взвешивания и сравнения различных индексных данных осуществляли в соответствии с выражением [2–4]:

$$\text{ND} = \exp(W^+). \quad (4)$$

Математическое выражение, определяющее информационную ценность (IV), имеет вид [2–4]:

$$\text{IV} = \sum (\% \text{ положительных событий} - \% \text{ отрицательных событий}) \times \text{WoE}. \quad (5)$$

Показатель IV предназначен для выбора важных переменных в прогностической модели и помогает ранжировать переменные на основе их важности относительно фармакологических эффектов.

Апробацию научно-методического подхода для частной и комплексной оценки фармакологического воздействия на животных и прогнозирования пользы и риска применения лекарственных средств у человека, проводили с использованием сводных данных оригинальных исследований протекторных и корригирующих свойств фабомотизола, применяемого на фоне экспериментального моделирования тератогенеза [5–8]. Спектр показателей для оценки и прогноза фармакологических эффектов фабомотизола включал стандартный набор характеристик, используемых в токсикологических исследованиях и подробно описанных в отечественных и зарубежных методических документах³. Результаты моделирования экспериментального тератогенеза и фармакологической коррекции аномалий развития получены в лабораторных условиях с использованием белых беспородных крыс [5–9].

Результаты и обсуждение

Методический подход к прогнозированию эффективности и безопасности применения лекарственных средств в человеческой популяции разрабатывался на базе модификации исходной модели Байеса в концепции оценки отношения рисков с представлением результатов в виде коэффициентов WoE и IV фармакологических эффектов, установленных у животных моделей в доклинических исследованиях.

Исходная модель Байеса, позволяющая рассчитывать вероятность события при условии, что произошло другое статистически взаимосвязанное с ним событие, имеет вид уравнения (1). При условии, что для событий A и B $P(B) \neq 0$ знание о событии B влияет на степень

³ ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств.

ГОСТ Р 57689-2017. Лекарственные средства для медицинского применения. Выявление токсического действия на репродуктивную функцию и мужскую репродуктивную функцию.

Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

ICH M3(R2) Guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, 2020.

уверенности в том, что произойдет событие A , когда известен знаменатель математического выражения и есть вероятность наступления события B , при этом необходимо оценить вероятность наступления события A , апостериорные вероятности пропорциональны числителю в соответствии с выражением $P(A|B) \propto P(A) P(B|A)$ (пропорциональность A для данного B). Таким образом, апостериорная вероятность⁴ пропорциональна априорной вероятности⁵ наступления события [2, 3].

Модификация этой модели в концепции оценки и прогнозирования рисков применения лекарственных средств в человеческой популяции (априорной вероятности) на базе знания о фармакологических эффектах, установленных у животных моделей (апостериорной вероятности), может быть представлена в виде коэффициентов весомости доказательств (WoE) и информационной ценности (IV). Таким образом, модификация исходной модели Байеса имеет вид математического выражения, подходящего для прогнозирования рисков применения лекарственных средств, и может быть представлена в виде целевого показателя WoE в соответствии с (2).

В процессе теоретической проработки и практической апробации предложенного метода было показано, что в зависимости от объема оцениваемых данных коэффициент WoE может

применяться для определения весомости доказательств как отдельных показателей тестов (глюкоза, мочевины, креатинин, данные электрокардиограммы, показатели артериального давления и т.д.), так и отдельных тестов (гематологические, биохимические, физиологические и другие исследования) или целой батареи тестов, включающих большой перечень параметров и состояний, оцениваемых в целостных исследованиях общетоксического действия, репродуктивной токсичности, генотоксичности и других исследований безопасности лекарственных средств².

Для повышения достоверности оценки весомости доказательств дополнительно определяют связь между нормализованной плотностью распределения вариационного ряда данных и весовым коэффициентом по формуле (3). Стандартизацию данных для облегчения сравнения индексов (табл. 1) осуществляли в соответствии с выражением (4).

Математическая модель (5) может применяться в исследованиях прогнозирования вероятности появления каких-либо эффектов/событий в будущем на основе анализа имеющихся данных.

Определение и интерпретацию показателя «Информационная ценность», рассчитанного по формуле (3), осуществляют на основе табличных значений (табл. 2).

Таблица 1. Связь между нормализованной плотностью и весовым коэффициентом

Table 1. The relationship between the normalised density and the weight

Интерпретация <i>Interpretation</i>	$(W^*)^{**}$	$ND = \exp(W^*)$
Положительный <i>Positive</i>	>0	>1
Низкая чувствительность для оценивания* <i>Low sensitivity for evaluation*</i>	0	1
Отрицательный <i>Negative</i>	<0	$0-1$

* $ND = 1$ соответствует нулевому весу в логарифмически преобразованном виде. В случае, когда весовой показатель имеет низкое значение ($W^* = 0$), это указывает на низкую чувствительность оценивания и может дать ложный результат.

** В соответствии с правилами, касающимися информационной ценности (IV), значения абсолютных весов от 0 до 0,5 являются малопредсказуемыми; значения от 0,5 до 1 являются умеренно предсказуемыми; значения от 1 до 2 являются строго предсказуемыми, а значения больше 2 — чрезвычайно предсказуемыми.

* $ND = 1$ corresponds to zero weight in the logarithmically transformed form. A low value of the weight ($W^* = 0$) indicates low sensitivity of the assessment and may give a false result.

** In accordance with the rules concerning the information value (IV), the absolute weights ranging from 0 to 0.5 are poorly predictable; the absolute weights ranging from 0.5 to 1 are moderately predictable; the absolute weights ranging from 1 to 2 are strictly predictable; and the absolute weights greater than 2 are extremely predictable.

⁴ Апостериорная (послеопытная) вероятность — условная вероятность наступления события при условии того, что известны данные, приобретенные опытным путем, то есть полученные после пилотного исследования.

⁵ Априорная (доопытная) вероятность — теоретическая основа для ожидания (прогнозирования) вероятности наступления события, которое может быть ограничено небольшим количеством результатов, полученных в пилотном исследовании, и является степенью уверенности (шансом) воспроизведения тех или иных событий до проведения эксперимента.

Таблица 2. Эмпирическое правило для определения переменных на основе их информационной ценности (IV)

Table 2. The rule of thumb for determining variables based on their information value (IV)

Информационная ценность (IV) <i>Information value (IV)</i>	Прогностическая способность <i>Predictive power</i>
Менее 0,02 <i>Lower than 0.02</i>	Непригодно для прогнозирования (непредсказуемо) <i>Impractical predictor (useless for prediction)</i>
От 0,02 до 0,1 <i>From 0.02 to 0.1</i>	Слабая прогностическая способность <i>Weak predictor</i>
От 0,1 до 0,3 <i>From 0.1 to 0.3</i>	Средняя прогностическая способность <i>Medium predictor</i>
От 0,3 до 0,5 <i>From 0.3 to 0.5</i>	Сильная прогностическая способность <i>Strong predictor</i>
Более 0,5 <i>Higher than 0.5</i>	Сомнительная прогностическая способность <i>Questionable predictor</i>

Алгоритм оценки соотношения пользы и риска применения лекарственных средств включает пять основных этапов:

- 1) создание цифровой базы данных (двоичные показатели наблюдений – представление таблицы значений оцениваемых переменных в бинарном виде);
- 2) получение прогнозных свидетельств наличия/отсутствия эффекта (события) для конкретного теста с перечнем отдельных показателей или реакций, тестовых показателей или батареи тестов на основе математической модели исследования (гипотезы);
- 3) расчет весов для каждого прогнозного параметра отдельных тестов (частная оценка WoE и IV);
- 4) объединение весомых доказательств отдельных тестов/батареи тестов для прогнозирования фармакологического потенциала/безопасности лекарственных средств (комплексная оценка WoE и IV);
- 5) интерпретация результатов математического анализа WoE и IV для оценки соотношения «польза–риск».

Таким образом, теоретической основой разработки метода прогнозирования эффективности лекарственных средств с целью надежной оценки пользы и риска их применения для человеческой популяции явилась концепция байесовской интерпретации вероятности,

отражающей степень доверия к апостериорному событию, с допущением изменчивости этого события и с оценкой, основанной на частотном варианте представления исследуемых переменных. В этом контексте степень доверия базируется на апостериорных знаниях о событии, в данном случае об эффектах лекарственных средств, полученных в результате экспериментов в доклинических исследованиях.

Как известно, доклиническая оценка совокупных фармакологических эффектов, наблюдаемых у животных моделей, осуществляется на основе рекомендуемых для изучения параметров, характеризующих состояние жизненно важных органов, показателей генотоксичности, эмбрио- и фетотоксичности (комплексная оценка) для достоверного подтверждения безопасности и целесообразности применения исследуемого лекарственного средства для человеческой популяции. Следует отметить, что под батареями тестов понимается перечень тест-систем, включающих перечень параметров, специфических для разных методов и подходов исследования жизненно важных органов, показателей генотоксичности, эмбрио- и фетотоксичности в соответствии с описанными в рекомендациях⁶.

Результаты комплексной оценки WoE и IV по результатам исследования токсического действия лекарственного средства на основные системы

⁶ ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств.

ГОСТ Р 57689-2017. Лекарственные средства для медицинского применения. Выявление токсического действия на репродуктивную функцию и мужскую репродуктивную функцию.

Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 N 202. Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов.

ICH M3(R2) Guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, 2020.

жизненно важных органов представлены в таблице 3, а также в графической форме (рис. 1 и 2).

Пиковые значения комплексной оценки WoE были установлены для показателей центральной нервной системы (1,66), мочевыделительной системы (1,60), биохимических параметров (1,58) и показателей гемостаза (2,04). Пиковые значения коэффициента IV были установлены

только для биохимических показателей (0,81) и показателей гемостаза (0,78), что указывает на высокую степень информативной значимости наблюдаемого фармакологического действия препарата на эти параметры и связанные с ними органы и функции организма (табл. 2).

В результате совокупного анализа WoE и IV на основе графической оценки пиковых

Таблица 3. Комплексная оценка WoE и IV по результатам исследования токсического действия лекарственного средства на основные системы жизненно важных органов

Table 3. A comprehensive assessment of WoE and IV based on the results of studying toxic effects of the medicine on vital organ systems

Батарея тестов при изучении влияния лекарственного средства на жизненно важные органы и функции организма <i>Test panel used to study the effects of the test medicine on vital organs and body functions</i>	Количество животных, ед. <i>Number of animals</i>	Положительные события/эффекты, ед. <i>Positive events/effects</i>	Отрицательные события/эффекты, ед. <i>Negative events/effects</i>	Положительные события/эффекты, % <i>Positive events/effects, %</i>	Отрицательные события/эффекты, % <i>Negative events/effects, %</i>	Коэффициент WoE <i>Weight of evidence WoE</i>	Информационная ценность (IV) <i>Information value (IV)</i>	Нормализованная плотность (ND) <i>Normalised density (ND)</i>
Центральная нервная система <i>Central nervous system</i>	112	42	8	37,5	7,1	1,65	0,113	0,84
Сердечно-сосудистая система <i>Cardiovascular system</i>	112	50	29	44,6	25,9	0,54	0,215	1,00
Дыхательная система <i>Respiratory system</i>	112	53	20	47,3	17,9	0,97	0,356	1,06
Мочевыделительная система <i>Urinary system</i>	164	69	14	42,1	8,5	1,59	0,156	0,94
Биохимические исследования крови <i>Biochemistry profile</i>	112	68	14	60,7	12,5	1,58	0,455	1,36
Гематологические исследования <i>Haematology profile</i>	112	53	20	47,3	17,9	0,97	0,356	1,06
Система гемостаза <i>Haemostasis system</i>	78	46	6	58,9	7,7	2,04	0,306	1,32
Пищеварительная система <i>Digestive system</i>	114	27	10	23,7	8,8	0,99	0,097	0,53
Гистологическое исследование органов и систем (патоморфология) <i>Histological examination of organs and systems (pathomorphology)</i>	164	74	17	45,1	10,4	1,47	0,149	1,01
Комплексная оценка WoE и IV <i>Comprehensive assessment of the WoEs and IVs</i>	1080	482	138	44,6	12,8	1,25	2,20	9,13

Примечание. Здесь и в таблицах ниже расчеты WoE и IV проводились по результатам пяти независимых исследований экспериментальных моделей тератогенеза с использованием фармакологического корректора аномалий развития — препарата фабомотизол [5–9].

Note. Here and in the tables below, the WoE and IV calculations were based on the results of five independent studies in experimental teratogenicity models using fabomotizole as a pharmacological corrector of developmental abnormalities [5–9].

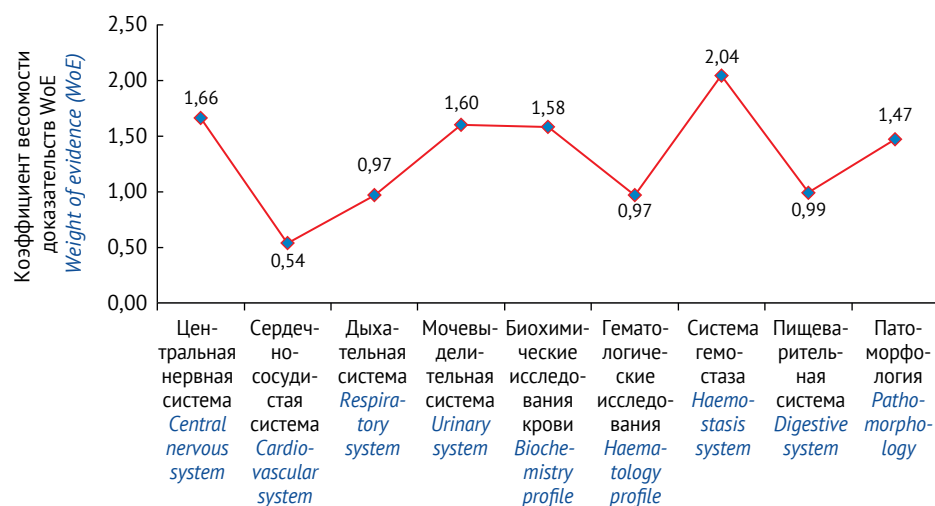


Рис. 1. Комплексная оценка весомости доказательств (WoE) значимости фармакологических эффектов препарата на основе анализа положительных и отрицательных изменений основных параметров системы жизненно важных органов

Fig. 1. A comprehensive assessment of the weight of evidence (WoE) for the significance of the medicinal product's pharmacological effects, based on the analysis of positive and negative changes in the main parameters of the vital organ systems

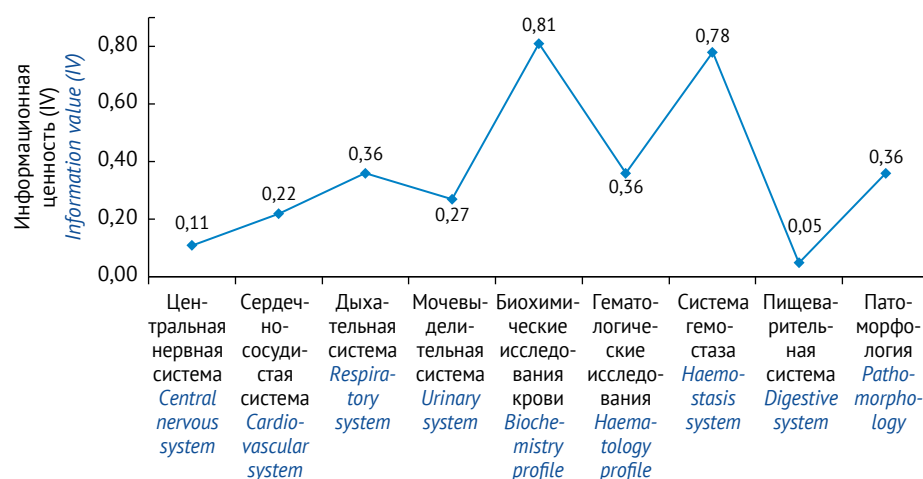


Рис. 2. Комплексная оценка информационной ценности (IV) наблюдаемых фармакологических эффектов препарата на основе анализа изменений основных параметров системы жизненно важных органов

Fig. 2. A comprehensive assessment of the information value (IV) of the observed pharmacological effects of the medicinal product, based on the analysis of changes in the main parameters of the vital organ systems

значений WoE и табличных данных IV (комплексный подход к оценке отдельных тест-систем) установлено, что препарат значимо влияет на биохимический профиль и систему гемостаза. В этом случае целесообразно провести аналогичный анализ для отдельных показателей, характеризующих биохимический и коагулологический профиль. В целом при необходимости уточнения/подтверждения наблюдаемых значимых эффектов дополнительно анализируют коэффициенты WoE и IV для отдельных показателей тестов (глюкоза, мочевины, креатинин и т.д.) или отдельных тестов (гематологические,

биохимические, физиологические и другие исследования).

Дополнительный анализ частной оценки WoE и IV в этом случае необходимо провести для системы гемостаза и биохимического состава крови.

В результате частной оценки WoE и IV (рис. 3–6) была установлена весомость фармакологического действия на биохимический профиль, в частности на изменение концентрации глюкозы (WoE (1,95), IV (0,34)), общего белка (WoE (2,71), IV (0,56)) и мочевины (WoE (2,40), IV (0,35)),

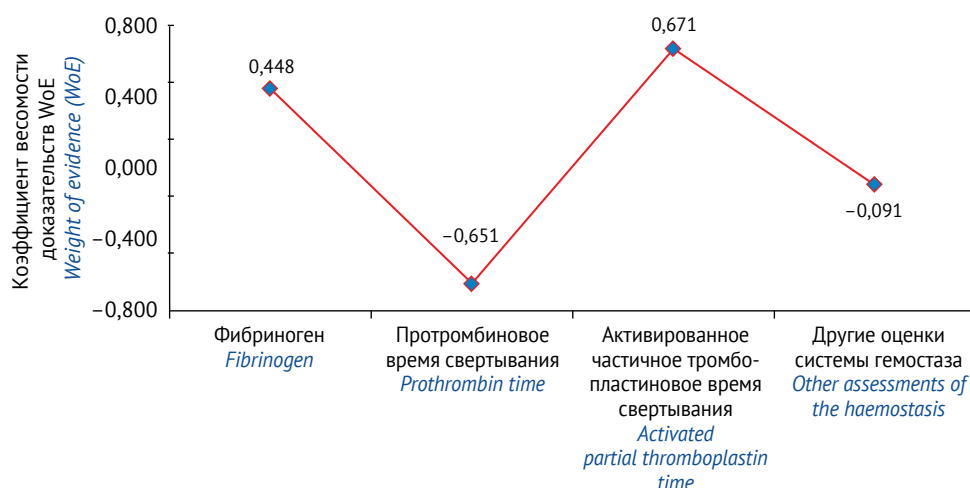


Рис. 3. Частная оценка весомости доказательств (WoE) значимости фармакологических эффектов препарата на основе анализа положительных и отрицательных изменений основных параметров системы гемостаза

Fig. 3. An individual assessment of the weight of evidence (WoE) for the significance of the medicinal product's pharmacological effects, based on the analysis of positive and negative changes in the main parameters of the haemostasis system

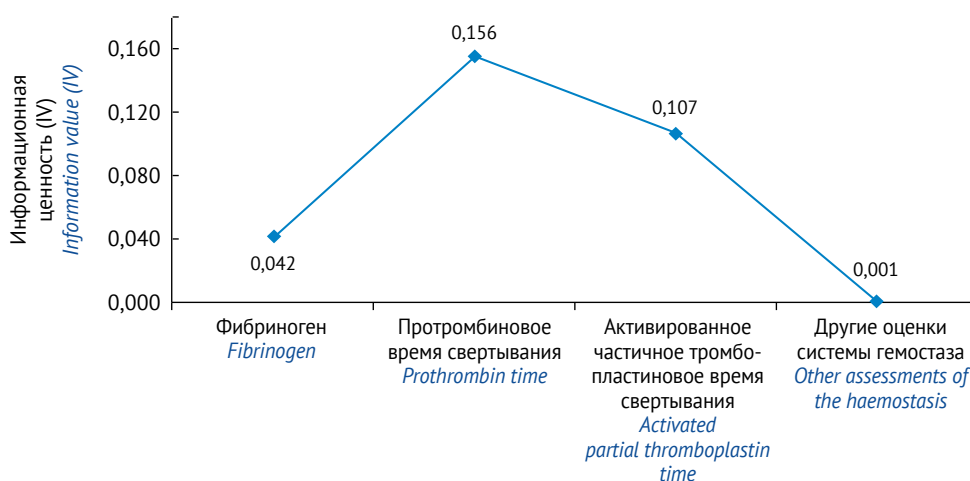


Рис. 4. Частная оценка информационной ценности (IV) наблюдаемых фармакологических эффектов препарата на основе анализа изменений основных параметров системы гемостаза

Fig. 4. An individual assessment of the information value (IV) of the observed pharmacological effects of the medicinal product, based on the analysis of changes in the main parameters of the haemostasis system

что указывает на достоверность полученных доказательств и определение указанных показателей как потенциальных маркеров для оценки эффективности или безопасности на этапе клинической разработки исследуемого препарата.

Таким образом, интерпретация результатов анализа WoE для оценки соотношения «польза–риск» применения лекарственного средства может осуществляться посредством частной и/или комплексной оценки WoE параметров, на основе результатов исследований общетоксического действия, репродуктивной токсичности, генотоксичности и других исследований,

в совокупности с данными, характеризующими связь между нормализованной плотностью и весовым коэффициентом (табл. 1) и правилом определения информационной ценности IV (табл. 2).

Примером успешного применения коэффициентов WoE и IV для оценки фармакологических эффектов явилась апробация этого методического подхода в исследованиях антигенотоксических и антитератогенных свойств препарата фабомотизол, который использовался в качестве корректора и протектора врожденных аномалий развития, индуцированных

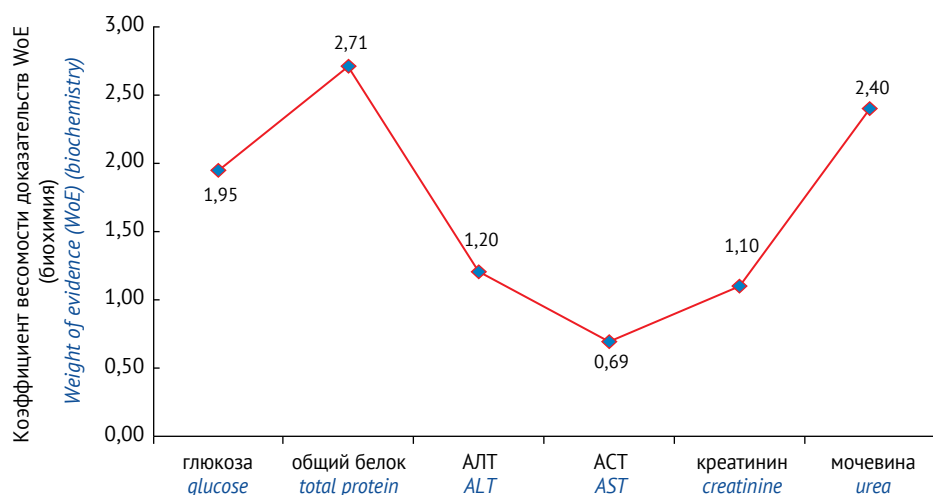


Рис. 5. Частная оценка весомости доказательств (WoE) значимости фармакологических эффектов препарата на основе анализа положительных и отрицательных изменений основных биохимических показателей крови

Fig. 5. An individual assessment of the weight of evidence (WoE) for the significance of the medicinal product's pharmacological effects, based on the analysis of positive and negative changes in the main biochemical blood parameters

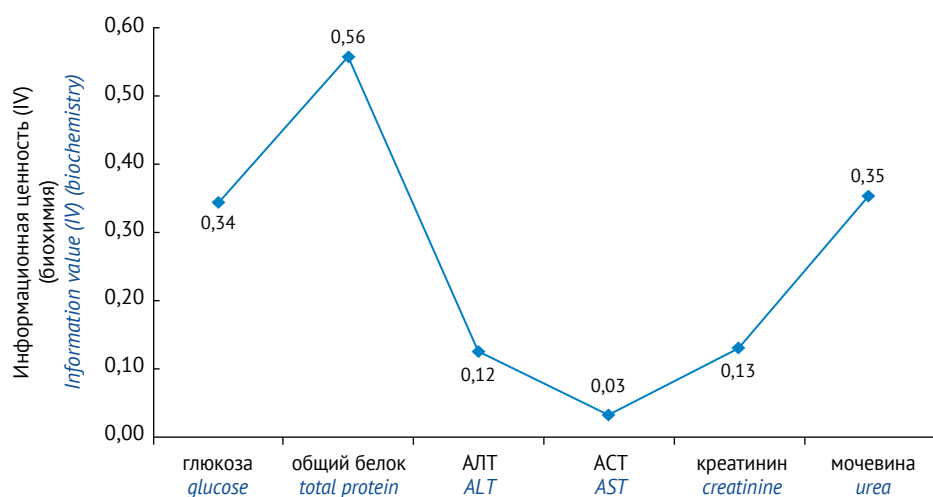


Рис. 6. Частная оценка информационной ценности (IV) наблюдаемых фармакологических эффектов препарата на основе анализа изменений основных биохимических показателей крови

Fig. 6. An individual assessment of the information value (IV) of the observed pharmacological effects of the medicinal product, based on the analysis of changes in the basic biochemical blood parameters

экспериментальными тератогенными факторами различной природы (гемическая гипоксия, циклофосамид, пренатальная алкоголизация, табачное окуривание, гипергликемия) [5–8] (табл. 4–6).

Таким образом, коэффициенты WoE и IV могут успешно применяться для оценки показателей генотоксичности, репродуктивной и онтогенетической токсичности исследуемого лекарственного средства в рамках общепринятых требований к проведению доклинических исследований. Применение такого подхода к прогностической

оценке пользы и риска фармакологических эффектов имеет особенно важное значение при доклиническом изучении лекарственных средств, разрабатываемых непосредственно для применения в педиатрической популяции и популяции беременных женщин по причинам высокого риска возникновения аномалий развития и в этой связи устоявшимися проблемами разработки достоверно безопасных и клинически проверенных схем терапевтической помощи для этих групп пациентов в случае болезни или других патологических состояний.

Таблица 4. Оценка WoE и IV по результатам исследования генотоксичности лекарственного средства на основе показателей поврежденности ДНК (in vivo)

Table 4. An assessment of WoE and IV based on the results of studying the genotoxicity of the medicine using DNA-damage indicators (in vivo)

Генотоксические эффекты лекарственного средства (экспозиция 3–6 ч) <i>Genotoxic effects of the test medicine (3–6 h exposure)</i>	Количество исслед. клеток <i>Number of studied cells</i>	Положительные события/эффекты, ед. <i>Positive events/effects</i>	Отрицательные события/эффекты, ед. <i>Negative events/effects</i>	Положительные события/эффекты, % <i>Positive events/effects, %</i>	Отрицательные события/эффекты, % <i>Negative events/effects, %</i>	Коэффициент WoE <i>Weight of evidence WoE</i>	Информационная ценность (IV) <i>Information value (IV)</i>	Нормализованная плотность (ND) <i>Normalised density (ND)</i>
Частота клеток плаценты с «ДНК в хвосте» ≤10% <i>Tail DNA percentage in placenta cells ≤10%</i>	3866	2938	928	7,9	24,4	-1,13	0,186	0,087
Частота клеток плаценты с «ДНК в хвосте» 10–30% <i>Tail DNA percentage in placenta cells of 10% to 30%</i>	3866	3650	216	9,8	5,7	0,54	0,022	0,108
Частота клеток плаценты с «ДНК в хвосте» 30–50% <i>Tail DNA percentage in placenta cells of 30% to 50%</i>	3866	3853	13	10,3	0,3	3,39	0,338	0,114
Суммарная частота ДНК-комет 10–50% (плацента) <i>Total percentage of DNA comets (placenta) of 10% to 50%</i>	3866	3147	719	8,4	18,9	-0,80	0,084	0,093
Апоптотические кометы плаценты (абс. зн.) <i>Apoptotic comets in the placenta (abs.)</i>	3866	3657	209	9,8	5,5	0,58	0,025	0,108
Частота клеток эмбрионов с «ДНК в хвосте» до 10% <i>Tail DNA percentage in embryonic cells ≤10%</i>	4355	3610	745	9,7	19,6	-0,70	0,069	0,107
Частота клеток эмбрионов с «ДНК в хвосте» 10–30% <i>Tail DNA percentage in embryonic cells of 10% to 30%</i>	4355	4142	213	11,1	5,6	0,68	0,037	0,122
Частота клеток эмбрионов с «ДНК в хвосте» 30–50% <i>Tail DNA percentage in embryonic cells of 30% to 50%</i>	4355	4334	21	11,6	0,5	3,06	0,339	0,128
Суммарная частота ДНК-комет 10–50% (эмбрионов) <i>Total percentage of DNA comets (embryos) of 10% to 50%</i>	4355	3754	601	10,1	15,8	-0,45	0,026	0,111
Апоптотические кометы эмбрионов (абс. зн.) <i>Apoptotic comets in the embryos (abs.)</i>	4355	4216	139	11,3	3,7	1,13	0,086	0,125
Частная оценка WoE и IV <i>Individual assessment of WoE and IV</i>	4110	37300,8	3804,15	90,7	9,3	2,28	1,215	1,102

Примечание. В таблице представлены WoE и IV, рассчитанные по совокупным оценкам антигенотоксических эффектов фабомотизола в исследованиях фармакологической коррекции аномалий развития [6–8].

Note. The table shows the WoEs and IVs calculated from the cumulative estimates of fabomotizole anti-genotoxic effects made in the studies of pharmacological correction of developmental abnormalities [6–8].

Таблица 5. Оценка WoE и IV по показателям нескольких тестов, применяемых для изучения эмбриотоксичности лекарственного средства

Table 5. An assessment of WoE and IV based on the indicators of several tests used to study the embryotoxicity of the medicine

Показатели пренатальной токсичности (эмбриотоксичности) <i>Indicators of prenatal toxicity (embryotoxicity)</i>	Количество эмбрионов <i>Number of embryos</i>	Положительные события/эффекты, ед. <i>Positive events/effects</i>	Отрицательные события/эффекты, ед. <i>Negative events/effects</i>	Положительные события/эффекты, % <i>Positive events/effects, %</i>	Отрицательные события/эффекты, % <i>Negative events/effects, %</i>	Коеффициент WoE <i>Weight of evidence WoE</i>	Информационная ценность (IV) <i>Information value (IV)</i>	Нормализованная плотность (ND) <i>Normalised density (ND)</i>
Тератогенные эффекты <i>Teratogenic effects</i>								
Менингоэнцефалоцеле <i>Meningoencephalocele</i>	86	66	20	6,4	12,0	-0,637	0,036	0,073
Краниошизис <i>Cranioschisis</i>	86	34	52	3,3	31,3	-2,256	0,631	0,038
Микроцефалия <i>Microcephaly</i>	86	86	0,1	8,3	0,1	4,926	0,405	0,096
Экзофтальм <i>Exophthalmos</i>	86	86	0,1	8,3	0,1	4,926	0,405	0,096
Микрогнатия верхней челюсти <i>Micrognathia of the upper jaw</i>	86	84	2	8,1	1,2	1,9070	0,131	0,093
Микрогнатия нижней челюсти <i>Micrognathia of the lower jaw</i>	86	84	2	8,1	1,2	1,907	0,134	0,093
Макроглоссия языка <i>Macroglossia</i>	86	86	0,1	8,3	0,1	4,9263	0,405	0,096
Ахейрия <i>Acheiria</i>	86	86	0,1	8,3	0,1	4,9263	0,405	0,096
Аподия <i>Apodia</i>	86	83	3	8,0	1,8	1,4896	0,092	0,093
Олигодактилия передних конечностей <i>Oligodactyly of the forelimbs</i>	86	83	3	8,0	1,8	1,4896	0,092	0,093
Олигодактилия задних конечностей <i>Oligodactyly of the hindlimbs</i>	86	74	12	7,1	7,2	-0,012	0,000	0,083
Эвентрация <i>Eversion</i>	86	85	1	8,2	0,6	2,612	0,198	0,095
Тератома <i>Teratoma</i>	86	74	12	7,1	7,2	-0,012	0,000	0,083
Общая частота эмбрионов с внешними аномалиями развития <i>Total embryos with external developmental abnormalities</i>	86	27	59	2,6	35,5	-2,612	0,858	0,030
Частная оценка WoE и IV <i>Individual assessment of WoE and IV</i>	1204	1038	166,4	86,2	13,8	1,830	3,792	1,159
Аномалии внутренних органов <i>Abnormalities of internal organs</i>								
Гидроцефалия двусторонняя <i>Bilateral hydrocephalus</i>	41	33	8	17,6	13,6	0,2635	0,011	0,232
Гидроцефалия односторонняя <i>Unilateral hydrocephalus</i>	41	40	1	21,4	1,7	2,5353	0,499	0,281
Гидроцефалия 3-го желудочка <i>Hydrocephalus of the 3rd ventricle</i>	41	29	12	15,5	20,3	-0,271	0,013	0,204

Продолжение таблицы 5

Table 5 (continued)

Показатели пренатальной токсичности (эмбриотоксичности) <i>Indicators of prenatal toxicity (embryotoxicity)</i>	Количество эмбрионов <i>Number of embryos</i>	Положительные события/эффекты, ед. <i>Positive events/effects</i>	Отрицательные события/эффекты, ед. <i>Negative events/effects</i>	Положительные события/эффекты, % <i>Positive events/effects, %</i>	Отрицательные события/эффекты, % <i>Negative events/effects, %</i>	Коэффициент WoE <i>Weight of evidence WoE</i>	Информационная ценность (IV) <i>Information value (IV)</i>	Нормализованная плотность (ND) <i>Normalised density (ND)</i>
Дисплазия сердца <i>Cardiac dysplasia</i>	41	35	6	18,7	10,2	0,610	0,052	0,246
Расщепление нёба <i>Cleft palate</i>	41	33	8	17,6	13,6	0,2635	0,011	0,232
Частота эмбрионов с аномалиями внутренних органов <i>Embryos with abnormalities of internal organs</i>	41	17	24	9,1	40,7	-1,498	0,473	0,119
Частная оценка WoE и IV <i>Individual assessment of WoE and IV</i>	246	187	59	76,0	24,0	1,154	1,059	1,316
Аномалии костной системы <i>Skeletal abnormalities</i>								
Акрания <i>Acrania</i>	45	42	3	9,9	2,6	1,3556	0,099	0,127
Дисморфия челюсти <i>Jaw dysostosis</i>	45	35	10	8,3	8,5	-0,031	0,000	0,106
Отсутствие затылочных костей <i>Absence of occipital bones</i>	45	22	23	5,2	19,6	-1,328	0,192	0,066
Расширение затылочного отверстия <i>Expansion of the foramen</i>	45	7	38	1,7	32,4	-2,975	0,915	0,021
Ретардация затылочных костей <i>Retardation of occipital bone formation</i>	45	29	16	6,9	13,7	-0,688	0,046	0,087
Сколиоз <i>Scoliosis</i>	45	45	0,1	10,6	0,1	4,8258	0,509	0,135
Спино-бифидо <i>Spina bifida</i>	45	45	0,1	10,6	0,1	4,8258	0,509	0,135
Раздвоение точек окостенения грудины <i>Bifurcated sternal ossification centres</i>	45	32	13	7,6	11,1	-0,383	0,013	0,096
Хондродисплазия правой пястной <i>Chondrodysplasia of the right metacarpal</i>	45	42	3	9,9	2,6	1,3556	0,099	0,126
Хондродисплазия левой пястной <i>Chondrodysplasia of the left metacarpal</i>	45	42	3	9,9	2,6	1,3556	0,099	0,126
Хондродисплазия правой плюсны <i>Chondrodysplasia of the right metatarsal</i>	45	41	4	9,7	3,4	1,0438	0,065	0,123
Хондродисплазия левой плюсны <i>Chondrodysplasia of the left metatarsal</i>	45	41	4	9,7	3,4	1,0438	0,065	0,123
Частная оценка WoE и IV <i>Individual assessment of WoE and IV</i>	540	423	117,2	78,3	21,7	1,2835	2,616	1,276

Таблица 6. Оценка WoE и IV по показателям нескольких тестов, применяемых в ДКИ лекарственных средств для изучения постнатальных когнитивных и функциональных нарушений у потомства экспонированных беременных самок

Table 6. An assessment of WoE and IV based on the indicators of several tests used in preclinical studies of medicines to study postnatal cognitive and functional disorders in the offspring of exposed pregnant females

Поведенческие тесты-системы <i>Behavioural test systems</i>	Количество исследованных животных <i>Number of animals studied</i>	Положительные события/эффекты, ед. <i>Positive events/effects</i>	Отрицательные события/эффекты, ед. <i>Negative events/effects</i>	Положительные события/эффекты, % <i>Positive events/effects, %</i>	Отрицательные события/эффекты, % <i>Negative events/effects, %</i>	Коэффициент WoE <i>Weight of evidence WoE</i>	Информационная ценность (IV) <i>Information value (IV)</i>	Нормализованная плотность (ND) <i>Normalised density (ND)</i>
Снижение когнитивного индекса* <i>Decreased cognitive index</i>	20	14	4	16,7	5,1	1,18	0,14	0,36
Нарушение формирования кратковременной памяти* <i>Short-term memory impairment</i>	20	15	3	17,9	3,8	1,54	0,22	0,38
Нарушение формирования долговременной памяти* <i>Long-term memory impairment</i>	20	17	1	20,2	1,3	2,76	0,52	0,43
Отклонение от нормы индекса локомоторной активности** <i>Abnormal index of locomotor activity</i>	20	9	9	10,7	11,5	-0,07	0,00	0,23
Отклонение от нормы индекса тревожности** <i>Abnormal anxiety index</i>	20	6	12	7,1	15,4	-0,77	0,06	0,15
Отклонение от нормы индекса эмоциональной напряженности в условиях аверсивной среды*** <i>Abnormal index of emotional stress in aversive conditions</i>	20	3	15	3,6	19,2	-1,68	0,26	0,08
Отклонение от нормы индекса ориентир-исслед. активности на фоне эмоциональной напряженности в условиях аверсивной среды*** <i>Abnormal index of exploratory behaviour associated with emotional stress in aversive conditions</i>	20	3	15	3,6	19,2	-1,68	0,26	0,08
Отклонение от нормы индекса «вегетативный показатель пассивного страха»**** <i>Abnormal index of the vegetative indicator of passive fear response</i>	20	2	16	2,4	20,5	-2,16	0,39	0,05
Частота случаев иммобилизации**** <i>Immobilisation frequency</i>	20	15	3	17,9	3,8	1,53	0,22	0,38
Всего: оценка WoE и IV <i>Total: WoE and IV score</i>	180	84,00	78,0	46,7	43,3	0,07	2,07	2,14

Примечание. В таблице представлены результаты тестирования половозрелого потомства самок животных, экспонированных в период беременности. Оценка проведена по результатам исследования в тест-установках: * – Т- и Ж-образный лабиринт, ** – крестообразный лабиринт, *** – открытое поле, **** – тест «Экстраполяционное извлечение».

Note. The table shows test results of sexually mature offspring of female animals exposed during pregnancy. The assessment was based on the results of T- and W-shaped maze tests (*), a plus-maze test (**), an open-field test (***), and an extrapolation escape test.

Выводы

1. Предлагаемые математические подходы подтверждения достоверности и надежности результатов разработаны на основе байесовской статистики, применяемой на практике в доказательной медицине, и позволяют оценить

совокупный объем тестов, которые применяются в рутинных доклинических исследованиях безопасности лекарственных средств.

2. Коэффициенты весомости доказательств и информационной ценности обладают прогностической способностью и могут использоваться

в доклинических исследованиях для надежной оценки как отдельных показателей для определения маркеров в планируемых клинических исследованиях, так и нескольких показателей, объединенных одной тест-системой или батареей тестов. 3. Коэффициенты WoE и IV могут использоваться для оценки пользы и риска применения лекарственных средств (в том числе препаратов,

разрабатываемых для беременных женщин и детей) при проведении экспертизы и государственной регистрации.

4. Разработанная методика позволяет определять основные факторы риска на доклиническом этапе разработки лекарственных средств и прогнозировать их безопасность при применении в человеческой популяции.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Таубэ АА, Романов БК. Экспертная оценка прогностических критериев неклинических исследований при регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2021;20(1):18–25. [Taube AA, Romanov BK Expert evaluation of prognostic criteria for non-clinical trials when registering medicinal products for medical use. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoy meditsinskoy akademii = Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*. 2021;20(1):18–25 (In Russ.)] <https://doi.org/10.37903/vsgma.2021.1.3>
2. Good IJ. Weight of evidence: A brief survey. *Bayesian Statistics*. 1985;(2):249–70.
3. Lee PM. *Bayesian statistical decision theory*. New York: Wiley; 1997.
4. Zeng G. A necessary condition for a good binning algorithm in credit scoring. *Appl Math Sci*. 2014;8(65):3229–42. <https://doi.org/10.12988/ams.2014.44300>
5. Соломина АС, Шредер ОВ, Мокрова ЕД, Забродина ВВ, Горбатова ДМ, Колик ЛГ и др. Фабомотизол как средство фармакологической коррекции пре- и постнатальных нарушений, вызванных древесно-торфяным задымлением, табачным дымом, алкоголем, гипергликемией и циклофосфамидом у потомства крыс. *Молекулярная медицина*. 2020;18(3):34–48. [Solomina AS, Shreder OV, Makarova ED, Zabrodina VV, Gorbatova DM, Kolik LG1, et al. Fabomotizole as means of pharmacological correction of pre- and postnatal disorders induced by peat smoke pollution, tobacco smoke, alcohol, hyperglycaemia, and cyclophosphamide in the offspring of rats. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*. 2020;18(3):34–48 (In Russ.)] <https://doi.org/10.29296/24999490-2020-03-05>
6. Шредер ОВ, Шредер ЕД, Дурнев АД, Середенин СБ. Сопряженность генотоксических и тератогенных эффектов, вызываемых циклофосфамидом, и их модификация афобазолом. *Гигиена и санитария*. 2011;(5):64–8. [Shreder OV, Shreder ED, Durnev AD, Seredenin SB. Association of genotoxic and teratogenic effects induced by cyclophosphamide and their modification with afobazole. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2011;(5):64–8 (In Russ.)]
7. Дурнев АД, Жанатаев АК, Шредер ОВ. Генотоксические поражения и болезни. *Молекулярная медицина*. 2013;(3):3–19. [Durnev AD, Zhanataev AK, Shreder OV. Genotoxic events and diseases. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*. 2013;(3):3–19 (In Russ.)]
8. Шредер ЕД, Шредер ОВ, Забродина ВВ, Дурнев АД, Середенин СБ. Влияние афобазола на генотоксические и нейротоксические эффекты в модели пренатальной алкоголизации крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;157(4):492–5. [Shreder ED, Shreder OV, Zabrodina VV, Durnev AD, Seredenin SB. Afobazole modifies the neurotoxic and genotoxic effects in rat prenatal alcoholization model. *Bull Exp Biol Med*. 2014;157(4):492–5] <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2599-5>
9. Shreder OV, Shreder ED, Zabrodina VV, Durnev AD. Effects of afobazole on the searching activity and food-procuring skill of the offspring of rats exposed to hypoxia during fetal development. In: Alexandrov AK, Fedoseev LM, eds. *Long-term memory: mechanisms, types and disorders*. New York; 2012. P. 117–31.

Вклад авторов. О.В. Шредер – разработка концепции, написание текста рукописи, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Д.В. Горячев – критический пересмотр текста рукописи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Н.Д. Бунятян, Р.Д. Сюбаев, Г.Н. Енгальчева – вклад в концепцию, критический пересмотр текста; А.Д. Кузнецова – сбор, анализ и обобщение данных, вклад в концепцию, редактирование текста рукописи; В.В. Косенко – разработка концепции, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Authors' contributions. Olga V. Shreder – elaboration of the study concept, writing and editing of the text of the manuscript, approval of the final version of the manuscript for publication; Dmitry V. Goryachev – critical revision of the text of the manuscript, approval of the version for publication; Natalia D. Bunyatyan, Rashid D. Syubaev, Galina N. Engalycheva – contribution to the concept, critical revision of the text; Anna D. Kuznetsova – collection, analysis, and consolidation of data, contribution to the concept, editing of the text; Valentina V. Kosenko – elaboration of the concept, approval of the final version of the manuscript for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. В.В. Косенко является главным редактором, Н.Д. Бунятян, Д.В. Горячев и Р.Д. Сюбаев — членами редколлегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Conflict of interest. Valentina V. Kosenko is the Editor-in-Chief, Natalia D. Bunyatyan, Dmitry V. Goryachev and Rashid D. Syubaev are members of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*; the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Шредер Ольга Васильевна, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7926-6033>
shrederov@expmed.ru

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
Bunyatyan@expmed.ru

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Gorachev@expmed.ru

Сюбаев Рашид Даутович, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6729-2349>
Subaev@expmed.ru

Енгальчева Галина Николаевна, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5121-0858>
Engalycheva@expmed.ru

Кузнецова Анна Дмитриевна.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7989-4876>
kuznetsovaad@expmed.ru

Косенко Валентина Владимировна, канд. фарм. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
Kosenko@expmed.ru

Olga V. Shreder, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7926-6033>
shrederov@expmed.ru

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
Bunyatyan@expmed.ru

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Gorachev@expmed.ru

Rashid D. Syubaev, Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6729-2349>
Subaev@expmed.ru

Galina N. Engalycheva, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5121-0858>
Engalycheva@expmed.ru

Anna D. Kuznetsova.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7989-4876>
kuznetsovaad@expmed.ru

Valentina V. Kosenko, Cand. Sci. (Pharm.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
Kosenko@expmed.ru

Статья поступила 03.06.2022

После доработки 18.07.2022

Принята к печати 31.08.2022

Article was received 3 June 2022

Revised 18 July 2022

Accepted for publication 31 August 2022



Г.Ф. Василенко 
Л.М. Красных  
М.В. Журавлева 
А.Б. Прокофьев 
Г.И. Городецкая 
В.В. Смирнов 
Н.Д. Бунятян 

Сравнительная кинетика растворения тиоктовой кислоты для ряда воспроизведенных препаратов

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

✉ Красных Людмила Михайловна; krasnyh@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Взаимосвязь между растворением и биодоступностью является одним из примеров взаимосвязи между качеством лекарственного препарата, его безопасностью и эффективностью. Уникальность тиюктовой кислоты в том, что она может существовать как в окисленной, так и в восстановленной форме, проявляя как липофильные (липовая кислота), так и гидрофильные (дигидролиповая кислота) свойства. Изучение биодоступности данного лекарственного средства необходимо для оценки ожидаемого терапевтического эффекта и уменьшения побочного действия препарата на организм. **Цель работы:** изучение процесса высвобождения тиюктовой кислоты из препаратов разных производителей с помощью теста сравнительной кинетики растворения. **Материалы и методы:** объектами исследования являлись референтный (РП) и три воспроизведенных препарата (ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3) различных производителей – таблетки, покрытые пленочной оболочкой, содержащие тиюктовую кислоту в дозе 600 мг. Эксперимент проводили в средах растворения с pH $6,8 \pm 0,05$ и pH $1,2 \pm 0,05$. Статистическую обработку проводили с помощью пакета Microsoft Office Excel 2007 путем расчета среднего значения количества растворившейся субстанции, стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD, %). **Результаты:** на основании особенностей и характеристик тиюктовой кислоты выбраны условия проведения испытания (pH среды растворения $6,8 \pm 0,05$ и $1,2 \pm 0,05$). При сравнении профилей высвобождения тиюктовой кислоты на основании расчета фактора сходимости (f_2) был отмечен эквивалентный профиль растворения препаратов ВЛС2 и ВЛС3 при pH 6,8 (высвобождение субстанции более 85% через 15 мин) и неэквивалентный профиль растворения препарата ВЛС1 (f_2 составил 28). **Выводы:** установленные различия в скорости и степени высвобождения действующего вещества из изучаемых препаратов могут свидетельствовать о возможных различиях их фармакологической эффективности в условиях *in vivo*.

Ключевые слова: тиюктовая кислота; тест сравнительной кинетики растворения; растворение для твердых дозированных лекарственных форм; среда растворения; эквивалентность *in vitro*

Для цитирования: Василенко Г.Ф., Красных Л.М., Журавлева М.В., Прокофьев А.Б., Городецкая Г.И., Смирнов В.В., Бунятян Н.Д. Сравнительная кинетика растворения тиюктовой кислоты для ряда воспроизведенных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):331–340. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-331-340>

G.F. Vasilenko 
L.M. Krasnykh 
M.V. Zhuravleva 
A.B. Prokofiev 
G.I. Gorodetskaya 
V.V. Smirnov 
N.D. Bunyatyan 

Comparative Dissolution Kinetics of Several Multisource Thioctic Acid Products

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

✉ Lyudmila M. Krasnykh; krasnykh@expmed.ru

ABSTRACT

The relationship between dissolution and bioavailability is an example of the interdependency between the quality of a medicinal product and its safety and efficacy. The uniqueness of thioctic acid is that it can exist in an oxidised and a reduced form, showing lipophilic (lipoic acid) and hydrophilic (dihydrolipoic acid) properties. Bioavailability studies of thioctic acid are necessary to evaluate the expected therapeutic effect and mitigate side effects of the medicinal product. **The aim of the study** was to carry out equivalence dissolution testing to compare the release of thioctic acid from medicinal products produced by several manufacturers. **Materials and methods:** the study used a reference medicinal product and three multisource medicinal products by different manufacturers; more specifically, film-coated tablets containing 600 mg of thioctic acid. The experiment was carried out in dissolution media at pH of 6.8 ± 0.05 and 1.2 ± 0.05 . Statistical analysis was performed by calculating the average amounts of the substance dissolved, the standard deviation (SD), and the relative standard deviation (RSD, %) using Microsoft Office Excel 2007. **Results:** The authors chose the testing conditions (dissolution media pH values of 6.8 ± 0.05 and 1.2 ± 0.05) taking into account the nature and characteristics of thioctic acid. The comparison of thioctic acid release profiles based on the calculation of the similarity factor (f_2) showed that the dissolution profiles of multisource medicinal products 2 and 3 at pH 6.8 were equivalent to that of the reference medicinal product (more than 85% of the active pharmaceutical ingredient released within 15 minutes) and the dissolution profile of multisource medicinal product 1 was not equivalent to it (with f_2 of 28). **Conclusions:** the established differences in the rate and degree of active ingredient release from the studied medicinal products may indicate possible differences in their pharmacological effectiveness *in vivo*.

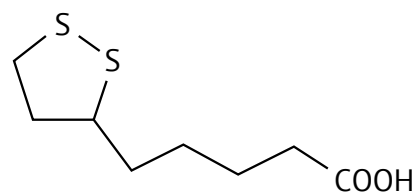
Key words: thioctic acid; comparative dissolution kinetics test; dissolution test for solid dosage forms; dissolution medium; *in vitro* equivalence

For citation: Vasilenko G.F., Krasnykh L.M., Zhuravleva M.V., Prokofiev A.B., Gorodetskaya G.I., Smirnov V.V., Bunyatyan N.D. Comparative dissolution kinetics of several multisource thioctic acid products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):331–340. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-331-340>

Введение

Сахарный диабет (СД) представляет собой системное нарушение обмена веществ и рассматривается как группа метаболических заболеваний, которые характеризуются хронической гипергликемией, развивающейся в результате нарушения секреции инсулина, его действия или того и другого фактора сразу [1, 2]. Тяжелым проявлением и осложнением СД является диабетическая полинейропатия (ДПН) [3, 4]. Основным средством для лечения ДПН является тиоктовая кислота (ТК) [5–7]. Взаимозаменяемость используемых для терапии лекарственных средств устанавливается путем оценки их терапевтической эквивалентности или биоэквивалентности в отношении препарата сравнения [8].

ТК — естественный коэнзим митохондриального комплекса, катализирующего окислительное декарбоксилирование α -кетокислот (пирувата и α -кетоглутарата), регулирует аэробные процессы энергообразования в клетке, связанные с окислением углеводов и жиров. Структурная формула тиоктовой (1,2-дителиолан-3-пентановой) кислоты:



Уникальность ТК в том, что она может существовать как в окисленной, так и в восстановленной форме, проявляя как липофильные (липоевая кислота), так и гидрофильные (дигидролипоевая кислота) свойства [1]. Синтезированная ТК представляет собой смесь сферических R⁺- и S⁻-изомеров, хорошо растворяющихся как в воде, так и в липофильных растворителях [9].

При всех преимуществах воспроизведенные лекарственные препараты не всегда способны продемонстрировать эквивалентную с оригинальными эффективность и безопасность. Причины этого могут быть разными и не всегда предсказуемыми. В некоторых случаях различаются технологические процессы создания препаратов с действующим веществом одного наименования, в результате чего активная субстанция может иметь, например, кристаллическую или аморфную структуру с соответствующими различиями растворимости и последующего всасывания. Субстанции разных производителей также могут различаться химической реакционной способностью, устойчивостью к механическим и термическим воздействиям, влажности и т.д. [10].

Главной задачей современной биофармации является изучение биодоступности лекарственных средств (ЛС) с целью повышения их терапевтического эффекта и уменьшения побочного действия на организм. В настоящее время альтернативой изучению биоэквивалентности в ряде случаев для доказательства подобия или различия анализируемых ЛС может быть исследование их растворения *in vitro*. При соблюдении однородности дозирования и равенства средних масс изучаемых лекарственных форм можно ожидать воспроизводимости получаемых в клинике эффектов и равной степени их выраженности. Однако на эффективность препаратов влияет не только количество активного вещества, присутствующее в лекарственной форме, но и его способность высвобождаться из нее для попадания в системный кровоток. Таким образом, растворимость активного вещества зачастую является параметром, определяющим степень биодоступности ЛС в данной лекарственной форме. Взаимосвязь между растворением и биодоступностью является одним из примеров взаимосвязи между качеством лекарственного препарата и его безопасностью и эффективностью [11].

Исследование процесса растворения на модели *in vitro* представляет собой важный инструмент

для корректной биофармацевтической оценки ЛС, с помощью которого определяют количество действующего вещества, которое в стандартных условиях за определенное время должно перейти в раствор из твердой дозированной лекарственной формы.

Цель работы — изучение процесса высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов различных производителей с помощью теста сравнительной кинетики растворения.

Материалы и методы

С помощью теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) изучалась кинетика растворения референтного (РП) и трех воспроизведенных (ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3) лекарственных препаратов различных производителей: таблетки, покрытые пленочной оболочкой, содержащие тиоктовую кислоту в дозе 600 мг.

В качестве рабочего стандартного образца использовалась фармацевтическая субстанция тиоктовой кислоты, чистота 98–102%.

Исследование сравнительной кинетики растворения проводили в соответствии с требованиями Руководства по экспертизе лекарственных средств¹ и ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм»².

Изучение сравнительной кинетики растворения исследуемых лекарственных препаратов в условиях *in vitro* выполняли на приборе ERWEKA DT 600 (ERWEKA GmbH, Германия) (тип прибора — «лопастная мешалка») со скоростью вращения 50 об./мин, при температуре среды растворения 37,0 ± 0,5 °C и pH среды растворения 6,80 ± 0,05 и 1,20 ± 0,05 (pH-метр Mettler Toledo GmbH, Германия). Оптическую плотность растворов измеряли на УФ-спектрофотометре Agilent 8453 (Agilent Technologies, США) в аликвотах, отбираемых через 10, 15, 30 и 45 мин.

Проведение теста «Растворение» исследуемых препаратов в среде растворения с pH 6,80 ± 0,05.

В каждый из 6 сосудов для растворения с 500 мл фосфатного буферного раствора pH 6,8, предварительно термостатированного при 37,0 ± 0,5 °C, помещали по 1 таблетке исследуемых ЛС. Спустя указанные промежутки времени автоматической пипеткой проводили ручной отбор 5 мл среды растворения, который незамедлительно восполняли таким же объемом предварительно термостатированной при 37,0 ±

¹ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Ч. 3. М.: Гриф и К; 2013.

² Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

0,5 °C среды. Отобранные пробы фильтровали через мембранный фильтр из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм (Agilent Technologies, США), отбрасывая первые порции фильтрата, и измеряли оптическую плотность растворов. Исследование проводили на 12 единицах каждого ЛС.

Проведение теста «Растворение» исследуемых препаратов в среде растворения с pH 1,20 ± 0,05. В каждый из 6 сосудов для растворения с 500 мл 0,1-М хлористоводородной кислоты pH 1,2, предварительно термостатированной при 37,0 ± 0,5 °C, помещали по 1 таблетке исследуемых ЛС. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, который незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения, предварительно термостатированной при 37,0 ± 0,5 °C. Отобранные пробы фильтровали в тех же условиях, затем измеряли оптическую плотность растворов. Исследование проводили на 12 единицах каждого ЛС.

Количественное определение. Для приготовления стандартного раствора в среде растворения pH 6,80 ± 0,05 в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 50 мг рабочего стандартного образца тиоктовой кислоты, добавляли 30 мл среды растворения, обрабатывали ультразвуком в течение 15 мин, довели объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивали. Измеряли оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов при максимуме поглощения (длина волны 333 нм) относительно фосфатного буферного раствора pH 6,8 в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Для приготовления стандартного раствора в среде растворения pH 1,20 ± 0,05 в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 50 мг рабочего стандартного образца тиоктовой кислоты, добавляли 5 мл спирта метилового, довели объем раствора до метки средой растворения, перемешивали. Измеряли оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов при максимуме поглощения (длина волны 333 нм) относительно 0,1-М хлористоводородной кислоты, pH 1,2, в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Количество тиоктовой кислоты, перешедшей в раствор (X), в процентах от заявленного количества рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_t \times W_s \times P \times 500}{A_s \times 50 \times 600} = \frac{A_t \times W_s \times P}{A_s \times 60}, \quad (1)$$

где A_t — оптическая плотность испытуемого раствора; A_s — оптическая плотность стандартного раствора; W_s — навеска рабочего стандартного образца, мг; P — чистота рабочего стандартного образца тиоктовой кислоты, %.

Статистическую обработку результатов эксперимента осуществляли с использованием пакета Microsoft Office Excel 2007 путем расчета среднего значения количества активного ингредиента, перешедшего в раствор, стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD , %). Достоверность результатов исследования оценивалась в соответствии с установленными требованиями³: величина относительного стандартного отклонения не должна превышать 10% для всех временных точек, за исключением первой.

Для подтверждения сходства профилей растворения использовали фактор сходимости (f_2), который рассчитывали для всех точек отбора [12] по формуле:

$$f_2 = 50 \times \log\{[1 + (1/n) \sum_{i=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0,5} \times 100\}, \quad (2)$$

где n — число временных точек; R_t — среднее значение высвобождения активного ингредиента из препарата сравнения (РП) на момент времени t , %; T_t — среднее значение высвобождения активного ингредиента из исследуемого препарата на момент времени t , %.

Результаты и обсуждение

Тест «Растворение» для тиоктовой кислоты согласно фармакопейным требованиям проводится с применением среды растворения с pH 6,8. По данным литературы при выполнении сравнительной кинетики растворения в качестве среды растворения использовали воду [13]. Однако тиоктовая кислота не обладает стабильностью в желудке [14], а гиперацидные состояния характеризуются изменением pH ниже нормальной величины (1,5–2,0 pH желудочного сока). В нашем исследовании для изучения кинетики растворения тиоктовой кислоты использовали две среды с pH 1,20 ± 0,05 и 6,80 ± 0,05, моделирующих среды желудка и тонкого кишечника. Профили высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов РП, ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3 представлены на рисунках 1 и 2.

При растворении тиоктовой кислоты в среде с pH 6,80 ± 0,05 (рис. 1) было установлено, что среднее значение количества высвободившейся тиоктовой кислоты в течение 15 мин составило: РП — 89,6%, ВЛС2 — 98,8%,

³ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Ч. 3. М.: Гриф и К; 2013.

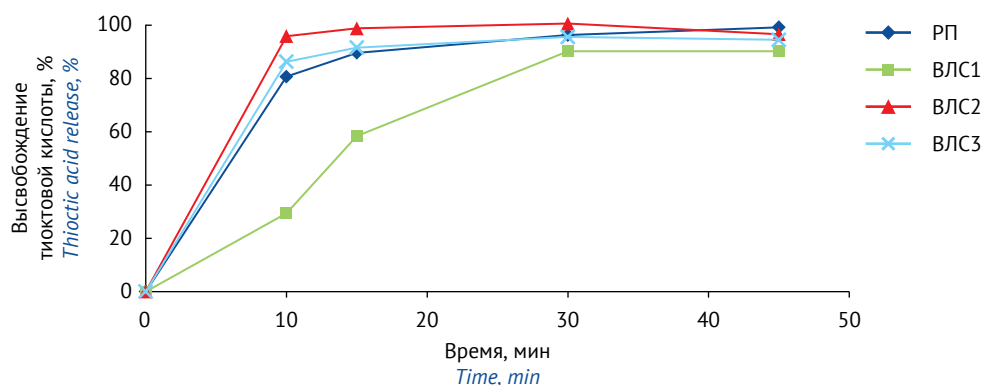


Рис. 1. Профили высвобождения тиоктовой кислоты в среде растворения pH $6,80 \pm 0,05$ из референтного (РП) и трех воспроизведенных (ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3) лекарственных препаратов различных производителей

Fig. 1. Profiles of thioctic acid release from the reference (РП) and three multisource (ВЛС1, ВЛС2 and ВЛС3) medicinal products by different manufacturers in the dissolution medium at pH 6.80 ± 0.05

ВЛС3 — 91,6%, т.е. наблюдалось полное высвобождение действующего вещества. Поскольку в раствор перешло более 85% действующего вещества, эти препараты следует считать эквивалентными без дополнительной статистической обработки.

Полное высвобождение тиоктовой кислоты из ВЛС1 происходило через 30 мин. Для этого препарата при сравнении с профилем высвобождения РП по формуле (2) был рассчитан фактор сходимости, который составил $f_2 = 28$ (при норме от 50 до 100⁴), поэтому кинетику растворения ВЛС1 в условиях *in vitro* при pH $6,80 \pm 0,05$ следует признать не эквивалентной.

Для подтверждения достоверности полученных результатов проводили расчет стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD) (табл. 1). Для всех препаратов при растворении в среде с pH $6,80 \pm 0,05$ величина RSD (%) не превышала 10%, за исключением одного результата в первой точке отбора проб, в которой величина RSD не превышала 20%.

Профили высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов РП, ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3 в среде растворения с pH $1,20 \pm 0,05$ приведены на рисунке 2. Следует отметить, что при pH $1,20 \pm 0,05$ полное высвобождение тиоктовой кислоты в течение 45 мин наблюдалось для препаратов

Таблица 1. Метрологические характеристики результата растворения тиоктовой кислоты при pH $6,80 \pm 0,05$

Table 1. Metrological characteristics of the result of thioctic acid dissolution at pH of 6.80 ± 0.05

Препарат (условное обозначение) Medicinal product (code)	Характеристика результата испытаний Characteristics of the test result	Стандартное отклонение среднего во временных точках отбора проб: Standard deviation of the mean at sampling time points:			
		10 мин / min	15 мин / min	30 мин / min	45 мин / min
РП	SD	±5,8	±4,5	±3,6	±2,8
	RSD, %	7,2	5,0	3,7	2,8
ВЛС1	SD	±3,2	±5,3	±3,1	±2,2
	RSD, %	10,8	9,1	3,4	2,4
ВЛС2	SD	±4,7	±2,7	±2,2	±2,2
	RSD, %	4,9	2,7	2,1	2,3
ВЛС3	SD	±1,6	±2,4	±3,0	±2,9
	RSD, %	1,8	2,6	3,1	3,1

Примечание. SD — стандартное отклонение; RSD — относительное стандартное отклонение; РП — референтный препарат тиоктовой кислоты; ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3 — воспроизведенные препараты тиоктовой кислоты различных производителей.

Note. SD — standard deviation; RSD — relative standard deviation; РП — reference thioctic acid product; ВЛС1, ВЛС2 and ВЛС3 — multi-source thioctic acid products by different manufacturers.

⁴ Там же.

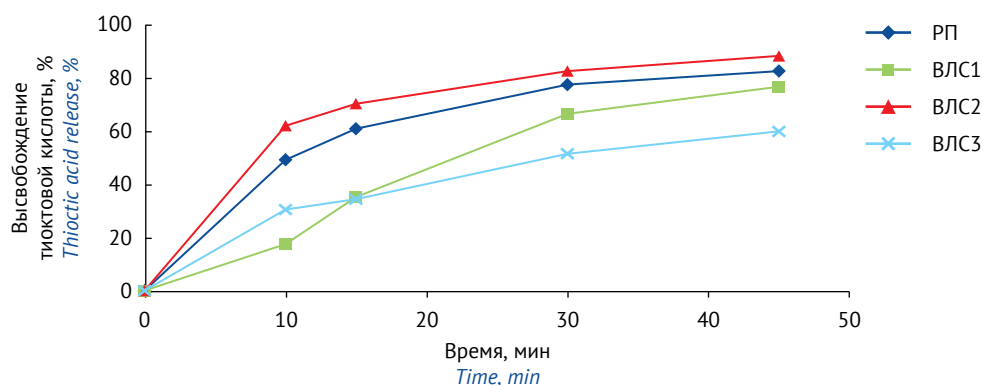


Рис. 2. Профили высвобождения тиоктовой кислоты в среде растворения с pH $1,20 \pm 0,05$ из референтного (РП) и трех воспроизведенных (ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3) лекарственных препаратов различных производителей

Fig. 2. Profiles of thioctic acid release from the reference (РП) and three multisource (ВЛС1, ВЛС2 and ВЛС3) medicinal products by different manufacturers in the dissolution medium at pH 1.20 ± 0.05

РП и ВЛС2 и составило 82,6 и 88,3% соответственно. Среднее значение количества высвободившейся тиоктовой кислоты из препарата ВЛС3 в течение 45 мин составило 59,9%, т.е. наблюдалось неполное высвобождение действующего вещества.

Для воспроизведенных лекарственных препаратов ВЛС1, ВЛС2, ВЛС3 было проведено попарное сравнение кинетики растворения с препаратом РП, в таблице 2 представлены рассчитанные по формуле (2) факторы сходимости. При сравнении профилей высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов РП и ВЛС1 фактор сходимости составил $f_2 = 31$. Кинетика растворения ЛС считается эквивалентной, если значение фактора сходимости f_2 находится в интервале от 50 до 100. В данном случае кинетика растворения в условиях *in vitro* была неэквивалентной. Наблюдался максимально схожий профиль растворения препарата ВЛС2 с препаратом сравнения РП, однако во всех точках отбора проб его концентрация в растворе была выше, чем у препарата сравнения. Фактор сходимости составил $f_2 = 52$,

поэтому кинетика растворения в условиях *in vitro* признана эквивалентной. При сравнении профилей высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов РП и ВЛС3 фактор сходимости составил $f_2 = 23$, следовательно, кинетику растворения этих препаратов в условиях *in vitro* можно признать неэквивалентной.

Для подтверждения достоверности полученных результатов представлены величины стандартного отклонения (табл. 3). Для всех препаратов при растворении в среде с pH $1,2 \pm 0,05$ величина *RSD* (%) не превышала 10%, за исключением одного результата в первой точке отбора проб, в которой величина *RSD* не превышала 20%.

Основной тенденцией на российском фармацевтическом рынке на протяжении последних лет является увеличение объема потребления воспроизведенных ЛП. Не все воспроизведенные лекарственные средства полностью соответствуют по составу и особенностям производства референтному препарату. Исследование препаратов *in vitro* по ТСНР

Таблица 2. Результаты оценки эквивалентности кинетики растворения препаратов тиоктовой кислоты

Table 2. Results of equivalence evaluation of dissolution kinetics of thioctic acid medicinal products

Препараты (условные обозначения) <i>Medicinal products (codes)</i>	Фактор сходимости (f_2) <i>Similarity factor (f_2)</i>	Критерии эквивалентности ⁵ <i>Equivalence criteria⁵</i>
РП – ВЛС1	31	50–100
РП – ВЛС2	52	
РП – ВЛС3	23	

Примечание. РП – референтный препарат тиоктовой кислоты; ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3 – воспроизведенные препараты тиоктовой кислоты различных производителей.

Note. РП – reference thioctic acid product; ВЛС1, ВЛС2 and ВЛС3 – multisource thioctic acid products by different manufacturers.

⁵ Там же.

Таблица 3. Метрологические характеристики результата растворения тиоктовой кислоты при pH 1,20 ± 0,05

Table 3. Metrological characteristics of the result of thioctic acid dissolution at pH of 1.20 ± 0.05

Препарат (условное обозначение) <i>Medicinal product (code)</i>	Характеристика результата испытаний <i>Characteristics of the test result</i>	Стандартное отклонение среднего во временных точках отбора проб: <i>Standard deviation of the mean at sampling time points:</i>			
		10 мин / min	15 мин / min	30 мин / min	45 мин / min
РП	SD	±1,9	±2,0	±1,9	±0,9
	RSD, %	3,8	3,4	2,5	1,1
ВЛС1	SD	±1,8	±2,2	±1,2	±0,7
	RSD, %	10,1	6,1	1,8	0,9
ВЛС2	SD	±2,0	±3,5	±1,5	±1,1
	RSD, %	3,2	5,0	1,8	1,3
ВЛС3	SD	±2,3	±1,4	±1,7	±1,6
	RSD, %	7,5	4,0	3,3	2,7

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение; РП – референтный препарат тиоктовой кислоты; ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3 – воспроизведенные препараты тиоктовой кислоты различных производителей.

Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation; РП – reference thioctic acid product; ВЛС1, ВЛС2 and ВЛС3 – multi-source thioctic acid products by different manufacturers.

может в сравнительно короткие сроки разрешить вопросы биоэквивалентности, по крайней мере, сразу выявить препараты, характеристики которых не соответствуют характеристикам референтного лекарственного средства. В результате проведенного *in vitro* исследования наблюдалось отличие кинетики растворения препаратов тиоктовой кислоты. Препарат ВЛС2 был сопоставим в изученных средах растворения с препаратом сравнения. Наибольшее отличие профилей растворения наблюдалось в среде растворения с pH 1,20 ± 0,05, особенно в точках отбора проб 10 и 15 мин, в которых результат высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов ВЛС1 и ВЛС3 ниже, чем у РП. При наличии этих данных можно ожидать сниженного уровня действующего вещества в системном кровотоке, а следовательно, отличающегося профиля эффективности и безопасности препаратов по сравнению с РП. Тиоктовая кислота относится к препаратам с плохой растворимостью и тем самым критической биодоступностью, которая связана с очень высокой вариабельностью абсорбции, что было доказано для содержащих тиоктовую кислоту ЛС [1]. При низкой абсорбции, достаточной для терапевтического эффекта, уровень ТК в плазме не может быть достигнут. Также нецелесообразно увеличивать дозу перорального препарата ТК из-за дозозависимых побочных эффектов ТК со стороны желудочно-кишечного тракта [1]. Наибольшее отличие профилей растворения наблюдалось в среде растворения с pH 1,20 ± 0,05, особенно

в точках отбора проб 10 и 15 мин, в которых результат высвобождения тиоктовой кислоты из препаратов ВЛС1 и ВЛС3 ниже, чем у РП. При наличии этих данных можно ожидать сниженного уровня действующего вещества в системном кровотоке, а следовательно, отличающегося профиля эффективности и безопасности препаратов.

Причинами различия кинетики растворения препаратов тиоктовой кислоты, относящейся ко 2-му классу по биофармацевтической классификации (БКС) [15], могут быть расхождения в растворимости действующих веществ вследствие гетерогенности физико-химических свойств и агрегатного состояния, а также состава вспомогательных веществ и технологии производства. Состав ядра и пленочной оболочки исследуемых препаратов тиоктовой кислоты представлены в таблице 4. Следует отметить, что к возникновению нежелательных реакций у пациентов с лактазной недостаточностью может приводить наличие лактозы в составе вспомогательных веществ.

Для лекарственных средств 2-го класса по БКС исследования по тесту «Растворение» являются допустимой альтернативой фармакокинетическим исследованиям, однако наблюдаемые расхождения в кинетике растворения изучаемых веществ требуют дополнительных клинических исследований для подтверждения терапевтической эквивалентности воспроизведенных препаратов тиоктовой кислоты.

Таблица 4. Вспомогательные вещества в составе ядра и пленочной оболочки препаратов тиоктовой кислоты

Table 4. Excipients in the tablet core and film coating of thioctic acid medicinal products

Препарат (условное обозначение) <i>Medicinal product (code)</i>	Вспомогательные вещества ядра <i>Tablet core excipients</i>	Вспомогательные вещества оболочки пленочной <i>Film coating excipients</i>
РП	Гипролоза низкозамещенная 157 мг, гипролоза 20 мг, магния стеарат 0,24 мг <i>Low-substituted hydroxypropyl cellulose, 157 mg; hydroxypropyl cellulose, 20 mg; magnesium stearate, 0.24 mg</i>	Гипромеллоза 15,8 мг, макрогол 6000 4,7 мг, титана диоксид 4 мг, тальк 2,02 мг, алюминиевый лак на основе красителя хинолиновый желтый 1,32 мг, алюминиевый лак на основе индигокармина 0,16 мг <i>Hypromellose, 15.8 mg; macrogol 6000, 4.7 mg; titanium dioxide, 4 mg; talc, 2.02 mg; quinoline yellow aluminium lake, 1.32 mg; indigocarmine aluminium lake, 0.16 mg</i>
ВЛС1	Кальция стеарат 31 мг, крахмал картофельный 27,4 мг, кремния диоксид коллоидный 27,6 мг, кроскармеллоза натрия 49,6 мг, лактозы моногидрат 232 мг, повидон К-30 65,2 мг, целлюлоза микрокристаллическая 167,2 мг <i>Calcium stearate, 31 mg; potato starch, 27.4 mg; colloidal silicon dioxide, 27.6 mg; croscarmellose sodium, 49.6 mg; lactose monohydrate, 232 mg; povidone K-30, 65.2 mg; microcrystalline cellulose, 167.2 mg</i>	Опадрай желтый 40 мг: гипромеллоза 13,6 мг, гипролоза 14 мг, титана диоксид 10,74 мг, краситель железа оксид желтый 1,652 мг, краситель солнечный закат желтый 0,008 мг <i>Opadry yellow, 40 mg: hypromellose, 13.6 mg; hydroxypropyl cellulose, 14 mg; titanium dioxide, 10.74 mg; iron oxide yellow, 1.652 mg; sunset yellow, 0.008 mg</i>
ВЛС2	Гипролоза низкозамещенная 108,88 мг, гипролоза 28,04 мг, магния стеарат 20,025 мг, кремния диоксид коллоидный 20,025 мг, кроскармеллоза натрия 24,03 мг <i>Low-substituted hydroxypropyl cellulose, 108.88 mg; hydroxypropyl cellulose, 28.04 mg; magnesium stearate, 20.025 mg; colloidal silicon dioxide, 20.025 mg; croscarmellose sodium, 24.03 mg</i>	Опадрай желтый 28 мг: гипромеллоза 15,8 мг, макрогол 6000 4,7 мг, титана диоксид 5,27 мг, тальк 2,019 мг, алюминиевый лак на основе хинолинового желтого (Е104) 0,162 мг, краситель железа оксид желтый (Е172) 0,048 мг <i>Opadry yellow, 28 mg: hypromellose 15.8 mg, macrogol 6000, 4.7 mg; titanium dioxide, 5.27 mg; talc, 2.019 mg; quinoline yellow aluminium lake (E104), 0.162 mg; iron oxide yellow (E172), 0.048 mg</i>
ВЛС3	Магния стеарат 12 мг, кремния диоксид коллоидный 18 мг, кроскармеллоза натрия 24 мг, лактозы моногидрат 60 мг, повидон К-30 21 мг, целлюлоза микрокристаллическая 165 мг <i>Magnesium stearate, 12 mg; colloidal silicon dioxide, 18 mg; croscarmellose sodium, 24 mg; lactose monohydrate, 60 mg; povidone K-30, 21 mg; microcrystalline cellulose, 165 mg</i>	Парафин жидкий 3 мг, опадрай желтый 12 мг: гипромеллоза 6,597 мг, титана диоксид (Е171) 3,91 мг, краситель хинолиновый желтый (Е104) 0,075 мг, натрия лаурилсульфат 0,7096 мг, парафин жидкий 0,676 мг, краситель солнечный закат желтый 0,029 мг <i>Liquid paraffin 3 mg, opadry yellow, 12 mg: hypromellose, 6.597 mg; titanium dioxide (E171), 3.91 mg; quinoline yellow (E104), 0.075 mg; sodium lauryl sulfate, 0.7096 mg; liquid paraffin, 0.676 mg; sunset yellow, 0.029 mg</i>

Примечание. РП – референтный препарат тиоктовой кислоты; ВЛС1, ВЛС2 и ВЛС3 – воспроизведенные препараты тиоктовой кислоты различных производителей.

Note. РП – reference thioctic acid product; ВЛС1, ВЛС2 and ВЛС3 – multisource thioctic acid products by different manufacturers.

Закключение

Для получения сопоставимого терапевтического эффекта воспроизведенные лекарственные средства должны быть фармацевтически, фармакокинетически (биологически) и терапевтически эквивалентны референтному препарату.

При изучении сравнительной кинетики растворения трех воспроизведенных препаратов тиоктовой кислоты на основании расчета фактора сходимости (f_2) был отмечен эквивалентный профиль растворения препаратов ВЛС2 и ВЛС3 при pH 6,8 (высвобождение субстанции более 85% через 15 мин) и неэквивалентный профиль растворения препарата ВЛС1 (f_2 составил 28).

В среде растворения с pH 1,2 величина фактора сходимости для препаратов ВЛС1 и ВЛС3 соста-

вила 31 и 23 соответственно, что свидетельствует о неэквивалентности данных лекарственных средств. Более медленное (45 мин) и неполное (59,9–76,7%) высвобождение в среде с pH 1,2 может означать и более низкую клиническую эффективность и безопасность этих препаратов.

На основании полученных данных из трех воспроизведенных препаратов тиоктовой кислоты только воспроизведенный препарат ВЛС2 может служить сопоставимой альтернативой референтному препарату РП.

Причиной неэквивалентности кинетики растворения исследуемых препаратов тиоктовой кислоты могут быть особенности технологии производства воспроизведенных аналогов и различия в составе вспомогательных компонентов препаратов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Журавлева МВ, Кулес ВГ, Городецкая ГИ, Прокофьев АБ, Сереброва СЮ, Черных ТМ и др. Клинико-фармакологические аспекты применения тиоктовой кислоты у пациентов с сахарным диабетом типа 2. *Врач*. 2015;(12):41–6. [Zhuravleva MV, Kules VG, Gorodetskaya GI, Prokofiev AB, Serebrova SYu, Chernykh TM, et al. Clinical and pharmacological aspects of the use of thioctic acid in patients with type 2 diabetes mellitus. *Vrach = Doctor*. 2015;(12):41–6 (In Russ.)]
2. Пизова НВ. Основные формы диабетических нейропатий. *Consilium Medicum*. 2018;20(4):36–42. [Pizova NV. Main types of diabetic neuropathies. *Consilium Medicum = Consilium Medicum*. 2018;20(4):36–42 (In Russ.)] https://doi.org/10.26442/2075-1753_2018.4.36-42
3. Watkins P, Thomas P. Diabetes mellitus and the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1998;65(5):620–32.
4. Кольцова ЕА, Ковражкина ЕА, Стаховская ЛВ. Эффективность препаратов альфа-липоевой кислоты в лечении диабетической полинейропатии. *Трудный пациент*. 2017;15(10–11):25–9. [Koltsova EA, Kovrazhkina EA, Stakhovskaya LV. Effectiveness of alpha-lipoic acid preparations in the treatment of diabetic polyneuropathy. *Trudny patsient = Difficult Patient*. 2017;15(10–11):25–9 (In Russ.)]
5. Балаболкин МИ, Креминская ВМ, Клебанова ЕМ. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами α -липоевой кислоты. *Проблемы эндокринологии*. 2005;51(3):22–32. [Balabolkin MI, Kreminskaya VM, Klebanova EM. A role of oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy and the possibility of its correction with α -lipoic acid preparations. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*. 2005;51(3):22–32 (In Russ.)]
6. Canosa S, Paschero C, Carosso A, Leoncini S, Mercaldo N, Gennarelli G, et al. Effect of combination of myo-inositol, alpha-lipoic acid, and folic acid on oocyte morphology and embryo morphokinetics in non-PCOS overweight/obese patients undergoing IVF: a pilot, prospective, randomized study. *J Clin Med*. 2020;9(9):2949. <https://doi.org/10.3390/jcm9092949>
7. Haghighatdoost F, Gholami A, Hariri M. Alpha-lipoic acid effect on leptin and adiponectin concentrations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Pharmacol*. 2020;76(5):649–57. <https://doi.org/10.1007/s00228-020-02844-w>
8. Львова АА, Шохин ИЕ, Раменская ГВ, Кузина ВН. Современный взгляд на взаимозаменяемость лекарственных средств. *Биофармацевтический журнал*. 2016;8(4):3–6. [Lvova AA, Shokhin IE, Ramenskaya GV, Kuzina VN. A modern view on the interchangeability of medicines. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal = Biopharmaceutical Journal*. 2016;8(4):3–6 (In Russ.)]
9. Ikuta N, Tanaka A, Otsubo A, Ogawa N, Yamamoto H, Mizukami T, et al. Spectroscopic studies of R(+)- α -lipoic acid–cyclodextrin complexes. *Int J Mol Sci*. 2014;15(11):20469–85. <https://doi.org/10.3390%2Fijms151120469>
10. Гребенкин ДЮ, Станисhevский ЯМ, Шохин ИЕ, Малашенко ЕА. Ретроспектива развития науки о растворении твердых дозированных лекарственных форм (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016;(4):158–66. [Gribenkin DYu, Stanishevsky YaM, Shokhin IE, Malashenko EA. Retrospective of dissolution test of solid dosage forms (review). *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh form = Drug Development and Registration*. 2016;(4):158–66 (In Russ.)]
11. Соколов АВ, Белоусов ЮБ, Зырянов СК, Нечаева ЕБ, Милкина СЕ. Пути обеспечения качества и безопасности генерических лекарственных препаратов. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2012;(1):43–9. [Sokolov AV, Belousov YuB, Zyryanov SK, Nechaeva EB, Milkina SE. Ways to ensure the quality and safety of generic drugs. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2012;(1):43–9 (In Russ.)]
12. Moore W, Flanner HH. Mathematical comparison of curves with an emphasis on in vitro dissolution profiles. *Pharm Tech*. 1996;20(6):64–74.
13. Pop AL, Crisan S, Bărcă M, Ciobanu A-M, Varlas BN, Pop C, et al. Evaluation of dissolution profiles of a newly developed solid oral immediate-release formula containing alpha-lipoic acid. *Processes*. 2021;9(1):176–97. <https://doi.org/10.3390/pr9010176>
14. Brufani M, Figliola R. (R)- α -lipoic acid oral liquid formulation: pharmacokinetic parameters and therapeutic efficacy. *Acta Biomed*. 2014;85(2):108–15. PMID: 25245645
15. Carbone C, Arena E, Pepe V, Prezzavento O, Cacciatore I, Turkez H, Puglisi G. Nanoencapsulation strategies for the delivery of novel bifunctional antioxidant/ σ 1 selective ligands. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017;155:238–47. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.04.016>

Вклад авторов. Г.Ф. Василенко — проведение аналитического этапа исследования, разработка и валидация биоаналитической методики; Л.М. Красных — проведение статистической обработки и анализ полученных данных; М.В. Журавлева — планирование исследования, решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи; А.Б. Прокофьев — критический пересмотр текста и одобрение окончательного варианта рукописи для публикации; Г.И. Городецкая — анализ данных научной литературы, редактирование текста рукописи; В.В. Смирнов — поиск, обобщение данных литературы; Н.Д. Бунятян — осуществление научного руководства исследованием, анализ полученных данных. Все авторы принимали активное участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. А.Б. Прокофьев и Н.Д. Бунятян являются членами редколлегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Galina F. Vasilenko — execution of the analytical stage of the study, development and validation of the bioanalytical procedure; Lyudmila M. Krasnykh — statistical processing and analysis of the data obtained; Marina V. Zhuravleva — study planning, solution of issues related to data reliability and article integrity; Alexey B. Prokofiev — critical review and approval of the final version of the manuscript for publication; Galina I. Gorodetskaya — analysis of scientific literature data, editing of the text of the manuscript; Valery V. Smirnov — search and consolidation of literature data; Natalia D. Bunyatyan — scientific management of the study, analysis of the data obtained. All authors took active part in the discussion of the results and writing of the text.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Conflict of interest. Aleksey B. Prokofiev and Natalia D. Bunyatyan are members of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Василенко Галина Федоровна, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7940-1664>
vasilenko@expmed.ru

Красных Людмила Михайловна, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3650-6014>
krasnyh@expmed.ru

Журавлева Марина Владимировна, д-р мед. наук, профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9198-8661>
zhuravleva@expmed.ru

Прокофьев Алексей Борисович, д-р мед. наук, профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7024-5546>
prokofiev@expmed.ru

Городецкая Галина Ивановна.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-3323>
gorodetskaya@expmed.ru

Смирнов Валерий Валерьевич, д-р фарм. наук, доцент.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8232-6682>
smirnov@expmed.ru

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, профессор.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
Bunyatyan@expmed.ru

Galina F. Vasilenko, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7940-1664>
vasilenko@expmed.ru

Lyudmila M. Krasnykh, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3650-6014>
krasnyh@expmed.ru

Marina V. Zhuravleva, Dr. Sci. (Med.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9198-8661>
zhuravleva@expmed.ru

Aleksey B. Prokofiev, Dr. Sci. (Med.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7024-5546>
prokofiev@expmed.ru

Galina I. Gorodetskaya.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-3323>
gorodetskaya@expmed.ru

Valery V. Smirnov, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8232-6682>
smirnov@expmed.ru

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
Bunyatyan@expmed.ru

Статья поступила 23.07.2021

После доработки 28.04.2022

Принята к печати 07.06.2022

Article was received 23 July 2021

Revised 28 April 2022

Accepted for publication 7 June 2022



Е.М. Рычихина

Подготовка Модуля 1 регистрационного досье на лекарственное средство по процедуре ЕАЭС

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

✉ **Рычихина Екатерина Михайловна**; richikhina@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Законодательство Евразийского экономического союза (ЕАЭС) содержит все необходимые требования и инструменты для реализации единого подхода к подготовке Модуля 1 электронного регистрационного досье в формате общего технического документа для государств признания, однако в разных государствах-членах подходы и рекомендации заявителю отличаются. Это создает значительную неопределенность и увеличивает нагрузку на заявителей при проведении регистрационных процедур. Разработка проекта руководства по подготовке Модуля 1 для государств признания позволит устранить значительное «серое пятно» в нормативной правовой базе ЕАЭС, поскольку в настоящее время регуляторные органы государств – членов ЕАЭС не имеют единой позиции по вопросу предоставления страноспецифичных документов. Наиболее успешным опытом правоприменения в этом вопросе представителями фармацевтической отрасли признан опыт Российской Федерации, и именно его предлагается транслировать на общий рынок ЕАЭС.

Ключевые слова: регистрационное досье; Модуль 1; лекарственные средства; государства признания; страноспецифичные документы

Для цитирования: Рычихина Е.М. Подготовка Модуля 1 регистрационного досье на лекарственное средство по процедуре ЕАЭС. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):341–347. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-467>

Е.М. Rychikhina

Preparation of Module 1 of the Registration Dossier According to the EAEU Procedure

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

✉ **Ekaterina M. Rychikhina**; richikhina@expmed.ru

ABSTRACT

The legislation of the Eurasian Economic Union (EAEU) includes all the necessary requirements and tools to implement a unified approach to preparing Module 1 of the electronic Common Technical Document (eCTD) for the concerned member states (CMSs). However, the approaches to the matter and the recommendations provided to applicants differ across member states. This causes significant ambiguity and imposes an excessive burden on the applicants. Drafting of a guideline on preparation of eCTD Module 1 for the CMSs will allow for tackling this important grey area in the EAEU regulatory framework, as regulatory authorities

are lacking consensus on country-specific submissions. Currently, pharmaceutical industry stakeholders consider the Russian experience of implementing the legislation in question the most successful, so it is proposed to convey this experience to the common market of the EAEU.

Key words: registration dossier; Module 1; medicines; concerned member state; country-specific documents

For citation: Rychikhina E.M. Preparation of Module 1 of the registration dossier according to the EAEU Procedure. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):341–347. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-467>

В связи с необходимостью гармонизации подходов к проведению экспертизы регистрационных досье лекарственных препаратов в государствах — членах Евразийского экономического союза (ЕАЭС) при федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) в начале 2022 г. был создан Координационный экспертный совет, в который вошли представители экспертных организаций ЕАЭС. В состав Координационного экспертного совета вошли по 4 представителя от 5 организаций: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» Комитета медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан, АОЗТ «Научный центр экспертизы лекарств и медицинских технологий имени академика Э. Габриеляна» (Республика Армения), Департамента лекарственных средств и медицинских изделий

при Министерстве здравоохранения Кыргызской Республики. Стороны справедливо полагают, что подобный формат сотрудничества будет способствовать оперативному и эффективному поиску решений, связанных с выработкой единых подходов в области экспертизы лекарственных средств на территории ЕАЭС.

В соответствии с положениями Правил регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденных Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 (далее — Правила), регистрационное досье (общий технический документ, ОТД), в том числе в электронном виде, состоит из пяти модулей. Требования к документам, входящим в состав регистрационного досье, приведены в Приложении 1 к Правилам (рис. 1).

В Правила включены все необходимые требования и инструменты для реализации единого подхода к подготовке электронной версии Модуля 1 для государств признания (государство-член, в котором лекарственный препарат зарегистрирован (регистраруется) с проведением экспертизы, включающей оценку экспертного отчета по безопасности, эффективности



Рис. 1. Принципиальная схема организации общего технического документа. ОТД — общий технический документ; M1–M5 — Модули 1–5 регистрационного досье

и качества лекарственного препарата, подготовленного референтным государством). Несмотря на это в разных государствах-членах подходы по подготовке документации заявителю несколько различаются, что создает неопределенность и увеличивает нагрузку на заявителей при проведении регистрационных процедур. Кроме того, экспертные организации государств-членов, за исключением Российской Федерации, не предоставляют заявителям соответствующих рекомендаций. Таким образом, необходимость распространения правоприменительного опыта подготовки Модуля 1 регистрационного досье ЕАЭС в электронном виде для государства признания стала очевидной.

Принимая во внимание обращения ассоциаций фармацевтических производителей по вопросу возможной унификации подхода к формированию Модуля 1 регистрационного досье ЕАЭС в электронном виде для государства признания, а также по вопросу распространения подхода Российской Федерации на все государства – члены ЕАЭС, эксперты ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России выразили готовность поделиться с коллегами своим более чем полуторалетним опытом правоприменения в Российской Федерации. В марте 2022 г. этот вопрос был вынесен на заседание Координационного экспертного совета и концептуально согласован всеми членами совета. Проект соответствующего руководства был подготовлен представителями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, и на очередном заседании Координационного экспертного совета в мае 2022 г. было принято решение направить его в Евразийскую экономическую комиссию (ЕЭК) для дальнейшего обсуждения в рамках рабочей группы.

В Российской Федерации количество экспертиз регистрационного досье на лекарственное средство, проводимых по правилам ЕАЭС, даже с учетом низкой активности заявителей в рамках процедуры ЕАЭС, значительно превышает объемы работы всех экспертных учреждений остальных государств-членов. Внутренняя политика ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России формируется таким образом, чтобы экспертная деятельность осуществлялась исключительно в рамках утвержденных процедур и установленных сроков, а оптимизация работы экспертов проводилась с учетом требований нормативной правовой базы.

При разработке памятки для заявителей о подготовке электронной версии Модуля 1 в государстве признания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава

России исходило из требований, уже установленных в Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденных Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78, Требований к электронному виду заявлений и документов регистрационного досье, представляемых при осуществлении регистрации и экспертизы лекарственных препаратов для медицинского применения, утвержденных Решением Коллегии ЕЭК от 30.06.2017 № 79, и других нормативных правовых актов, обязательных к исполнению на территории государств – членов ЕАЭС.

Проектом руководства, направленного в ЕЭК, предусматривается концепция рассмотрения электронного Модуля 1 в государстве признания как очередной версии электронного регистрационного досье, которая содержит только те документы, которые в рамках признания являются страноспецифичными.

В соответствии с действующей редакцией Правил электронный ОТД (далее – эОТД) состоит из 5 модулей, при этом Модуль 1 специфичен для каждого государства-члена, а Модули 2–5 являются общими для всех государств-членов. Необходимо принимать во внимание, что не все документы Модуля 1 могут быть специфичными для государств-членов.

В соответствии с требованиями Правил экспертиза лекарственного препарата в государстве (государствах) признания осуществляется в том числе путем рассмотрения заявления, документов и сведений, представленных в регистрационном досье, доступ к которому предоставляется референтным государством (государство-член, осуществляющее подготовку экспертного отчета об оценке безопасности, эффективности и качества лекарственного препарата на основании экспертизы лекарственного препарата). При этом Модуль 1 эОТД, предоставляемый в государство (государства) признания в электронном виде, должен содержать только документы, специфичные для государств-членов. В проекте руководства в соответствии с положениями совокупности нормативных правовых актов ЕАЭС приведен примерный перечень страноспецифичных документов с комментариями об обязательности или допустимости их предоставления. Перечень не является исчерпывающим, заявитель вправе с обоснованием необходимости представить в государство признания другие документы, которые он считает страноспецифичными для государств-членов.

Досье

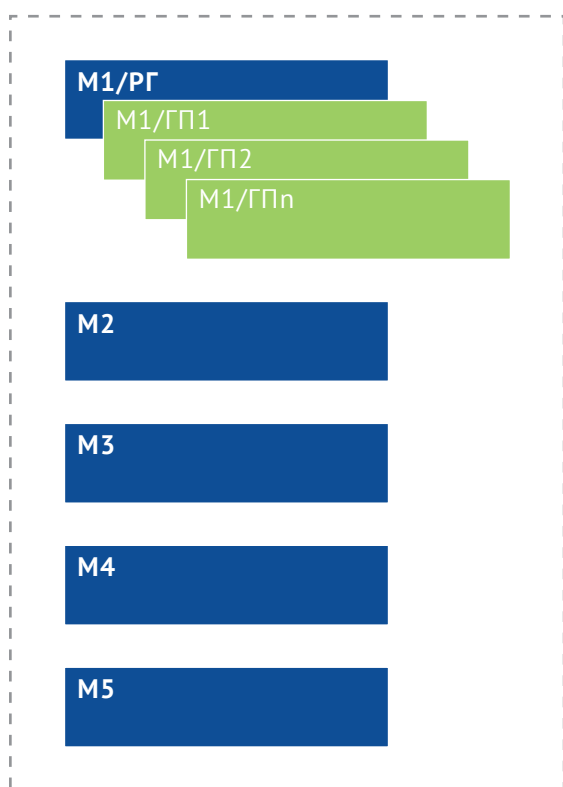


Рис. 2. Блок-схема электронного общего технического документа для референтного государства и государств признания. M1/РГ – Модуль 1, представленный в составе досье референтного государства; M1/ГП1 – Модуль 1, представляемый заявителем в государство признания № 1; M1/ГП2 – Модуль 1, представляемый заявителем в государство признания № 2; M1/ГПn – Модуль 1, представляемый заявителем в государство признания № n; M2–M5 – Модули 2–5 регистрационного досье

В целях соблюдения целостности, неизменности, актуальности, достоверности и версионности ЭОТД в ходе его жизненного цикла, когда заявитель предоставляет первичные версии (последовательности) ЭОТД в уполномоченные органы (экспертные организации) государств – членов ЕАЭС, а затем последовательно или параллельно вносит изменения в них, необходимо рассматривать Модуль 1 для разных государств в качестве разных экземпляров Модуля 1, изолированных друг от друга, в которых допускается предоставление различного набора документов, специфичных для государств-членов, с учетом статуса государств-членов (референтное государство или государство признания) (рис. 2).

Для изоляции модулей друг от друга используется атрибут `csdo:UnifiedCountryCode`, являющийся обязательным в структуре электронного документа R.022¹ и не допускающий множественности значений. Таким образом, один документ R.022 (XML) не может содержать одновременно документы для разных государств – членов ЕАЭС. Необходимо принять во внимание следующее ограничение: операции, выполняемые над документами ЭОТД в структуре R.022, могут быть применены только к документам в рамках государства, указанного в атрибуте `csdo:UnifiedCountryCode`. Данное ограничение позволяет гарантировать изоляцию модулей разных государств – членов ЕАЭС на протяжении всего жизненного цикла регистрационного досье.

Также необходимо учитывать ограничение, налагаемое на последовательность номеров версий электронного досье: каждая новая подача должна иметь порядковый номер больше предыдущих в каждом из государств – членов ЕАЭС. При этом допускаются пропуски номеров и использование одного и того же номера для подачи в ведомства разных государств (параллельная подача).

Первичная версия (последовательность) Модуля 1 для государства признания должна содержать только те документы, которые являются специфичными для государства признания, поскольку именно государство признания имеет доступ к Модулю 1 референтного государства.

В проекте руководства приведены примеры заполнения Модуля 1 и использования их на практике, в частности, подачи документов в три государства ЕАЭС по процедуре взаимного признания (табл. 1).

В рассматриваемом примере регистрации (приведения регистрационного досье в соответствие с требованиями ЕАЭС) в качестве референтного государства заявителем выбрана Республика Казахстан. После одобрения одновременно подано заявление в государство признания: Российскую Федерацию и Республику Армения. Ответ на запрос Республики Армения предоставлен раньше, чем на запрос Российской Федерации.

¹ Структура документа в электронном виде «Сведения регистрационного дела или регистрационного досье лекарственного препарата» (R.022) предназначена для представления в электронном виде документов регистрационного дела или регистрационного досье лекарственного препарата в соответствии с приложениями № 4 и 5 к Правилам и утверждена Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 30.06.2017 № 79 «О Требованиях к электронному виду заявлений и документов регистрационного досье, представляемых при осуществлении регистрации и экспертизы лекарственных препаратов для медицинского применения».

Таблица 1. Пример подачи последовательностей (версий) электронного досье в три государства ЕАЭС по процедуре взаимного признания

Государства – члены ЕАЭС	Республика Казахстан (KZ)			Российская Федерация (RU)	Республика Армения (AM)		Российская Федерация (RU)	KZ RU AM	Республика Армения (AM)
Номер версии (подачи)	0000	0001	0002	0003	0004	0005	0006	0007	0008
Описание	Первоначальная подача в РГ	Ответ на запрос № 1 РГ (последняя версия, одобренная РГ)	Ответ на запрос № 2 РГ (последняя версия, одобренная РГ)	Подача в ГП1	Подача в ГП2	Ответ на запрос ГП2	Ответ на запрос ГП1	Внесение значения II типа, затрагивающего ОХЛП	Внесение незначимого изменения IА типа в ГП2, затрагивающего макеты на национальном языке
Модуль / государство	Допустимые операции (hcsdo:OperationAttribute)								
M1 / KZ	только new	любые	любые					любые	
M1 / RU	–	–	–	только new			любые	любые	
M1 / AM	–	–	–		только new	любые		любые	любые
M1 / BY									
M1 / KG									
M2 / KZ	только new	любые	любые					любые	
M3 / KZ	только new	любые	любые						
M4 / KZ	только new	любые	любые						
M5 / KZ	только new	любые	любые						
Количество XML R.022	1	1	1	1	1	1	1	3	1
Состав XML R.022	UnifiedCountryCode=KZ SubmissionSequence=0000	UnifiedCountryCode=KZ SubmissionSequence=0001	UnifiedCountryCode=KZ SubmissionSequence=0002	UnifiedCountryCode=RU SubmissionSequence=0003	UnifiedCountryCode=AM SubmissionSequence=0004	UnifiedCountryCode=AM SubmissionSequence=0005	UnifiedCountryCode=RU SubmissionSequence=0006	UnifiedCountryCode=KZ SubmissionSequence=0007	UnifiedCountryCode=AM SubmissionSequence=0008

Примечание. РГ – референтное государство, ГП – государство признания.

Ввиду необходимости соблюдения положений Решения Коллегии ЕЭК от 30.06.2017 № 79 «О Требованиях к электронному виду заявлений и документов регистрационного досье, представляемых при осуществлении регистрации и экспертизы лекарственных препаратов для медицинского применения» об указании сведения о каждом представлении досье (подаче, версии (последовательности предоставления досье: SubmissionSequence) в виде 4 арабских цифр, начиная с 0000) требуется принимать во внимание ограничение, указанное в разделе III настоящих требований.

В соответствии с положениями Приложения № 19 к Правилам, при внесении значимых изменений II типа заявитель одновременно представляет во все соответствующие органы (экспертные организации) заяв-

ление на внесение изменений согласно Приложению № 2 к Правилам на бумажном и (или) электронном носителе и документы, подтверждающие оплату сбора (пошлины) за внесение изменений в случаях и порядке, установленных в соответствии с законодательством государств-членов. При этом заявитель представляет в уполномоченный орган (экспертную организацию) референтного государства досье на изменение (уведомление), содержащее элементы, перечисленные в Дополнении IV. При необходимости и по согласованию с экспертной организацией заявитель представляет в уполномоченный орган (экспертную организацию) референтного государства образцы лекарственных препаратов, стандартные образцы активных фармацевтических субстанций и родственных примесей, специфические реагенты и другие материалы, необходимые для проведения лабораторных испытаний.

С учетом необходимости одновременного предоставления указанного заявления заявитель вправе предоставить Модуль 1 эОТД в виде версии (последовательности) Модуля 1 для государства признания с одним порядковым номером (табл. 2).

Вместе с тем в случае одновременной подачи заявления рекомендуется использовать порядковые номера версии (последовательности) Модуля 1 для государства признания (табл. 3).

Необходимо также учитывать рекомендации, указанные в разделе I Правил. Например, для Республики Армения (применительно к разбираемому случаю) в эОТД должны быть представлены данные, указанные в таблице 4.

Таким образом, утверждение проекта вышеуказанного руководства не потребует внесения изменений в Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденные Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78, и Требования к электронному виду заявлений и документов регистрационного досье, представляемых при осуществлении регистрации и экспертизы лекарственных препаратов для медицинского применения, утвержденные Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 30.06.2017 № 79, установит единый подход к формированию электронной версии Модуля 1 регистрационного досье для государств признания и позволит заявителям избежать выполнения различных, порой избыточных, требований в отдельных государствах — членах ЕАЭС.

Таблица 2. Пример предоставления Модуля 1 электронного общего технического документа в виде версии (последовательности) Модуля 1 для государства признания с одним порядковым номером

Государства — члены ЕАЭС	KZ RU AM
Номер версии (подачи)	0007
Описание	Внесение значимого изменения II типа, затрагивающего ОХЛП
Модуль / государство	Допустимые операции (hcsdo:OperationAttribute)
M1 / KZ	Любые
M1 / RU	Любые
M1 / AM	Любые
M1 / BY	
M1 / KG	
M2 / KZ	Любые
M3 / KZ	
M4 / KZ	
M5 / KZ	
Количество XML R.022	3
Состав XML R.022	UnifiedCountryCode=KZ SubmissionSequence=0007 UnifiedCountryCode=RU SubmissionSequence=0007 UnifiedCountryCode=AM SubmissionSequence=0007

Примечание. ОХЛП — общая характеристика лекарственного препарата.

Таблица 3. Пример использования порядковых номеров версии (последовательности) Модуля 1 электронного общего технического документа для государства признания

Государства – члены ЕАЭС	KZ	RU	AM
Номер версии (подачи)	0007	0008	0009
Описание	Внесение значимого изменения II типа, затрагивающего ОХЛП		
Модуль / государство	Допустимые операции (hcsdo:OperationAttribute)		
M1 / KZ	любые		
M1 / RU		любые	
M1 / AM			любые
M1 / BY			
M1 / KG			
M2 / KZ	любые		
M3 / KZ			
M4 / KZ			
M5 / KZ			
Количество XML R.022	1	1	1
Состав XML R.022	UnifiedCountryCode=KZ SubmissionSequence=0007	UnifiedCountryCode=RU SubmissionSequence=0008	UnifiedCountryCode=AM SubmissionSequence=0009

Примечание. ОХЛП – общая характеристика лекарственного препарата.

Таблица 4. Пример представления данных для Республики Армения

Код структурного элемента	Наименование документа (структурного элемента в электронный общий технический документ)	Примечание о необходимости предоставления документа в электронный общий технический документ	Код вида документа
1	Административная информация		
1.0	Сопроводительное письмо	Предоставление обязательно	01001
1.2.1	Заявление о регистрации лекарственного препарата для медицинского применения (приведении регистрационного досье лекарственного препарата в соответствие с требованиями ЕАЭС)	Предоставление обязательно	01002
1.2.2	Документ, подтверждающий оплату экспертных работ и (или) сбора (пошлины) за регистрацию в соответствии с законодательством государства – члена ЕАЭС	Предоставление обязательно	01005
1.3.1	Проекты общей характеристики лекарственного препарата, инструкции по медицинскому применению (листка-вкладыша) на русском языке	Допустимо только в случаях, если необходимо предоставление на языке государства-члена (в виде перевода) с учетом внесенных изменений	02001

ОБ АВТОРЕ / AUTHOR

Рычихина Екатерина Михайловна, канд. биол. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8728-2538>
richikhina@expmed.ru

Ekaterina M. Rychikhina, Cand. Sci. (Biol.).
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8728-2538>
richikhina@expmed.ru

Ведомости Научного центра экспертизы
средств медицинского применения

Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств



9 771991 291005