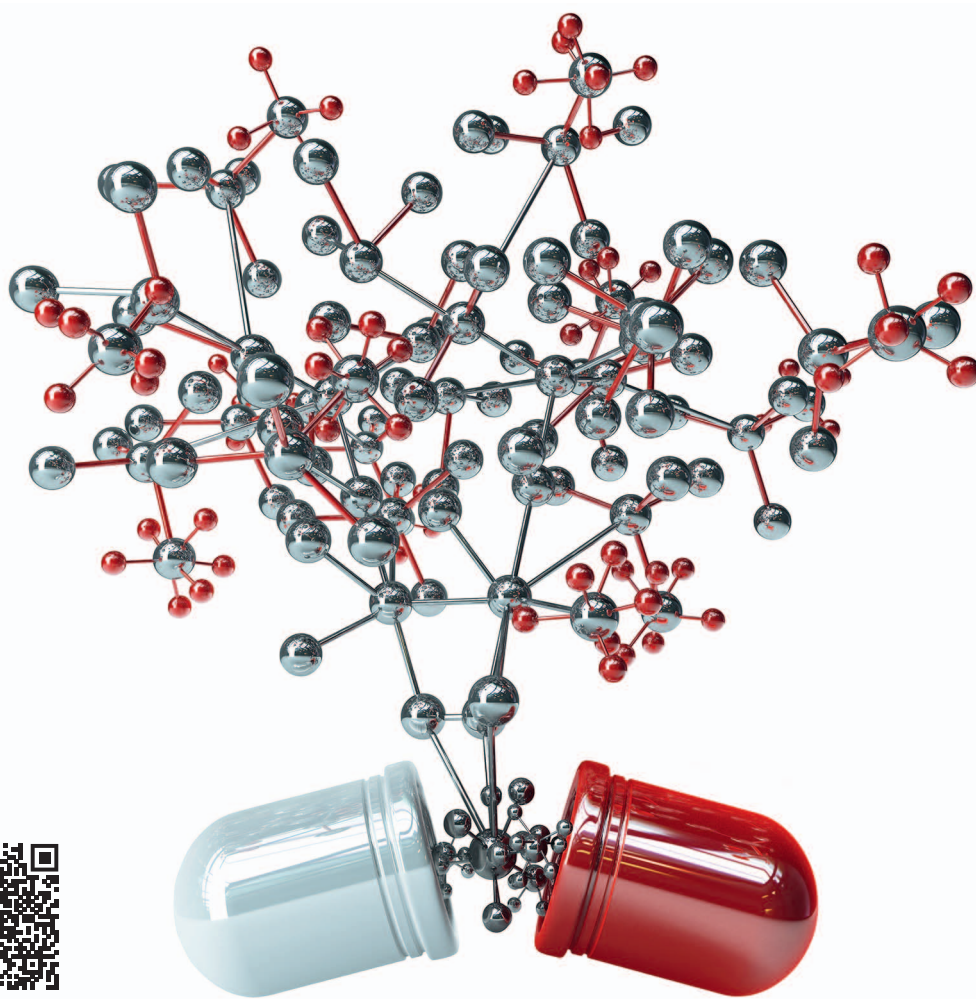


Том 16, № 2  
Vol. 16, No. 2  
2026

ISSN 3034-3062 (Print)  
ISSN 3034-3453 (Online)

# Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств



## ГЛАВНАЯ ТЕМА

Гармонизация фармакопейных стандартов:  
опыт Российской Федерации

## QR-гид: документы в мгновенном доступе

### Нормативные правовые акты, регулирующие вопросы стандартизации лекарственных средств



Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»



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



Приказ Минздрава России от 19.11.2013 № 857 «О Совете Министерства здравоохранения Российской Федерации по государственной фармакопее»



Официальный портал Фармакопеи ЕАЭС



Форум Государственной фармакопеи Российской Федерации



Решение от 22.09.2015 № 119 Коллегии Евразийской экономической комиссии «О Концепции гармонизации фармакопей государств – членов Евразийского экономического союза»



Соглашение о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза (заключено в г. Москве 23.12.2014)



Стратегия развития Фармакопеи Евразийского экономического союза на период 2024–2035 гг.



Приказ Минздрава России от 13.09.2024 № 468н «Об утверждении порядка разработки общих фармакопейных статей и фармакопейных статей и включения их в государственную фармакопею, а также порядка размещения данных о государственной фармакопее и приложениях к ней на официальном сайте Министерства здравоохранения Российской Федерации в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11.08.2020 № 100 «О Фармакопее 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/activity/normativnye-pravovye-akty-ls/>





## Уважаемые коллеги!

Тема «Гармонизация фармакопейных стандартов: опыт Российской Федерации», которой посвящен данный выпуск журнала, имеет не только научное, но и стратегическое значение. Стандартизация лекарственных средств лежит в основе формирования единого фармацевтического рынка ЕАЭС, обеспечения технологического суверенитета страны, а также повышения конкурентоспособности отечественных производителей.

Гармонизация фармакопейных стандартов представляет собой процесс сближения и унификации требований к качеству, безопасности и методам контроля лекарственных средств, закрепленных в национальных фармакопеях разных стран. Это не просто техническое согласование текстов, а создание единого правового поля, в котором методы анализа дают сопоставимые результаты независимо от того, в какой лаборатории они проводятся, критерии качества предъявляют одинаковые требования к субстанциям и готовым препаратам, а фармакопейные статьи становятся взаимопризнаваемыми, что устраняет необходимость повторных испытаний при регистрации в разных странах.

Российская Федерация активно участвует в международных инициативах по гармонизации фармакопей. Это позволяет нам не только заимствовать передовые методы, но и транслировать собственный опыт, укрепляя позиции отечественной регуляторной науки на международной арене.

В данном выпуске журнала на примере России рассматривается процесс унификации требований к качеству лекарственных средств в рамках ЕАЭС и международно-го сотрудничества. В номере представлены интервью с Е.Л. Ковалевой, директором Центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, и статьи ведущих специалистов по вопросам развития Государственной фармакопеи, сравнительного анализа фармакопейных требований к конкретным лекарственным средствам (лоперамид, метоклопрамид), а также материалы по разработке, валидации и трансферу микробиологических методик анализа, методам пептидного картирования в контроле качества моноклональных антител, мониторингу терапевтических препаратов, процедуре биовейвера.

Уверена, что материалы номера будут полезны всем, кто участвует в создании и совершенствовании системы обеспечения качества, эффективности и безопасности лекарственных средств.

*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 Ольга Федоровна**  
тел.: +7 (495) 121-06-00 (доб. 63-05)  
[Fedotovaof@expmed.ru](mailto:Fedotovaof@expmed.ru)

## Ответственный редактор тематического выпуска:

**Ковалева Елена Леонардовна**, д-р фарм. наук

## Научные редакторы:

**Хрущева Мария Леонидовна**, канд. хим. наук  
**Ершов Павел Викторович**, канд. биол. наук

## Редактор:

**Калиничев Сергей Анатольевич**, канд. фарм. наук

## Редактор перевода:

**Агафонищева Тамара Владимировна**

## Менеджер по развитию:

**Мжельский Александр Анатольевич**

## Адрес учредителя, издателя и редакции:

127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2  
тел.: +7 (499) 190-18-18 (доб. 63-42)  
[vedomosti@expmed.ru](mailto:vedomosti@expmed.ru)

[www.vedomostincesmp.ru](http://www.vedomostincesmp.ru)

Журнал основан в 1999 году.

Предыдущее название журнала:  
Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств (до мая 2024 г.).

Выходит шесть раз 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), RUSMED, его архив включен в базы крупнейших агрегаторов научных ресурсов и библиотек WorldCat, DOAJ, Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), КиберЛенинка, BASE, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, ЭБС ЛАНБ, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations и др.

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ – 0,533.

Входит в Единый государственный перечень научных изданий (ЕГПНИ) – «Белый список», а также 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 (категория К1).

В журнале освещаются передовые достижения в сфере 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, методические материалы, тематика которых соответствует медицинским, фармацевтическим и химическим 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 4.0)

Подписано в печать:	30.04.2026
Дата выхода в свет	14.05.2026
Подписной индекс	в каталоге «Пресса России» – 57942
	в каталоге агентства «Урал-Пресс» – 57942

© Оформление, составление. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2026

## Редакционная коллегия

### Главный редактор

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

### Заместители главного редактора

**Петров Владимир Иванович**, акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (Волгоград, Россия)

**Гравель Ирина Валерьевна**, д-р фарм. наук, проф., ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Москва, Россия)

**Рождественский Дмитрий Анатольевич**, канд. мед. наук, Департамент технического регулирования и аккредитации ЕЭК (Москва, Россия)

### Консультативный редакционный совет

**Астапенко Елена Михайловна**, канд. техн. наук, Минздрав России (Москва, Россия)

**Глаголев Сергей Владимирович**, Минздрав России (Москва, Россия)

**Дмитриев Виктор Александрович**, канд. мед. наук, Ассоциация российских фармацевтических производителей (Москва, Россия)

### Члены редакционной коллегии

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

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

**Гурина Наталия Сергеевна**, д-р биол. наук, проф., Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Республика Беларусь)

**Дурнев Андрей Дмитриевич**, акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (Москва, Россия)

**Егорова Светлана Николаевна**, д-р фарм. наук, проф., ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России (Казань, Россия)

**Звартау Эдвин Эдуардович**, д-р мед. наук, проф., ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**Ивкин Дмитрий Юрьевич**, канд. биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

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

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

**Кодина Галина Евгеньевна**, канд. хим. наук, доцент, ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

**Кошевенко Анастасия Сергеевна**, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

**Кузьмина Наталия Евгеньевна**, д-р хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

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

**Матуа Алиса Зауровна**, канд. биол. наук, НИИ экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии (Сухум, Республика Абхазия)

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

**Потанина Ольга Георгиевна**, д-р фарм. наук, проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)

**Сычев Дмитрий Алексеевич**, акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Москва, Россия)

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

**Тернинко Инна Ивановна**, д-р фарм. наук, доцент, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**Фарманова Нодира Тахировна**, д-р хим. наук, проф., Ташкентский фармацевтический институт (Ташкент, Республика Узбекистан)

**Чжао Вэньлун**, канд. мед. наук, «Синофарм» (Пекин, Китайская Народная Республика)

**Шиков Александр Николаевич**, д-р фарм. наук, проф., ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**Шимановский Николай Львович**, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

**Юсифова Джамиля Юсиф кызы**, д-р фарм. наук, Азербайджанский медицинский университет (Баку, Азербайджанская Республика)

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

<b>Регистрация</b>	Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-82931 от 14 марта 2022 г.
<b>Исполнитель</b>	ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5
<b>Типография</b>	ООО «Издательство «Триада»: 170034, Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 514
<b>Тираж</b>	50 экз. Цена свободная

# Regulatory Research and Medicine Evaluation

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](mailto:Fedotovaof@expmed.ru)

## Guest Editor for the Special Issue:

**Elena L. Kovaleva**, Dr. Sci. (Pharm.)

## Science Editors:

**Maria L. Khrushcheva**, Cand. Sci. (Chem.)  
**Pavel V. Ershov**, Cand. Sci. (Biol.)

## Editor:

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

## Translation Editor:

**Tamara V. Agafonycheva**

## Development Manager:

**Alexander A. Mzhelsky**

## Postal address of the founder, publisher, and editorial office:

8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051  
tel.: +7 (499) 190-18-18 (ext. 63-42)  
[vedomosti@expmed.ru](mailto:vedomosti@expmed.ru)

[www.vedomostincesmp.ru](http://www.vedomostincesmp.ru)

The journal was founded in 1999.

The journal was titled *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* until May 2024.

The journal is published six times per year.

This is an open-access journal indexed in Russian and international abstracting and indexing databases: Chemical Abstracts (CAS), Embase, Russian Index of Science Citation (RISC), Russian Science Citation Index (RSCI), and RUSMED, with the archive included in major aggregator databases, such as WorldCat, DOAJ, Russian State Library, Google Scholar, CyberLeninka, BASE, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lan' ELS, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations, etc.

The journal's two-year impact factor is 0.533.

The journal is included in the Unified State List of Scientific Publications ("White List") and the List of peer-reviewed scientific publications that the State Commission for Academic Degrees and Titles recommends for publishing the main scientific results of theses for 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, and approaches to the evaluation of medicinal products, including the assessment of medicines interchangeability. It discusses new sophisticated methods of preclinical and clinical research, relevant issues of pharmacology and clinical medicine, and rational use of medicines based on personalised medicine principles.

The journal publishes reviews and original articles, 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.

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

**Passed for printing:** 30.04.2026

**Date of publication:** 14.05.2026

**Subscription codes** Pressa Rossii catalogue: 57942

Ural-Press agency catalogue: 57942

© Compilation, design. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 2026

## Editorial Board

### Editor-in-Chief

**Valentina V. Kosenko**, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

### Deputy Editors-in-Chief

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

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

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

### Editorial Council

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

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

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

### Editorial Board Members

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

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

**Natalia S. Gurina**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Belarusian State Medical University (Minsk, Republic of Belarus)

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

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

**Edwin E. Zvartau**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia)

**Dmitry Yu. Ivkin**, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical 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)

**Galina E. Kodina**, Cand. Sci. (Chem.), Assoc. Prof., National Medical Research Radiological Centre (Moscow, Russia)

**Anastasia S. Koshevenko**, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

**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)

**Alisa Z. Matua**, Cand. Sci. (Biol.), Research Institute of Experimental Pathology and Therapy (Sukhum, Republic of Abkhazia)

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

**Olga G. Potanina**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Lomonosov Moscow State 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)

**Inna I. Terninko**, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint Petersburg, Russia)

**Nodira T. Farmanova**, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Tashkent Pharmaceutical Institute (Tashkent, Republic of Uzbekistan)

**Wenlong Zhao**, Ph.D., Sinopharm (Beijing, People's Republic of China)

**Alexander N. Shikov**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint Petersburg, Russia)

**Nikolay L. Shimanovskiy**, Corresponding Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

**Cemile Yu. Yusifova**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Azerbaijan Medical University (Baku, Republic of Azerbaijan)

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

<b>Registration</b>	The journal is registered as a mass medium by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications. Certificate PI No. FS77-82931 dated March 14, 2022
<b>Contract publisher</b>	NEICON ISP LLC: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow 115114
<b>Printing office</b>	Triada Publishing House: 9 Tchaikovsky Ave, office 514, Tver 170034
<b>Print run</b>	50 copies. Free price

# Содержание

Том 16, №2 2026

ГЛАВНАЯ ТЕМА:		ГАРМОНИЗАЦИЯ ФАРМАКОПЕЙНЫХ СТАНДАРТОВ: ОПЫТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
<i>Е.Л. Ковалева</i>	<b>128</b>	Единые мировые стандарты на лекарственные средства: миф или реальность?
<i>А.В. Яруткин, В.Л. Багирова</i>	<b>133</b>	Государственная фармакопея Российской Федерации: стандартизация лекарственных средств в условиях формирования единого фармацевтического рынка ЕАЭС
<i>А.Н. Новиченко, Е.Л. Ковалева, П.А. Онисько, К.С. Кочетов</i>	<b>139</b>	Сравнительный анализ требований к качеству лекарственных средств лоперамида гидрохлорида
<i>Л.И. Панова, Л. Изганина, А.С. Ворожейкин, О.Н. Зайцева</i>	<b>152</b>	Сравнительный анализ фармакопейных требований к качеству лекарственных средств метоклопрамида
<i>М.В. Карлина, В.М. Косман, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров</i>	<b>163</b>	Подходы к дизайну исследования фармакокинетики лекарственных средств в доклинических исследованиях (обзор)
<i>Н.Д. Дахма, Е.Т. Жиялова, Д.А. Фадеева, М.Д. Дахма, Р. Альрухаие, К.А. Никитин</i>	<b>179</b>	Процедура биоэквивалентности на основе биофармацевтической классификационной системы: регуляторные основания и границы научной интерпретации (обзор)
<i>С.И. Кулешова, Г.Ю. Романюк, Д.А. Шахова, С.А. Лисунова, С.А. Процак</i>	<b>190</b>	Определение активности ванкомицина микробиологическими методами
<i>С.Д. Рюмин, Р.Ш. Хазиев, А.В. Немтарев</i>	<b>198</b>	Спектрофотометрическое определение карвона в плодах и эфирном масле тмина обыкновенного: разработка и валидация методики
<i>М.А. Александров, О.Ю. Стрелова</i>	<b>206</b>	Определение гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье: разработка селективной хроматографической методики
<i>А.В. Попкова</i>	<b>215</b>	Пептидное картирование: современные подходы к разработке методик (обзор)
<i>О.В. Гунар, Н.Г. Сахно</i>	<b>229</b>	Трансфер микробиологических методик анализа качества лекарственных средств

# Contents

Volume 16, No. 2 2026

MAIN TOPIC:		HARMONISATION OF PHARMACOPOEIAL STANDARDS: EXPERIENCE OF THE RUSSIAN FEDERATION
<i>E.L. Kovaleva</i>	<b>128</b>	Unified global standards for medicines: Myth or reality?
<i>A.V. Yarutkin, V.L. Bagirova</i>	<b>133</b>	State Pharmacopoeia of the Russian Federation: Drug Standardization under Development of a Common EAEU Pharmaceutical Market
<i>A.N. Novichenko, E.L. Kovaleva, P.A. Onisko, K.S. Kochetov</i>	<b>139</b>	Comparative Analysis of Quality Requirements for Loperamide Hydrochloride Medicinal Products
<i>L.I. Panova, L. Izganina, A.S. Vorozheykin, O.N. Zaitseva</i>	<b>152</b>	Comparative Analysis of Pharmacopoeial Requirements for the Quality of Metoclopramide Medicinal Products
<i>M.V. Karlina, V.M. Kosman, M.N. Makarova, V.G. Makarov</i>	<b>163</b>	Approaches to Drug Pharmacokinetics Study Design in Preclinical Trials (Review)
<i>N.J. Dahma, E.T. Zhilyakova, D.A. Fadeeva, M.J. Dahma, R. Alrouhayyah, K.A. Nikitin</i>	<b>179</b>	Biowaiver Based on the Biopharmaceutical Classification System: Regulatory Basis and Limits of Scientific Interpretation (Review)
<i>S.I. Kuleshova, G.Yu. Romanyuk, D.A. Shakhova, S.A. Lisunova, S.A. Protsak</i>	<b>190</b>	Vancomycin Activity Assay Using Microbiological Methods
<i>S.D. Ryumin, R.Sh. Khaziev, A.V. Nemtarev</i>	<b>198</b>	Spectrophotometric Determination of Carvone in Caraway Fruits and Essential Oil: Development and Validation of an Analytical Procedure
<i>M.A. Aleksandrov, O.Yu. Strelova</i>	<b>206</b>	Quantitation of Dicamba Herbicide in Pharmaceutical Raw Materials: Developing a Selective Chromatographic Method
<i>A.V. Popkova</i>	<b>215</b>	Review of Current Approaches to the Development of Peptide Mapping Methods
<i>O.V. Gunar, N.G. Sakhno</i>	<b>229</b>	Transfer of Microbiological Methods for the Pharmaceuticals Quality Control



**Елена КОВАЛЕВА:**

**«Создание единых мировых стандартов качества лекарственных средств — это, скорее, стратегическая цель, чем вопрос ближайшего будущего»**

**Elena KOVALEVA:**

**“The creation of uniform global standards for the quality of medicines is more of a strategic goal than a matter for the near future”**

Е.Л. Ковалева

## **Единые мировые стандарты на лекарственные средства: миф или реальность?**

*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](mailto:kovaleva@expmed.ru)

### **РЕЗЮМЕ**

В интервью рассматриваются ключевые аспекты гармонизации фармакопейных стандартов на лекарственные средства в условиях глобализации фармацевтического рынка. Автор анализирует опыт международных организаций (ВОЗ, ICH, PDG) и оценивает реалистичность создания единых мировых стандартов качества. Особое внимание уделено процессу формирования Фармакопеи ЕАЭС, принципам унификации терминологии, разработке Номенклатуры лекарственных форм, а также методологическим различиям между ведущими фармакопеями (USP, Ph. Eur., BP, JP). Выявлены основные барьеры на пути к полной унификации: расхождения в подходах к идентификации, контролю примесей, нормированию содержания действующих веществ и проблеме взаимозаменяемости фармакопейных стандартных образцов. Делается вывод, что единый мировой стандарт качества остается долгосрочным ориентиром, тогда как региональная гармонизация в рамках ЕАЭС представляет собой эффективный и практичный этап сближения регуляторных требований.

**Ключевые слова:** фармакопея; лекарственные средства; гармонизация; стандарты качества; регуляторные органы

**Для цитирования:** Ковалева Е.Л. Единые мировые стандарты на лекарственные средства: миф или реальность? *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2026;16(2):128–132. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-128-132>

Elena L. Kovaleva

## Unified global standards for medicines: Myth or reality?

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

✉ Elena L. Kovaleva; [kovaleva@expmed.ru](mailto:kovaleva@expmed.ru)

### ABSTRACT

This interview examines key aspects of harmonizing pharmacopoeial standards for medicines in the context of a globalized pharmaceutical market. The author analyzes the experience of international organizations (WHO, ICH, PDG) and assesses the feasibility of creating uniform global quality standards. Particular attention is paid to the development of the EAEU Pharmacopoeia, the principles of terminology unification, the development of the Nomenclature of Dosage Forms, and the methodological differences between leading pharmacopoeias (USP, Ph. Eur., BP, JP). The main barriers to full unification are identified: discrepancies in approaches to identification, impurity control, standardization of active ingredient content, and the issue of interchangeability of pharmacopoeial standard samples. The author concludes that a uniform global quality standard remains a long-term goal, while regional harmonization within the EAEU represents an effective and practical step toward converging regulatory requirements.

**Keywords:** pharmacopoeia; medicinal products; harmonisation; quality standards; regulatory authorities

**For citation:** Kovaleva E.L. Unified global standards for medicines: Myth or reality? *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):128–132. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-128-132>

*Лекарственный рынок – один из самых глобализированных и одновременно наиболее строго регулируемых государствами секторов мировой экономики. В условиях, когда фармацевтическая продукция пересекает национальные границы, а цепочки поставок охватывают несколько континентов, стандартизация и гармонизация требований к качеству, эффективности и безопасности лекарственных средств приобретают особое значение.*

*Почему это важно для всех участников фармацевтического рынка? Потому, что для пациентов это гарантия получения качественных и эффективных препаратов независимо от страны производства; для регуляторов – устранение дублирования экспертиз, ускорение регистрации, повышение прозрачности процедур; для фарминдустрии – снижение издержек на разработку и регистрацию, упрощение выхода на новые рынки; наконец, для международной торговли – устранение технических барьеров, создание равных условий конкуренции.*

*Таким образом, гармонизация – это не унификация ради унификации, а выработка общих принципов, позволяющих разным регуляторным системам «говорить на одном языке». В этом контексте опыт международных организаций (ВОЗ, ICH, PDG) и региональных объединений (ЕАЭС) представляет особую ценность.*

*О текущем состоянии и перспективах гармонизации фармакопейных стандартов интервью с доктором фармацевтических наук, директором Центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, членом Фармакопейного комитета ЕАЭС и Совета Минздрава России по Государственной фармакопее Е.Л. КОВАЛЁВОЙ.*

**– Елена Леонардовна, лекарственный рынок является одним из самых глобальных. Почему так важно создать единые мировые стандарты на лекарственные средства и какие международные регуляторные организации в этом задействованы?**

Глобализация фармацевтического рынка делает необходимым сближение национальных регуляторных механизмов и фармакопейных стандартов. Это нужно прежде всего не только для обеспечения населения гарантированно качественными и эффективными препаратами, но и для устранения препятствий в международной торговле.

Гармонизация требований к качеству, эффективности и безопасности – задача, на решение которой направлена деятельность многих международных организаций: Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Международного совета по гармонизации требований к лекарственным препаратам для медицинского

применения (ICH), Фармакопейной дискуссионной группы (PDG), Европейского агентства лекарственных средств (EMA) и других организаций. К моменту образования Евразийского экономического союза (ЕАЭС) в 2015 г. уже был накоплен определенный международный опыт в этом направлении.

Важнейшие результаты работы ВОЗ в этой области включают Международную фармакопею, руководства по обеспечению качества, базу международных стандартных образцов, создание Надлежащей фармакопейной практики.

Международный совет по гармонизации также ведет плодотворную работу по разработке единых требований на всех этапах жизненного цикла лекарств. Членами этой организации являются EMA, FDA, Министерство здравоохранения Японии, а в качестве наблюдателей – ВОЗ, Министерство здравоохранения Канады и др.

Основная задача ICH – исключить дублирование исследований. ICH добился успехов в гармонизации формата регистрационного досье: его решения признаны многими странами, включая государства ЕАЭС. Многие фармакопейные требования, например по остаточным органическим растворителям, элементным, органическим и генотоксичным примесям, изначально были установлены в руководствах ICH и только потом включены в Фармакопею США (USP), Европейскую фармакопею (Ph. Eur.), а в последнее время – в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) и Фармакопею Евразийского экономического союза (ФЕАЭС).

**– Скажите, а какую роль в гармонизации играет Фармакопейная дискуссионная группа? Насколько успешен ее опыт?**

В 1989 г. руководители фармакопей США, Японии и ЕС организовали PDG с целью устранения фундаментальных различий в философии, политике и процедурах этих фармакопей. В 2023 г. к группе присоединилась Индийская фармакопея, а в 2024 г. кандидатом в члены официально объявлена Корейская фармакопея.

Таким образом, уже 36 лет Фармакопейная дискуссионная группа работает над общими монографиями на испытания и методы испытаний и частными монографиями на вспомогательные вещества. К сожалению, в среднем за год готовится не более трех гармонизированных монографий. При этом даже в согласованных статьях сохраняются отметки об особых требованиях для каждой из трех ведущих фармакопей, а некоторые разделы остаются «негармонизированными». Учитывая, что в каждой фармакопее

число статей превышает тысячи, процесс, похоже, растягивается на долгие годы.

В 2010 г. заявлялось о начале работы над pilotными монографиями на активные фармацевтические субстанции, но о положительных результатах так и не было объявлено.

**– Елена Леонардовна, как выстроена работа по гармонизации в Евразийском экономическом союзе? Какие принципы лежат в основе создания Фармакопеи ЕАЭС?**

В Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) деятельность по гармонизации требований к обеспечению качества, эффективности и безопасности лекарственных средств ведется параллельно по двум направлениям: по разработке единых требований к регулированию обращения лекарственных средств и созданию Фармакопеи ЕАЭС (ФЕАЭС).

Согласно ст. 30 Договора о Евразийском экономическом союзе (29.05.2014) государства-члены создают общий рынок лекарственных средств, основанный на принципах, в числе которых гармонизация и унификация законодательства в сфере обращения лекарственных средств; обеспечение единства обязательных требований к качеству, эффективности и безопасности лекарственных средств, находящихся в обращении на территории Союза; разработка и применение одинаковых или сопоставимых методов исследований и контроля. Нормативные правовые акты Евразийской экономической комиссии составляют базисный уровень стандартов, дополняя и конкретизируя положения Фармакопеи ЕАЭС.

Государственные фармакопеи Казахстана и Беларуси создавались на основе Европейской фармакопеи (Ph. Eur.). При этом в ряде статей сохранены национальные требования или полностью приведены национальные фармакопейные статьи. ГФ РФ XV изд. также в значительной степени ориентирована на Ph. Eur.

В Концепции гармонизации фармакопей ЕАЭС в качестве приоритетной заявлена Европейская фармакопея<sup>1</sup>, для USP и Британской фармакопеи (BP) установлен второй уровень приоритетности. Японская фармакопея (JP) не включена в число приоритетных, хотя в международной практике относится к числу ведущих фармакопей: она отличается менее строгими требованиями, но при этом японские препараты, безусловно, качественные, эффективные и безопасные.

**– Вопросы терминологии и классификации лекарственных форм – одни из самых сложных при гармонизации фармакопейных требований.**

<sup>1</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 22.09.2015 № 119 «О Концепции гармонизации фармакопеи государств – членов Евразийского экономического союза». <https://base.garant.ru/71199422/>

### Скажите, как они решаются в рамках создания Фармакопеи ЕАЭС?

Да, все верно, именно поэтому работа над ФЕАЭС изначально включала два ключевых направления:

- а) унификацию фармакопейной терминологии и создание глоссария фармакопейных терминов, т.е. создание единого «фармакопейного языка» для государств – членов ЕАЭС;
- б) подготовку общих фармакопейных статей на испытания, методы и методики анализа, лекарственные формы, группы лекарственных препаратов (моноклональные антитела, растительные лекарственные средства, радиофармацевтические лекарственные препараты и т.д.), упаковку и упаковочные материалы.

Незрывную связь нормативных правовых актов ЕЭК и ФЕАЭС можно проследить на таком примере. Одним из первых принятых документов по лекарственным препаратам стало Решение Коллегии ЕЭК № 172 об утверждении Номенклатуры лекарственных форм<sup>2</sup>. Необходимость стандартизации и унификации наименований лекарственных форм была обусловлена следующими причинами: отсутствием единых правил и моделей формирования наименований лекарственных форм, многовариантностью написания наименований лекарственных форм, а также несовместимостью информационно-поисковых систем по параметру «лекарственная форма» и отдельным документам.

Ранее воспроизведенные лекарственные препараты от разных производителей регистрировались с разными названиями одной и той же формы, например: «таблетки для рассасывания», «таблетки, диспергируемые в полости рта», «таблетки-лиофилизат». Номенклатура обеспечила единый подход к классификации. На ее основе разработаны соответствующие общие фармакопейные статьи, устанавливающие принципы формирования стандартов качества, что существенно облегчило работу заявителям при подготовке регистрационных досье и экспертам. Концепция выделения лекарственных форм в ФЕАЭС близка к USP. Фармакопея ЕАЭС:

- 1) устанавливает принципы классификации лекарственных форм в соответствии с номенклатурой;
- 2) предлагает стандартизованную и унифицированную терминологию лекарственных форм;
- 3) определяет принципы формирования стандартов качества для разных лекарственных форм и критерии включения показателей;

4) регламентирует использование методов анализа, критерии приемлемости и определяет интерпретацию результатов.

### – И на каком этапе сейчас находится работа над Фармакопеей ЕАЭС? Каков ее международный статус?

В настоящее время завершена работа над первым томом Фармакопеи ЕАЭС, включающим общие фармакопейные статьи по методам анализа и фармацевтико-технологическим испытаниям; общим требованиям к лекарственным формам и группам препаратов; биологическим, растительным и радиофармацевтическим лекарственным средствам; субстанциям для фармацевтического применения и упаковочным материалам. Следующий том будет посвящен частным монографиям на активные фармацевтические субстанции, вспомогательные вещества и готовые лекарственные препараты.

Что касается статуса Фармакопеи ЕАЭС, то она включена в Индекс фармакопей мира под эгидой ВОЗ как региональная фармакопея.

Вообще в настоящее время в мире насчитывается около 40 национальных и региональных фармакопей. В феврале 2025 г. в Дели состоялся 15-й Форум мировых фармакопей, в котором приняла участие и российская делегация. На форуме обсуждались вопросы возможности создания единых мировых стандартов и взаимозаменяемости фармакопейных стандартных образцов.

### – Насколько, на ваш взгляд, взаимозаменяемы фармакопейные стандартные образцы разных фармакопей?

Минули времена, когда разработчикам можно было указывать в методиках, что используются стандартные образцы «аналогичного качества». Сегодня взаимозаменяемость стандартных образцов должна быть обоснована и доказана проверкой применимости в условиях конкретной методики. Это требует дополнительных исследований, но именно такой подход обеспечивает достоверность результатов контроля качества.

### – Елена Леонардовна, понятно, что процессу гармонизации во многом препятствуют методологические различия. А вы можете назвать основные факторы, которые мешают созданию единых стандартов качества на лекарственные средства?

Вы правы: создание унифицированных требований к контролю качества активных фармацевтических субстанций (АФС) и лекарственных препаратов пока проблематично именно из-за различий в самой философии фармакопей.

<sup>2</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 22.12.2015 № 172 «Об утверждении Номенклатуры лекарственных форм». <https://www.consultant.ru/law/hotdocs/45550.html>

Даже для так называемых химических синтетических лекарственных средств малых молекул имеются существенные различия.

1. *Методы идентификации.* В ВР и USP для идентификации лекарственных препаратов используется метод ИК-спектрометрии, тогда как в ГФ РФ этот метод включен только в статьи на АФС. В Решении Коллегии ЕЭК от 2018 г. № 151<sup>3</sup> указано, что метод ИК-спектрометрии является специфичным и достаточным для идентификации препаратов, при этом в ВР и USP в монографиях на лекарственные препараты дополнительно к ИК-спектрометрии включают второй метод идентификации, например, метод ВЭЖХ.

2. *Альтернативные испытания.* Ph. Eur. и Международная фармакопея включают альтернативные методы идентификации АФС и препаратов.

3. *Стандартные спектры.* JP использует стандартные рисунки УФ-спектров, ВР и JP – ИК-спектров вместо стандартных образцов или наряду со стандартными образцами.

4. *Профили примесей.* Одноименные АФС/препараты в разных фармакопеях могут иметь разные способы синтеза/получения и, соответственно, отличающиеся профили примесей (качественный состав примесей и устанавливаемые пределы).

5. *Контроль примесей в препаратах.* USP и Ph. Eur. предусматривают контроль только продуктов деградации и технологических примесей ЛП, тогда как ВР – совместно с примесями синтеза АФС.

6. *Гибкий подход USP.* Включение разных методик и норм для контроля примесей в лекарственных средствах и показателя «Растворение» в препаратах с разным составом вспомогательных веществ. Традиционно фармакопея устанавливает один стандарт на лекарственное средство, но сегодня мы видим, что в USP требования разных производителей с учетом синтеза АФС, технологии получения, состава вспомогательных веществ в препарате становятся фармакопейными.

7. *Нормирование содержания действующего вещества в препарате.* 95–105% от заявленного в Ph. Eur. и ВР против 90–110% в USP, ГФ РФ и др.

Даже в гармонизированных монографиях PDG на вспомогательные вещества различия сохраняются: Ph. Eur. переносит часть испытаний в производственный контроль, тогда как USP включает их в спецификацию на вспомогательное вещество (например, контроль канцерогенных асбестовых примесей в тальке). Поскольку производство вспомогательных веществ пока не подлежит обязательному инспектированию по GMP, возникает вопрос: как гарантируется выполнение производственного контроля производителем вспомогательного вещества?

Таким образом, становится очевидно, что создание единых стандартов качества – вопрос не ближайшего будущего.

**– Известно, что ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России также участвует в работе по гармонизации стандартов качества. Скажите, в чем заключается это участие?**

ФГБУ «НЦЭСМП» активно участвует в работе по гармонизации стандартов качества и требований к обеспечению качества лекарственных средств. Это включает работу в Фармакопейном комитете ЕАЭС по созданию региональной ФЕАЭС и участие в рабочей группе по формированию общих подходов к регулированию обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС.

С 2012 года Научный центр участвует в заседаниях Экспертного комитета ВОЗ по спецификациям на лекарственные средства, отвечающего за разработку стандартов для Международной фармакопеи. С 2014 г. мы являемся постоянными участниками ежегодного Международного заседания фармакопей под эгидой ВОЗ, которое в этом году проводится уже в 16-й раз. В частности, Российская Федерация внесла непосредственный вклад в разработку руководства ВОЗ по Надлежащей фармакопейной практике и его приложений.

Научный центр также сотрудничает с Индийской фармакопеей, а в планах – развитие взаимодействия с Фармакопеей КНР.

В рамках деятельности по подготовке ФЕАЭС также проводится работа по приведению общих фармакопейных статей и фармакопейных статей в соответствие с гармонизированными PDG фармакопейными стандартами на вспомогательные вещества, испытания и методы испытаний.

Все это позволяет не только переносить международный опыт на «национальную почву», но и передавать свои наработки для внедрения в практику.





**– И все же, Елена Леонардовна, какой вывод можно сделать о перспективах глобальной гармонизации?**

Отвечу так: гармонизация – это не бинарный процесс «все или ничего», а постепенное сближение подходов. Пока что единые мировые стандарты – скорее, ориентир, чем реальность. Но движение в этом направлении уже приносит результаты: унифицированные форматы регистрационного досье, согласованные требования к примесям, общие принципы классификации. Главное – сохранять баланс между стремлением к глобальной совместимости и необходимостью учитывать специфику национальных требований.

*Беседовала Ольга Федотова*

<sup>3</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 07.09.2018 № 151 «Об утверждении Руководства по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата». <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71945170/>



А.В. Яруткин    
В.Л. Багирова  

## Государственная фармакопея Российской Федерации: стандартизация лекарственных средств в условиях формирования единого фармацевтического рынка 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*

✉ Яруткин Алексей Викторович; [Yarutkin@expmed.ru](mailto:Yarutkin@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ) является ключевым сводом обязательных требований к качеству лекарственных средств, при этом векторы ее развития не только основываются на совершенствовании правового поля, но также учитывают и основные тренды развития региональной фармакопеи – Фармакопеи Евразийского экономического союза (ЕАЭС). Необходимым условием для обеспечения устойчивого и последовательного совершенствования фармакопейных подходов и требований является проведение регулярного анализа актуального состояния фармакопеи и определение наиболее перспективных и востребованных направлений дальнейшего развития.

**ЦЕЛЬ.** Определение перспективных направлений развития Государственной фармакопеи Российской Федерации в условиях формирования единого фармацевтического рынка ЕАЭС.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Рассмотрены основные изменения в правовом поле на национальном и региональном (ЕАЭС) уровнях, в том числе обновленный Порядок разработки статей для ГФ РФ, содержащий прямое указание о необходимости учета требований Фармакопеи ЕАЭС при разработке российской фармакопеи, и Стратегия развития Фармакопеи ЕАЭС на период до 2035 г., содержащая базовые принципы, цель Стратегии, этапы ее реализации и необходимые мероприятия. Приведены актуальные сведения о составе ГФ РФ XV изд., а также предложены перспективные направления развития фармакопейных требований.

**ВЫВОДЫ.** С учетом основных трендов развития Фармакопеи ЕАЭС могут быть выделены следующие направления развития фармакопейных стандартов качества: актуализация номенклатуры и содержания общих фармакопейных статей на лекарственные формы лекарственных препаратов; распространение принципа гармонизации на сближение подходов с фармакопеями дружественных Российской Федерации государств; внедрение инструментальных, точных и селективных методов и методик, в том числе с целью замены испытаний с применением животных.

**Ключевые слова:** фармакопея; общие фармакопейные статьи; фармакопейные статьи; качество лекарственных средств; обеспечение качества; контроль качества; гармонизация

**Для цитирования:** Яруткин А.В., Багирова В.Л. Государственная фармакопея Российской Федерации: стандартизация лекарственных средств в условиях формирования единого фармацевтического рынка ЕАЭС. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):133–138. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-133-138>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200096-0).

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Aleksei V. Yarutkin  ,  
Valeria L. Bagirova 

## State Pharmacopoeia of the Russian Federation: Drug Standardization under Development of a Common EAEU Pharmaceutical Market

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

✉ Aleksei V. Yarutkin; [Yarutkin@expmed.ru](mailto:Yarutkin@expmed.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** The State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF) is the key set of mandatory requirements for the drug quality. Its development vectors are not limited to improving the legal framework but also take into account the key trends of the regional pharmacopoeia – the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union (Ph. EAEU). Regular analysis of the current state of the pharmacopoeia and identification of the most promising and relevant growth vectors is a prerequisite for ensuring sustainable and consistent improvement of pharmacopoeial approaches and requirements.

**AIM.** This study aimed to identify potential growth vectors of the SP RF, edition XV, given the development of a common pharmaceutical market within the EAEU.

**DISCUSSION.** We analyzed key changes in the legal framework that took place at the national and regional (EAEU) levels, including the updated Procedure for developing SP RF monographs that explicitly considers Ph. EAEU requirements. The study also examined the Development strategy for EAEU Pharmacopoeia that outlines the basic principles, the Strategy objective, the stages of its implementation, and the necessary measures. The document includes relevant data on the provisions of SP RF, edition XV, and offers promising growth vectors for compendial requirements.

**CONCLUSIONS.** Considering the main trends in the development of the EAEU Pharmacopoeia, the following growth vectors for pharmacopoeial quality standards can be identified: updating the nomenclature and content of general pharmacopoeial monographs for medicinal products and their dosage forms; extending harmonization to align approaches with the pharmacopoeias of states friendly to the Russian Federation; implementing instrumental, accurate, and selective methods and techniques, in order to replace animal testing as well.

**Keywords:** pharmacopoeia; general monographs; monographs; quality of medicines; quality assurance; quality control; harmonization

**For citation:** Yarutkin A.V., Bagirova V.L. State pharmacopoeia of the Russian Federation: Drug standardization under development of a common EAEU pharmaceutical market. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):133–138. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-133-138>

**Funding.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00061-26-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 124022200096-0).

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

### ВВЕДЕНИЕ

История отечественной фармакопеи насчитывает более двух столетий и охватывает временные периоды Российской империи, СССР и период новейшей истории России [1]. Ранние издания фармакопей, как правило, представляли собой перечни прописей для изготовления лекарств преимущественно природного происхождения. По мере развития науки и техники, а также перехода к промышленному производству лекарственных средств роль фармакопеи возросла,

претерпела изменения сама номенклатура продукции, требования к которой устанавливаются фармакопеей. Ввиду значительного прогресса в разработке новых, более точных и селективных методик контроля качества, а также совершенствования технологий синтеза действующих веществ и получения самых разнообразных лекарственных форм одной из ключевых задач фармакопеи стало методологическое обеспечение контроля качества фармацевтической продукции посредством:

- установления базовых подходов фармакопейного анализа, адекватных современным реалиям;
- определения перспективных подходов, методов и методик для совершенствования качества фармацевтической продукции на ближайшую и среднесрочную перспективу.

Постоянное развитие фармацевтической отрасли отражается в регулярном обновлении и совершенствовании правового поля в сфере здравоохранения в целом и в области обращения лекарственных средств в частности, поэтому фармакопея выступает одним из гибких и динамичных инструментов, позволяющих оперативно реагировать на современные вызовы, внедрять современные тренды, при этом учитывая необходимость гармоничного развития совместно с Фармакопеей Евразийского экономического союза (ЕАЭС).

Цель работы – определение перспективных направлений развития Государственной фармакопеи Российской Федерации в условиях формирования единого фармацевтического рынка ЕАЭС.

Исследование проведено с применением информационно-аналитического метода.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Ключевые изменения в нормативном правовом поле и текущее состояние Государственной фармакопеи Российской Федерации и Фармакопеи ЕАЭС

Разработка общих фармакопейных статей (ОФС) и фармакопейных статей (ФС) для Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) осуществляется в соответствии с многоступенчатым алгоритмом с широким привлечением профессионального сообщества.

Одним из значимых изменений в правовом поле, которое последовало за изменениями, внесенными в Федеральный закон № 61-ФЗ<sup>1</sup> с целью унификации терминов и требований в сфере обращения лекарственных средств с актами, составляющими право Евразийского экономического союза (ЕАЭС), стало утверждение Минздравом России обновленного Порядка

разработки ОФС и ФС и Порядка размещения данных о Государственной фармакопее<sup>2</sup>. Ключевыми особенностями вышеуказанных актов по сравнению с предыдущим приказом Минздрава России<sup>3</sup> являются:

- расширение круга лиц, от которых могут поступать предложения по содержанию ОФС и ФС: добавлены научные организации и учреждения высшего образования;
- добавление прямого указания, что ОФС и ФС разрабатываются с учетом положений Фармакопеи ЕАЭС;
- введение требования о необходимости повторного размещения проектов статей для обсуждения в случае решения отправки ОФС и ФС на доработку на заключительной стадии коллегиального рассмотрения ОФС и ФС – заседаниях Совета Минздрава России по Государственной фармакопее.

Необходимость гармоничного развития и совершенствования национальной фармакопеи (Государственная фармакопея Российской Федерации) совместно с региональной фармакопеей (Фармакопея ЕАЭС) обуславливает целесообразность анализа и учета в работе ключевых актов ЕАЭС, иных регламентирующих документов регионального уровня и наиболее перспективных и современных подходов ведущих мировых фармакопей.

Успешным примером деятельности по гармонизации фармакопейных требований на международном уровне является работа Фармакопейной дискуссионной группы (PDG), в состав которой входят представители Фармакопеи США, Европейской фармакопеи, Японской фармакопеи и Индийской фармакопеи<sup>4</sup>. В настоящее время усилия PDG сосредоточены на гармонизации общих монографий и частных монографий на вспомогательные вещества<sup>5</sup>.

В 2025 г. на уровне ЕАЭС была организована рабочая группа для разработки ОФС и ФС, гармонизированных с монографиями, разрабатываемыми PDG. В рамках деятельности этой группы в 2025 г. были подготовлены проекты 21 ОФС для включения в ГФ РФ XV изд. и Фармакопею ЕАЭС. Наряду с Концепцией гармонизации фармакопей государств – членом

<sup>1</sup> Федеральный закон Российской Федерации от 30.01.2024 № 1-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и статьи 1 и 4 Федерального закона «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и Федеральный закон «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств».

<sup>2</sup> Приказ Минздрава России от 13.09.2024 № 468н.

<sup>3</sup> Приказ Минздравсоцразвития России от 26.08.2010 № 756н.

<sup>4</sup> <https://www.edqm.eu/en/pharmacopoeial-harmonisation>

<sup>5</sup> <https://www.edqm.eu/en/harmonisation-status-for-general-texts-pdg>

ЕАЭС<sup>6</sup> одним из ключевых документов, определяющих базовые принципы и ключевые перспективные направления развития Фармакопеи ЕАЭС, является Стратегия развития Фармакопеи ЕАЭС<sup>7</sup> (далее – Стратегия) на период 2024–2035 г., утвержденная на заседании Фармакопейного комитета ЕАЭС, состоявшемся 06.11.2024. В Стратегии приведены базовые принципы, в том числе расширенный перечень зарубежных фармакопей, с которыми может осуществляться гармонизация, анализ состояния подготовки Фармакопеи ЕАЭС, ключевые этапы реализации Стратегии и перечень основных необходимых мер и мероприятий.

На первом этапе одним из важнейших мероприятий является завершение разработки ОФС для 4-й части I тома Фармакопеи ЕАЭС, чтобы сформировать в Фармакопее полноценный массив ОФС, что, в свою очередь, вкпе с методическими руководствами, разработанными Фармакопейным комитетом ЕАЭС<sup>8</sup>, позволит перейти к разработке частных ФС. Необходимо отметить, что работа над 4-й частью I тома Фармакопеи ЕАЭС находится на завершающей стадии и ее выход ожидается до конца 2026 г.

Другим важным направлением деятельности Фармакопейного комитета ЕАЭС и сформированных им специализированных групп является актуализация ОФС, включенных в I том Фармакопеи ЕАЭС, поскольку Фармакопея ЕАЭС была утверждена<sup>9</sup> еще в 2020 г., после чего дополнялась ОФС, и ряд ОФС на данный момент нуждаются в актуализации.

На втором этапе в соответствии с положениями Стратегии будет осуществляться анализ номенклатуры зарегистрированных лекарственных препаратов и разработка общих и частных ФС на субстанции для фармацевтического применения (действующие (активные) вещества и вспомогательные вещества) и лекарственные препараты, в том числе радиофармацевтические и экстенпоральные.

Наиболее перспективным базовым подходом к разработке номенклатуры частных ФС представляется использование опыта ГФ РФ, поскольку по состоянию на апрель 2026 г. ГФ РФ XV изд. с учетом 9 утвержденных приложений содержит 1122 статьи, в том числе 330 ОФС, из которых 114 ОФС (34,54 %) введены впервые; 792 ФС, из которых 401 ФС (50,63 %) введены впервые.

**Таблица 1.** Сводные данные о приложениях к Государственной фармакопее Российской Федерации XV издания

**Table 1.** Summary of appendices to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, edition XV

Приказ Минздрава России <i>Order of Russian Ministry of Health</i>		Количество статей <i>Number of articles</i>		Дата введения в действие <i>Entry into force</i>	Срок приведения в соответствие <i>To be aligned by</i>	Примечание <i>Note</i>
№	Дата <i>Date</i>	ОФС <i>General pharmacopoeial monograph</i>	ФС <i>Pharmacopoeial monograph</i>			
377	20.07.2023	313	564	01.09.2023	01.09.2026	Основная часть <i>Main part</i>
448	25.08.2023	10	12			
120	13.03.2024	4	118	13.03.2024	01.03.2027	Приложения <i>Appendices</i>
223	06.05.2024	1	–	20.05.2024	–	
591	31.10.2024	1	–	01.11.2024	–	
57	06.02.2025	2	–	24.02.2025	25.02.2028	
188	11.04.2025	26	71	30.04.2025	28.04.2028	
460	04.08.2025	–	30	25.08.2025	–	
147	02.03.2026	–	7	29.05.2026	29.05.2029	
199	23.03.2026	–	3	29.05.2026	29.05.2029	

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** «–» – отсутствует.

**Note.** –, not applicable.

<sup>6</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 22.09.2015 № 119 «О Концепции гармонизации фармакопей государств – членов Евразийского экономического союза».

<sup>7</sup> Стратегия развития Фармакопеи Евразийского экономического союза. <https://eec.eaeunion.org/upload/files/deptexreg/LSMI/Стратегия%20Фармакопея%20Союза%2026.07.2024.pdf>

<sup>8</sup> Методические руководства по созданию Фармакопеи ЕАЭС и иных документов по контролю качества лекарственных средств. <https://eec.eaeunion.org/upload/files/deptexreg/LSMI/Pharmacopoeia2024.web.pdf>

<sup>9</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 11.08.2020 № 100 «О Фармакопее Евразийского экономического союза».

Необходимо отметить, что ГФ РФ XV изд. характеризуется регулярным выпуском приложений (3 приказа об утверждении 124 статей в 2024 г., 3 приказа об утверждении 129 статей в 2025 г. и 2 приказа об утверждении 10 статей в 1 кв. 2026 г.), которые, в частности, позволили:

- впервые ввести раздел, содержащий 13 ФС на вспомогательные вещества, уже в марте 2024 г., то есть по прошествии всего 2 месяцев с уточнения сферы распространения понятия фармакопейной статьи в соответствии с изменениями<sup>10</sup>, внесенными в Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»;
- включить в ГФ РФ XV изд. раздел с 32 ФС на радиофармацевтические лекарственные препараты;
- разработать массив из 9 ОФС и 77 ФС с требованиями к лекарственным препаратам аптечного изготовления.

### Направления развития Государственной фармакопеи

Необходимость гармоничного развития ГФ РФ и Фармакопеи ЕАЭС, закреплённая нормативными правовыми актами, обуславливает актуальность тесной координации усилий и синхронности разработки новых статей, инициирования пересмотра уже утверждённых статей, а также обеспечения единого понятийного аппарата [2].

Одним из ключевых блоков статей, нуждающихся в пересмотре как в плане содержания, так и в плане самой номенклатуры статей, является блок общих статей на лекарственные формы и группы лекарственных препаратов.

В настоящее время ведущими зарубежными фармакопеями применяется комплексный и многофакторный подход, включающий разработку общих статей (монографий) на группы лекарственных препаратов по способам их применения и (или) введения, при этом в каждой конкретной монографии приводятся соответствующие лекарственные формы. Такой подход позволяет ограничиться 20 общими статьями на группы препаратов, приводя в них как общие требования к качеству лекарственных препаратов соответствующей группы, так и специфическую информацию в зависимости от конкретной лекарственной формы. Обширная номенклатура ОФС на различные лекарственные формы представлена в составе ГФ РФ XV изд. (45 ОФС)

и Фармакопеи ЕАЭС, что в условиях необходимости гармонизации не только в рамках евразийского пространства, но и в глобальном масштабе представляется нецелесообразным.

Другим источником перспективных подходов к развитию фармакопей являются фармакопеи дружественных государств, в том числе Фармакопея Китайской Народной Республики и Индийская фармакопея, указанные в Стратегии развития Фармакопеи ЕАЭС<sup>11</sup>. Одним из важных направлений сближения и гармонизации подходов с вышеуказанными фармакопеями является стандартизация лекарственных растительных препаратов и лекарственного растительного сырья, что обусловлено значительной номенклатурой монографий на продукцию растительного происхождения. Так, Фармакопея Китайской Народной Республики XI изд., утверждённого в 2020 г. [3], содержит более 2700 монографий на средства традиционной китайской медицины, в том числе лекарственное растительное сырьё и препараты на его основе. Взаимодействие с Индийской фармакопейной комиссией (IPC) осуществляется ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, в том числе в соответствии с заключённым меморандумом о взаимопонимании.

Конечно же, как для национальной, так и для региональной фармакопеи одним из ключевых направлений развития является внедрение наиболее современных, точных и селективных методов и методик, которые в том числе призваны минимизировать и, по возможности, заменить те испытания, в ходе которых применяются лабораторные животные, что также согласуется с глобальным трендом по бережному отношению к животным [4, 5].

Необходимо отметить, что внедрение новых ОФС и ФС с современными подходами к стандартизации качества должно сопровождаться деятельностью по дальнейшему совершенствованию правового поля и методологических аспектов применения положений фармакопеи.

По мере разработки новых статей и актуализации статей предыдущих изданий одним из факторов, способствующих внедрению новых требований и подходов к качеству, является анализ правового статуса фармакопей предыдущих изданий, постепенная отмена устаревших изданий и контроль перехода на современные требования в рамках экспертизы и регистрации лекарственных препаратов.

<sup>10</sup> Федеральный закон от 30.01.2024 № 1-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и статьи 1 и 4 Федерального закона «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и Федеральный закон «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств»».

<sup>11</sup> Стратегия развития Фармакопеи Евразийского экономического союза. <https://eec.eaeunion.org/upload/files/deptexreg/LSMI/Стратегия%20Фармакопея%20Союза%2026.07.2024.pdf>

Для ГФ РФ одной из важнейших задач является методологическая работа, направленная на обеспечение единообразия понимания и применения современных фармакопейных подходов и требований всеми заинтересованными лицами. Одним из первых результатов такой деятельности является методический материал, посвященный основам эффективного применения ГФ РФ XV изд.<sup>12</sup> Данный документ содержит не только обзор текущего состояния ГФ РФ, но и базовые принципы корректного восприятия и использования ОФС и ФС, в том числе в части:

- основополагающих принципов, приведенных в базовой ОФС 1.1.0001 «Общие положения»;
- обязательности совместного применения положений соответствующих ОФС и ФС;
- ключевых терминов и понятий, применяемых в ОФС и ФС.

Другим примером методологической деятельности является создание раздела с ответами

на часто поступающие вопросы<sup>13</sup> на Форуме Государственной фармакопеи. Наполнение данного раздела осуществляется с учетом профиля наиболее актуальных вопросов, поступающих в Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди возможных направлений развития ГФ РФ можно выделить следующие.

1. Актуализация номенклатуры и содержания общих фармакопейных статей на лекарственные формы лекарственных препаратов.
2. Распространение принципа гармонизации на сближение подходов с фармакопеями дружественных Российской Федерации государств.
3. Внедрение наиболее современных, точных и селективных методов и методик, в том числе с целью замены испытаний с применением животных.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Куликов ВА. История создания общегосударственных и ведомственных российских фармакопей. *Вестник фармации*. 2012;(2):55–61. Kulikov VA. The history of creation of governmental and departmental pharmacopoeia in Russia. *Vestnik Farmatsii*. 2012;(2):55–61 (In Russ.). EDN: [PBNTDD](#)
2. Кравчук АМ. Акты Евразийской экономической комиссии по вопросам обращения лекарственных средств: опыт и перспективы систематизации. *Международное право*. 2025;(2):48–62. Kravchuk AM. Legislation of the Eurasian Economic Commission on medicinal products circulation: experience and prospects for systematization. *International Law*. 2025;(2):48–62 (In Russ.). <https://doi.org/10.25136/2644-5514.2025.2.73844>
3. Xu X, Xu H, Shang Y, et al. Development of the general chapters of the Chinese Pharmacopoeia 2020 edition: A review. *J Pharm Anal*. 2021;11(4):398–404. <https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2021.05.001>
4. Гайдерова ЛА, Алпатова НА, Головинская ОВ и др. Реализация концепции 3Rs при контроле качества биологических препаратов: современное состояние и перспективы (обзор). *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2025;13(2):229–39. Gaiderova LA, Alpatova NA, Golovinskaya OV, et al. Implementation of the 3Rs concept in quality control of biologicals: Status and prospects (review). *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2025;13(2):229–39 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240>
5. Корнилова ОГ, Багирова ВЛ. Фармакопейная стандартизация биологических лекарственных препаратов: основные принципы в условиях единого фармацевтического рынка стран Евразийского экономического союза. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):71–82. Kornilova OG, Bagirova VL. Pharmacopoeial standardisation of biological medicinal products: Basic principles for the common pharmaceutical market of the Eurasian Economic Union. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):71–82 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.В. Яруткин — сбор, обобщение и анализ данных, написание текста рукописи; В.Л. Багирова — участие в формулировании выводов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Aleksei V. Yarutkin collected, synthesized and analyzed the data, and drafted the manuscript. Valeria L. Bagirova participated in formulating the conclusions and approved the final version for publication.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Яруткин Алексей Викторович / Aleksei V. Yarutkin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3156-5958>

Багирова Валерия Леонидовна, д-р фарм. наук, профессор / Valeria L. Bagirova, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0379-6158>

Поступила 10.11.2025

После доработки 13.02.2026

Принята к публикации 21.04.2026

Received November 10, 2025





Revised February 13, 2026

Accepted April 21, 2026

<sup>12</sup> Яруткин АВ, Багирова ВЛ, Трапкова АА, Косенко ВВ. Основы эффективного применения Государственной фармакопеи XV издания. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/upload/iblock/e90/0yh0rbxtzhg4d8bpxnmrhitvrev93s6c.pdf>

<sup>13</sup> <https://pharmacopoeia.regmed.ru/otvety-na-chasto-zadavaemye-voprosy/>



А.Н. Новиченко ✉   
Е.Л. Ковалева   
П.А. Онисько   
К.С. Кочетов 

## Сравнительный анализ требований к качеству лекарственных средств лоперамида гидрохлорида

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

✉ Новиченко Анастасия Николаевна; [novichenko@expmed.ru](mailto:novichenko@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Лекарственные препараты (ЛП) лоперамида гидрохлорида зарегистрированы в РФ в лекарственных формах (ЛФ) «таблетки» и «капсулы». Однако в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) не включены фармакопейные статьи на ЛФ лоперамида гидрохлорида. Представляется актуальным провести сравнительный анализ и обобщить требования зарубежных фармакопей к контролю качества ЛП на основе лоперамида гидрохлорида.

**ЦЕЛЬ.** Анализ и обобщение требований к качеству лекарственных средств лоперамида гидрохлорида для подготовки рекомендаций по составлению спецификаций на препараты, содержащие лоперамида гидрохлорид в ЛФ «таблетки» и «капсулы», и рекомендаций по актуализации действующей фармакопейной статьи на фармацевтическую субстанцию лоперамида гидрохлорида.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Проведено исследование требований ГФ РФ, Европейской фармакопеи (Ph. Eur.), Британской фармакопеи (BP), Фармакопеи США (USP), Индийской фармакопеи (IP), Фармакопеи Китайской Народной Республики (ChP), Корейской фармакопеи (KP) и Международной фармакопеи (Ph. Int.) к качеству фармацевтических субстанций лоперамида гидрохлорида, препаратов лоперамида гидрохлорида в ЛФ «таблетки» и «капсулы». Рассмотрены материалы регистрационных досье на ЛС лоперамида гидрохлорида.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** ЛП лоперамида гидрохлорид не описан в ГФ РФ. Фармакопейная статья (монография) на фармацевтическую субстанцию лоперамида гидрохлорида включена в ГФ РФ XV изд., в Ph. Eur., BP, USP, IP, ChP, KP и Ph. Int. Установлено, что ФС.2.1.0613 «Лоперамида гидрохлорид» ГФ РФ в значительной степени гармонизирована с Ph. Eur., ее требования являются одними из более строгих, и используются более совершенные методики идентификации и контроля примесей по сравнению с USP, IP, ChP и KP. Однако при пересмотре фармакопейных статей следует оптимизировать комбинацию методов идентификации лоперамида, исключить контроль тяжелых металлов полуколичественным методом, заменив его на оценку рисков содержания элементных примесей.





**ВЫВОДЫ.** При подготовке спецификаций на препараты лоперамида в ЛФ «таблетки» и «капсулы» даны рекомендации по использованию сочетаний методов идентификации, установлены возможности различий в условиях и нормах испытания на растворение, определены специфицируемые примеси. На примере ЛП лоперамида в различных модификациях показаны направления совершенствования стандартизации препаратов в ЛФ «таблетки» в части необходимости проведения испытаний как на распадаемость, так и на растворение. Обоснована возможность контроля однородности дозирования «таблеток-лиофилизатов» независимо от дозировки расчетно-массовым способом.

**Ключевые слова:** лоперамид; лоперамида гидрохлорид; фармакопейные требования; качество лекарственных средств; фармацевтические субстанции; таблетки; капсулы; фармакопея; фармакопейная статья

**Для цитирования:** Новиченко А.Н., Ковалева Е.Л., Онисько П.А., Кочетов К.С. Сравнительный анализ требований к качеству лекарственных средств лоперамида гидрохлорида. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):139–151. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-139-151>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР № 124022300127-0).

**Потенциальный конфликт интересов.** Е.Л. Ковалева – член редакционной коллегии журнала «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2011 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Anastasia N. Novichenko   
Elena L. Kovaleva   
Polina A. Onisko   
Konstantin S. Kochetov 

## Comparative Analysis of Quality Requirements for Loperamide Hydrochloride Medicinal Products

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

✉ Anastasia N. Novichenko; [novichenko@expmed.ru](mailto:novichenko@expmed.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Loperamide hydrochloride medicinal products are registered in the Russian Federation in the dosage forms of “tablets” and “capsules”. Since the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF) does not include pharmacopoeial articles on dosage forms of loperamide hydrochloride, it seems relevant to conduct a comparative analysis and summarize the requirements of foreign pharmacopoeias for quality control of medicinal products based on loperamide hydrochloride.

**AIM.** Analysis and generalization of quality requirements for loperamide hydrochloride medicinal products for the preparation of recommendations for the compilation of specifications for drugs containing loperamide hydrochloride in tablet and capsule dosage forms, and recommendations for updating the current pharmacopoeial article for the pharmaceutical substance loperamide hydrochloride.

**MATERIALS AND METHODS.** A study of the quality requirements to pharmaceutical substances of loperamide hydrochloride in the dosage forms of tablets and capsules has been conducted using SP RF, the European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), the British Pharmacopoeia (BP), the United States Pharmacopoeia (USP), the Indian Pharmacopoeia (IP), the Pharmacopoeia of the People’s Republic of China (ChP), the Korean Pharmacopoeia (KP), and the International Pharmacopoeia (Ph. Int.). The materials of registration dossiers for loperamide hydrochloride have been reviewed.

**RESULTS.** Loperamide hydrochloride is not described in the SP RF. The pharmacopoeial monograph for the pharmaceutical substance loperamide hydrochloride is included in the SP RF (15th ed.), as well as in Ph. Eur., BP, USP, IP, ChP, KP, and Ph. Int. A comparative analysis of pharmacopoeial quality standards for the pharmaceutical substance loperamide hydrochloride revealed that FS.2.1.0613 “Loperamide hydrochloride” of the SP RF is largely harmonized with Ph. Eur., its requirements are among the most stringent and employ more sophisticated methods for identifying and controlling impurities compared to USP, IP, ChP, and KP. However, when revising the pharmacopoeial articles, the combination of methods for identifying loperamide should be optimized, and the control of heavy metals by a semi-quantitative method should be excluded, replacing it with an assessment of the risks of elemental impurity content.

**CONCLUSIONS.** In preparing specifications for loperamide tablets and capsules, recommendations were provided for the use of combinations of identification methods, potential differences in dissolution testing conditions and standards were identified, and specified impurities were defined. Using various modifications of loperamide as an example, areas for improving the standardization of tablets are demonstrated, including the need for both disintegration and dissolution testing. The feasibility of monitoring the dosage uniformity of lyophilized tablets, regardless of dosage, using the calculated mass method is substantiated.

**Keywords:** loperamide; loperamide hydrochloride; pharmacopoeial requirements; quality of medicines; pharmaceutical substances; tablets; capsules; pharmacopoeias; pharmacopoeial monograph

**For citation:** Novichenko A.N., Kovaleva E.L., Onisko P.A., Kochetov K.S. Comparative analysis of quality requirements for loperamide hydrochloride medicinal products. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):139–151. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-139-151>

**Funding.** This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00061-26-00 (R&D Registry No. 124022300127-0).

**Disclosure.** Elena L. Kovaleva has been a member of the Editorial Board of *Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2011. The other authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Одно из первых мест в структуре заболеваний населения в Российской Федерации занимают функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта с симптомами боли в животе, изжоги, тошноты, рвоты, запора, диареи и вздутия. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и Детского фонда ООН ЮНИСЕФ (United Nations International Children's Emergency Fund, UNICEF), ежегодно во всем мире регистрируется около 550 млн случаев диарейных болезней<sup>1</sup>. Лоперамида гидрохлорид — основное действующее вещество в лекарственных препаратах (ЛП), которые в настоящее время назначаются пациентам с функциональной диареей [1, 2]. ЛП лоперамида входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения в России. Лоперамид — лиганд опиоидных рецепторов, который обладает только периферическими эффектами опиоидов. Лоперамид, действуя как опиоидный агонист, связывается с опиоидными рецепторами в кишечнике, снижая перистальтику и моторику желудка и ослабляя симптомы. Безопасная терапевтическая доза составляет не более 8 мг в сутки без контроля врача и не превышает 16 мг. Препараты на основе лоперамида гидрохлорида имеют низкую биодоступность при пероральном приеме (0,3%) и относятся ко II классу по фармацевтической классификационной системе<sup>2</sup>. Это означает, что при приеме 2 мг действующего вещества только 0,006 мг лоперамида достигают системной циркуляции. Эта особенность делает препарат чувствительным к изменениям фармацевтических параметров. Отклонение в содержании действующего вещества даже на 5% может привести к снижению терапевтического эффекта

на 15–20%. Также необходимо учитывать тот факт, что период полувыведения препарата зависит от его дозировки: для 8 мг — от 9 до 13 ч, а для 16 мг — около 41 ч [3–5].

В Государственный реестр лекарственных средств<sup>3</sup> (ГРЛС) включено 6 производителей фармацевтической субстанции лоперамида гидрохлорида (по 34 ст.), 4 из которых — в Индии и 2 — в Италии, а также 6 препаратов в лекарственной форме (ЛФ) «таблетки» (из них в Евразийском экономическом союзе<sup>4</sup> (ЕАЭС) зарегистрировано 4), 1 препарат в ЛФ «таблетки, диспергируемые в полости рта», 1 препарат в ЛФ «таблетки жевательные», 2 препарата в ЛФ «таблетки-лиофилизат» (из них в ЕАЭС зарегистрирован 1) и 12 препаратов в ЛФ «капсулы» (из них в ЕАЭС зарегистрировано 6).

В Государственную фармакопею Российской Федерации<sup>5</sup> (ГФ РФ) включена фармакопейная статья (ФС) на фармацевтическую субстанцию лоперамида гидрохлорида<sup>6</sup>, в то же время ФС на ЛП отсутствуют. Представляется актуальным проведение сравнительного анализа требований зарубежных фармакопей к контролю качества ЛП лоперамида гидрохлорида для подготовки рекомендаций по составлению спецификаций производителями. Поскольку требования к качеству ЛП напрямую связаны с требованиями к качеству фармацевтической субстанции, целесообразно провести сравнительный анализ фармакопейных стандартов качества и спецификаций производителей на фармацевтическую субстанцию.

Цель работы — анализ и обобщение требований к качеству лекарственных средств лоперамида гидрохлорида для подготовки рекомендаций по составлению спецификаций на препараты, содержащие лоперамида гидрохлорид

<sup>1</sup> Сальмонелла (небрюшнотифозная). [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

<sup>2</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».

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

<sup>4</sup> Единый реестр зарегистрированных лекарственных средств Евразийского экономического союза. <https://pharma.eaeunion.org/pharma/register/26/ru/register>

<sup>5</sup> Приказ Минздрава России от 20.07.2023 № 377 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей».

<sup>6</sup> ФС.2.1.0613 Лоперамида гидрохлорид. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.: 2023.

в лекарственных формах «таблетки» и «капсулы», и рекомендаций по актуализации действующей фармакопейной статьи на фармацевтическую субстанцию лоперамида гидрохлорида.

Задачи исследования:

- 1) провести сравнительный анализ требований ГФ РФ, зарубежных фармакопей и спецификаций производителей к качеству фармацевтической субстанции и препаратов лоперамида в ЛФ «таблетки» и «капсулы»;
- 2) установить, какие примеси являются технологическими, а какие относятся к продуктам деградации;
- 3) обобщить основные подходы к оценке качества ЛС лоперамида (фармацевтическая субстанция и препараты в лекарственной форме «таблетки» и «капсулы»).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор информации о требованиях к качеству фармацевтических субстанций лоперамида гидрохлорида проводили на основе анализа ГФ РФ<sup>7</sup>, Европейской фармакопеи (Ph. Eur.<sup>8</sup>), Британской фармакопеи (BP<sup>9</sup>), Фармакопеи США (USP<sup>10</sup>), Индийской фармакопеи (IP<sup>11</sup>), Фармакопеи Китайской Народной Республики (ChP<sup>12</sup>), Корейской фармакопеи (KP<sup>13</sup>) и Международной фармакопеи (Ph. Int.<sup>14</sup>); к качеству препаратов лоперамида гидрохлорида в ЛФ «таблетки» – BP<sup>15</sup>, USP<sup>16</sup>, IP<sup>17</sup> и в ЛФ «капсулы» – BP<sup>18</sup>, USP<sup>19</sup>, IP<sup>20</sup>, ChP<sup>21</sup> и KP<sup>22</sup>. Также рассмотрены материалы регистрационных досье на ЛС лоперамида гидрохлорида.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Фармакопейные требования к качеству фармацевтической субстанции лоперамида гидрохлорида

При производстве фармацевтической субстанции на предприятиях используется полный

или неполный цикл получения лоперамида гидрохлорида.

При полном цикле производства на первом этапе осуществляется химический синтез исходных веществ 4-(4-хлорфенил)пиперидин-4-ола и N,N-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромида.

### Получение 4-(4-хлорфенил)пиперидин-4-ола

Исходное вещество 4-(4-хлорфенил)пиперидин-4-ол получают реакцией с использованием 1-бензилпиперидин-4-она и 4-хлорфенилмагнибромид (реактив Гриньяра), которое в дальнейшем дебензилируют с участием водорода на палладиевой черни<sup>23</sup> (рис. 1).

### Получение N,N-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромида

N,N-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромид синтезируют из этилового эфира дифенилуксусной кислоты, который при взаимодействии с этиленоксидом в присутствии гидроксида натрия образует 2,2-дифенилбутиролактон. Последний при взаимодействии с бромистым водородом в уксусной кислоте трансформируется в 2,2-дифенил-4-бромбутановую кислоту, которую превращают в хлорангидрид под действием тионилхлорида. Затем хлорангидрид циклизуется в N,N-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромид при обработке водным раствором диметиламина<sup>24</sup> (рис. 2).

На втором этапе проводится химическая реакция между 4-(p-хлорфенил)-4-гидроксипиперидином и N,N-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромидом с получением основания лоперамида (рис. 3).

<sup>7</sup> Там же.

<sup>8</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. European Pharmacopoeia. 11.8 ed. Strasbourg: EDQM; 2025.

<sup>9</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. British Pharmacopoeia. London; 2025.

<sup>10</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. United States Pharmacopoeia. USP 48–NF 43. Rockville, MD; 2025.

<sup>11</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Indian Pharmacopoeia. IX ed. New Delhi; 2022.

<sup>12</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. 11th ed. Beijing; 2020.

<sup>13</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Korean Pharmacopoeia. 12th ed. Seoul; 2024.

<sup>14</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. International Pharmacopoeia. 12th ed. Geneva; 2025.

<sup>15</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. British Pharmacopoeia. London; 2025.

<sup>16</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. United States Pharmacopoeia. USP 48–NF 43. Rockville, MD; 2025.

<sup>17</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. Indian Pharmacopoeia. IX ed. New Delhi; 2022.

<sup>18</sup> Monograph Loperamide hydrochloride capsules. British Pharmacopoeia. London; 2025.

<sup>19</sup> Monograph Loperamide hydrochloride capsules. United States Pharmacopoeia. USP 48–NF 43. Rockville, MD; 2025.

<sup>20</sup> Monograph Loperamide hydrochloride capsules. Indian Pharmacopoeia. IX ed. New Delhi; 2022.

<sup>21</sup> Monograph Loperamide hydrochloride capsules. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. 11th ed. Beijing; 2020.

<sup>22</sup> Monograph Loperamide hydrochloride capsules. Korean Pharmacopoeia. 12th ed. Seoul; 2024.

<sup>23</sup> Носова ЭВ. Биологически активные вещества гетероциклической природы. Учебное пособие. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета; 2019.

<sup>24</sup> Там же.

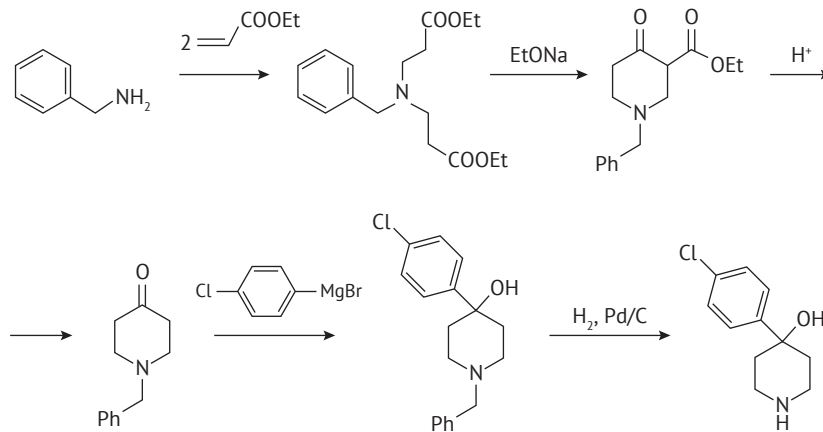


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

**Рис. 1.** Схема получения исходного вещества 4-(4-хлорфенил)пиперидин-4-ола. Et – этил; Ph – фенил

**Fig. 1.** Synthesis route 4-(4-chlorophenyl)piperidin-4-ol. Et, ethyl; Ph, phenyl

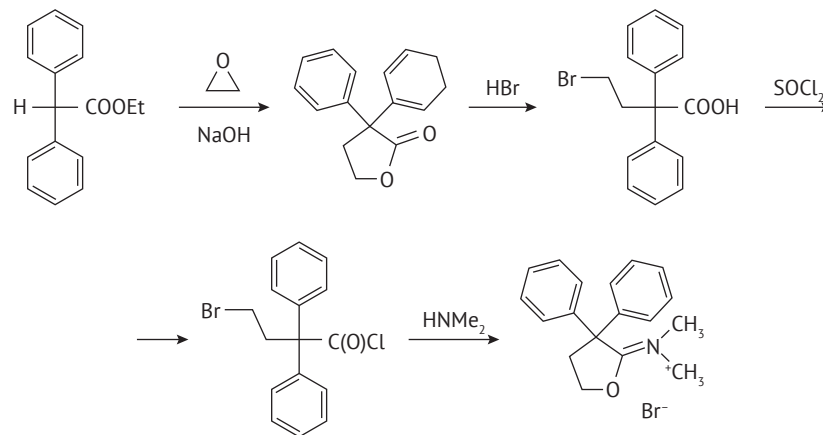


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

**Рис. 2.** Схема получения *N,N*-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромида. Et – этил;  $\text{HNMe}_2$  – диметиламин

**Fig. 2.** Synthesis route *N,N*-Dimethyl-(tetrahydro-3,3 diphenyl-2-furilidene)ammonium bromide. Et – ethyl;  $\text{HNMe}_2$  – dimethylamine

На третьем этапе основание лоперамида превращают в лоперамида гидрохлорид добавлением хлороводородной кислоты, затем раствор нагревают и конденсируют. После фильтрации полученный раствор разводят растворителем и высушивают до кристаллизации лоперамида гидрохлорида технического. Данная процедура может повторяться несколько раз для получения субстанции фармакопейного качества.

Для получения лоперамида гидрохлорида могут применяться и другие методы с использованием иных катализаторов. Например, в реакции между 4-(4-хлорфенил)пиперидин-4-олом и *N,N*-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фурилиден)аммоний бромидом может использоваться глицерол, сода (натрия карбонат) и калия йодид при температуре 55–65 °C [6].

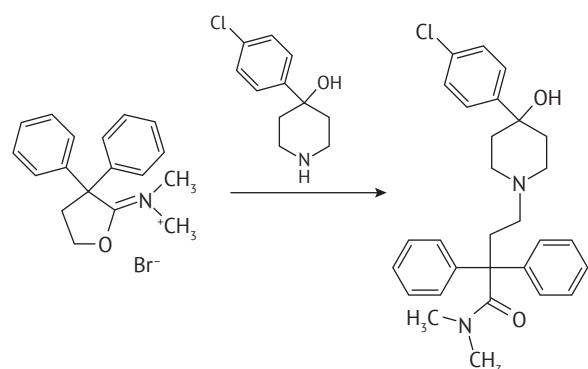


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

**Рис. 3.** Схема получения основания лоперамида

**Fig. 3.** Synthesis route of Loperamide (base)

**Неполный цикл** отличается от полного тем, что исходные вещества 4-(4-хлорфенил)пиперидин-4-ол и N,N-диметил-(3,3-дифенилтетрагидро-2-фуриден)аммоний бромид не синтезируются непосредственно на предприятии, а закупаются у поставщиков. Способ получения лоперамида гидрохлорида предусматривает использование катализаторов и органических растворителей, в связи с чем необходим контроль их остаточных количеств в соответствии с ОФС.1.1.0040 «Примеси элементов» и ОФС.1.1.0008 «Остаточные органические растворители»<sup>25</sup>.

ФС на субстанцию лоперамида гидрохлорида была включена в ГФ РФ<sup>26</sup> в 2023 г. В зарубежных фармакопеях фармацевтическая субстанция описана в монографиях Ph. Eur., BP, USP, IP, ChP, Ph. Int. и KP.

Лоперамида гидрохлорид представляет собой порошок (ChP<sup>27</sup> – кристаллический) от белого до почти белого цвета, проявляет полиморфизм<sup>28</sup> (ГФ РФ, Ph. Eur./BP). Согласно ГФ РФ, Ph. Eur./BP, IP, KP, Ph. Int. и ChP, лоперамида гидрохлорид мало растворим или очень мало растворим в воде, легко растворим в хлороформе, легко растворим или растворим в спиртах (метанол, этанол 96%, изопропанол), мало растворим в разбавленных кислотах, но легко растворим в ледяной уксусной кислоте.

Для подтверждения подлинности субстанции фармакопеями предусмотрено использование одного метода или сочетания методов: инфракрасная (ИК) спектрометрия (Ph. Eur./BP); ИК и качественная реакция на хлориды с серебра нитратом (USP, Ph. Int.); ИК и ультрафиолетовая (УФ) спектрофотометрия (ГФ РФ, ChP, KP); ИК и тонкослойная хроматография (ТСХ) и качественная реакция на хлориды с серебра нитратом (IP); в Ph. Int. также возможно альтернативное проведение идентификации с применением УФ-спектрофотометрии, определение температуры плавления и качественная реакция на хлориды с серебра нитратом.

При проведении ИК-спектрометрии в ГФ РФ, Ph. Eur./BP, USP и KP осуществляется сравнение спектров испытуемого и стандартного

образцов, в Ph. Int. и IP альтернативно используется рисунок стандартного ИК-спектра, в ChP вместо стандартного образца предусмотрен стандартный рисунок ИК-спектра. В методе УФ-спектрофотометрии в ChP идентификация осуществляется по совпадению с указанными в монографии максимумами поглощения – при длинах волн 265, 259 и 253 нм, тогда как в ГФ РФ, Ph. Int. и KP проводится сравнение УФ-спектров растворов образца фармацевтической субстанции и стандартного образца.

Качественная реакция на хлориды включена в USP, IP и Ph. Int. Для фармацевтических субстанций, представляющих собой соли, обычно рекомендуется идентификация противоионов, входящих в состав органического вещества<sup>29</sup>. Учитывая тренд на гармонизацию с Ph. Eur./BP и USP, следует рассмотреть возможность исключения из ФС ГФ РФ идентификации лоперамида гидрохлорида методом УФ-спектрофотометрии и добавления качественной реакции на хлориды с серебра нитратом (ОФС.1.2.2.0001.15<sup>30</sup>).

Оценку родственных примесей в фармацевтической субстанции лоперамида гидрохлорида осуществляют методом ТСХ в Ph. Int. и KP и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в других фармакопеях.

Качественный профиль примесей в Ph. Eur./BP и USP совпадает, отличия касаются их содержания. В ГФ РФ, Ph. Eur./BP, USP контролируются идентифицированные примеси лоперамида В (Loperamide quaternary salt по USP) и D (Deschloroloperamide по USP) на уровне «не более 0,2%» методом ВЭЖХ. В USP<sup>31</sup> приведены нормы и для других идентифицированных примесей на уровне «не более 0,2%» (Chlorophenylpiperidol, примесь С; Loperamide trans-N-oxide, примесь F; Loperamide cis-N-oxide, примесь G; Anhydroloperamide, примесь H; Loperamide piperidinolamide, примесь E; Loperamide biphenyl analog, примесь A). В ГФ РФ и Ph. Eur./BP для любых других единичных примесей установлена норма «не более 0,1%», что является более жестким требованием по сравнению с USP. В ГФ РФ, Ph. Eur./BP и USP сумма примесей не должна превышать 0,3%.

<sup>25</sup> Приказ Минздрава России от 11.04.2025 № 188 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей».

<sup>26</sup> Приказ Минздрава России от 20.07.2023 № 377 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей».

<sup>27</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. 11th ed. Beijing; 2020.

<sup>28</sup> ФС.2.1.0613 Лоперамида гидрохлорид. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>29</sup> Методические руководства по созданию Фармакопеи ЕАЭС и иных документов по контролю качества лекарственных средств. М.; 2024.

<sup>30</sup> ОФС.1.2.2.0001.15 Общие реакции на подлинность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>31</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. United States Pharmacopoeia. USP 48–NF 45. Rockville, MD; 2025.

Согласно данным регистрационных досье примеси Loperamide trans-N-oxide (примесь F) и Loperamide cis-N-oxide (примесь G) являются потенциальными продуктами разложения (окисления); примеси Chlorophenylpiperidol (примесь C) и Anhydroloperamide (примесь H) являются как технологическими примесями, так и продуктами деградации фармацевтической субстанции; примеси Loperamide biphenyl

analog (примесь A), Loperamide quaternary salt (примесь B), Deschlorooperamide (примесь D) и Loperamide piperidinolamide (примесь E) – технологические примеси (табл. 1).

В Ph. Eur./BP в качестве стандартного образца для оценки хроматографической системы используется “chemical reference standard (CRS) looperamide for system suitability”, содержащий

**Таблица 1.** Нормирование примесей лоперамида гидрохлорида в ГФ РФ, Ph. Eur./BP и USP и их происхождение

**Table 1.** Standardization of impurities of looperamide hydrochloride in the SP RF, Ph. Eur./BP and USP and their origin

ГФ РФ ФС.2.1.0613* Лоперамида гидрохлорид SP RF FS.2.1.0613* Loperamide hydrochloride	Ph. Eur. 11.8/BP 2025** Лоперамида гидрохлорид Loperamide hydrochloride	USP 48–43 NF Лоперамида гидрохлорид Loperamide hydrochloride	Происхождение Origin
Примесь B Impurity B ≤0,2%	Примесь B Impurity B ≤0,2%	Loperamide quaternary salt Примесь B Impurity B ≤0,2%	Технологическая примесь Technological impurity
Примесь D Impurity D ≤0,2%	Примесь D Impurity D ≤0,2%	Deschlorooperamide Примесь D Impurity D ≤0,2%	Технологическая примесь Technological impurity
Любая другая примесь Any other impurity ≤0,1% (примеси A, E, G, H) (impurities A, E, G, H)	Любая другая неспецифицируемая примесь Any other non-specific impurity ≤0,10% (примеси A, C, E, F, G, H) (impurities A, C, E, F, G, H)	Loperamide biphenyl analog Примесь A Impurity A ≤0,2%	Технологическая примесь Technological impurity
		Chlorophenylpiperidinol Примесь C Impurity C ≤0,2%	Продукт разложения и технологическая примесь Decomposition product and Technological impurity
		Loperamide piperidinolamide Примесь E Impurity E ≤0,2%	Технологическая примесь Technological impurity
		Loperamide trans-N-oxide Примесь F Impurity F ≤0,2%	Продукт разложения (окисление) Decomposition product (oxidation)
		Loperamide cis-N-oxide (изомер примеси F) Примесь G (impurity isomer F) Impurity G ≤0,2%	Продукт разложения (окисление) Decomposition product (oxidation)
		Anhydroloperamide Примесь H Impurity H ≤0,2%	Продукт разложения и технологическая примесь Decomposition product and Technological impurity
Любая другая индивидуальная примесь Any other individual impurity ≤0,10%		Не применимо Not applicable	
Сумма примесей Sum of impurities ≤0,3%	Сумма примесей Sum of impurities ≤0,3%	Сумма примесей Sum of impurities ≤0,3%	Не применимо Not applicable

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

\* В ГФ РФ примеси C и F являются неидентифицируемыми / In the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF), impurities C and F are unidentifiable.

\*\* В Ph. Eur./BP идентифицируют примеси C и F / In Ph. Eur./BP impurities C and F are identified.

лоперамида гидрохлорид и 7 его примесей (А, В, D, E, F, G, H). По отношению р/в (peak-to-valley ratio) между примесями F и H, E и А оценивается разделение. В USP включен стандартный образец “USP loperamide system suitability mixture reference standard (RS)”, по которому также оценивается разделение по отношению р/в между примесями F и H, E и А. Условия хроматографирования в ГФ РФ, Ph. Eur./BP и USP схожи и существенно не отличаются.

В IP<sup>32</sup> норма для единичной неспецифицированной примеси установлена на уровне «не более 0,25%», для суммы примесей – «не более 0,5%» (табл. 2), в ChP<sup>33</sup> норма для единичной неспецифицированной примеси – «не более 0,2%», для суммы примесей – «не более 0,5%». Хроматографические условия проведения испытания в данных фармакопеях значительно отличаются. Если в IP методика схожа с ГФ РФ, Ph. Eur./BP и USP с небольшими отличиями, например в скорости потока и градиентном режиме, то в монографии ChP используется изократический режим элюирования. В Ph. Int. и KP определение родственных примесей проводят полуколичественным методом ТСХ. При этом норма любой единичной примеси в Ph. Int.<sup>34</sup> установлена на уровне «не более 1%»; в KP<sup>35</sup> требуется отсутствие любых пятен примесей.

ФС ГФ РФ<sup>36</sup> и монографиями зарубежных фармакопей предусмотрен контроль потери

в массе при высушивании («не более 0,5%»), сульфатной золе<sup>37</sup> с нормой «не более 0,1%» в ГФ РФ, Ph. Eur./BP, USP, IP и «не более 0,2%» в Ph. Int., KP, ChP.

Согласно ФС ГФ РФ<sup>38</sup> и монографиям ChP и KP определение содержания тяжелых металлов проводится полуколичественным методом («не более 0,002% (20 ppm)»), тогда как в Ph. Eur./BP, USP, IP данный показатель в монографии уже не включают, поскольку предусматривается оценка элементных примесей в каждом конкретном случае.

В ГФ РФ, Ph. Eur./BP, USP, ChP, Ph. Int. и KP количественное определение лоперамида гидрохлорида осуществляется методом потенциометрического титрования (кислотно-основное титрование). В IP<sup>39</sup> при кислотно-основном титровании используется индикатор α-нафтолбензеин. В Ph. Eur./BP и IP установлены нормы «от 99,0% до 101,0% в пересчете на сухое вещество», тогда как в фармакопеях ГФ РФ, ChP, KP, USP и Ph. Int. – «от 98,0% до 102,0% в пересчете на сухое вещество». Использование метода ВЭЖХ в данном случае затруднено [7].

Таким образом, требования к нормированию примесей в субстанции лоперамида гидрохлорида и содержанию сульфатной золе в ГФ РФ являются одними из самых строгих, однако рекомендуется установить пределы содержания действующего вещества «от 99,0% до 101,0%

Таблица 2. Нормирование примесей лоперамида гидрохлорида в IP, ChP, Ph. Int. и KP

Table 2. Standardization of loperamide hydrochloride impurities in IP, ChP, Ph. Int., and KP

Показатель <i>Parameter</i>	Индийская фармакопея <i>Indian Pharmacopoeia (IP)</i>	Китайская фармакопея <i>Chinese Pharmacopoeia (ChP)</i>	Корейская фармакопея <i>Korean Pharmacopoeia (KP)</i>	Международная фармакопея <i>International Pharmacopoeia (Ph. Int)</i>
Норма <i>Norm</i>	Единичная примесь <i>Single impurity</i> ≤0,25% Сумма примесей <i>Sum of impurities</i> ≤0,5%	Единичная примесь <i>Single impurity</i> ≤0,2% Сумма примесей <i>Sum of impurities</i> ≤0,5%	Единичная примесь <i>Single impurity</i> ≤1%	Отсутствие любых пятен примесей <i>Absence of any impurity stains</i>
Метод определения <i>Determination method</i>	ВЭЖХ <i>HPLC</i>	ВЭЖХ <i>HPLC</i>	ТСХ <i>TLC</i>	ТСХ <i>TLC</i>

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ТСХ – тонкослойная хроматография.

**Note.** HPLC, high performance liquid chromatography; TLC, thin-layer chromatography.

<sup>32</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Indian Pharmacopoeia. IX ed. New Delhi; 2022.

<sup>33</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. 11th ed. Beijing; 2020.

<sup>34</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. International Pharmacopoeia. 12th ed. Geneva; 2025.

<sup>35</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Korean Pharmacopoeia. 12th ed. Seoul; 2024.

<sup>36</sup> ФС.2.1.0613 Лоперамида гидрохлорид. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>37</sup> Там же.

<sup>38</sup> Там же.

<sup>39</sup> Monograph Loperamide hydrochloride. Indian Pharmacopoeia. IX ed. New Delhi; 2022.

в пересчете на сухое вещество»<sup>40</sup> и исключить определение тяжелых металлов полуколичественным методом.

### Фармакопейные требования к качеству лекарственных препаратов лоперамида гидрохлорида

В ВР, USP и IP описаны препараты в ЛФ «таблетки» и «капсулы», в ChP и KP включены монографии только на ЛФ «капсулы». В USP в монографии на ЛФ «таблетки» также приведены требования для таблеток жевательных и описана ЛФ «раствор для приема внутрь». В ВР дополнительно включены монографии на «раствор для приема внутрь», «суспензию для приема внутрь», «таблетки, диспергируемые в полости рта». ЛП лоперамида гидрохлорид в ЛФ «раствор для приема внутрь», «суспензия для приема внутрь» в Российской Федерации не зарегистрированы.

### Требования для препаратов в лекарственной форме «таблетки»

Для идентификации лоперамида гидрохлорида в ВР<sup>41</sup> используется комбинация методов ТСХ и ВЭЖХ; в IP<sup>42</sup> и USP<sup>43</sup> – УФ-спектрофотометрия в диапазоне длин волн от 250 до 300 нм и ВЭЖХ. В USP<sup>44</sup> отдельно указано, что для таблеток жевательных идентификацию проводят методами ТСХ и ВЭЖХ (табл. 3). Таким образом,

для спецификаций на препараты лоперамида гидрохлорида в ЛФ «таблетки» можно рекомендовать использовать комбинации методов ТСХ и ВЭЖХ либо УФ и ВЭЖХ.

Для показателя «Растворение» в рассматриваемых фармакопеях условия проведения испытания и нормы различаются: кислая среда (pH~2) в USP и IP; более нейтральная среда (pH~4,7) в ВР (табл. 4). Для проведения анализа используют аппарат типа «лопастная мешалка» (50 об/мин).

Для таблеток, диспергируемых в полости рта, обычно указывают на необходимость испытания на «Распадаемость», но поскольку препарат не растворяется, а диспергируется, становится актуальным проведение испытания на растворение. Для таблеток-лиофилизатов обязательным является показатель «Распадаемость», а если восстановленная форма представляет собой суспензию, то следует проводить испытание на растворение. Для таблеток жевательных должен быть предусмотрен контроль растворения для доказательства того, что действующее вещество таблетки, случайно проглоченной целиком, будет высвобождаться и фармакологическое действие препарата будет оказано<sup>45</sup> [8]. Поскольку в Российской Федерации зарегистрированы все перечисленные модификации таблеток лоперамида, эти указания применимы к ним

**Таблица 3.** Методы идентификации для препаратов в лекарственной форме «таблетки», «таблетки жевательные» и «таблетки, диспергируемые в полости рта» в ВР, USP и IP

**Table 3.** Identification methods for drugs in the dosage form “tablets”, “chewable tablets” and “orodispersible tablets” in ВР, USP, and IP

Лекарственная форма <i>Dosage form</i>	Британская фармакопея <i>British Pharmacopoeia (BP)</i>	Фармакопея США <i>United States Pharmacopoeia (USP)</i>	Индийская фармакопея <i>Indian Pharmacopoeia (IP)</i>
Таблетки <i>Tablets</i>	ТСХ и ВЭЖХ (с УФ-детектором) <i>TLC and HPLC (with UV-detector)</i>	УФ и ВЭЖХ (с УФ-детектором) <i>UV and HPLC (with UV-detector)</i>	УФ и ВЭЖХ (с УФ-детектором) <i>UV and HPLC (with UV-detector)</i>
Таблетки жевательные <i>Chewable tablets</i>	Не применимо <i>Not applicable</i>	ТСХ и ВЭЖХ (с УФ-детектором) <i>TLC and HPLC (with UV-detector)</i>	Не применимо <i>Not applicable</i>
Таблетки, диспергируемые в полости рта <i>Orodispersible tablets</i>	ТСХ и ВЭЖХ (с УФ-детектором) <i>TLC and HPLC (with UV-detector)</i>	Не применимо <i>Not applicable</i>	Не применимо <i>Not applicable</i>

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ТСХ – тонкослойная хроматография.

**Note.** HPLC, high performance liquid chromatography; TLC, thin-layer chromatography.

<sup>40</sup> Методические руководства по созданию Фармакопеи ЕАЭС и иных документов по контролю качества лекарственных средств. М.; 2024.

<sup>41</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. British Pharmacopoeia. London; 2025.

<sup>42</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. Indian Pharmacopoeia. IX ed. New Delhi; 2022.

<sup>43</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. United States Pharmacopoeia. USP 48–NF 43. Rockville, MD; 2025.

<sup>44</sup> Там же.

<sup>45</sup> Draft guidance on Loperamide hydrochloride. FDA; 2024. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/psg/PSG\\_019860.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/PSG_019860.pdf)

**Таблица 4.** Требования ВР, USP и IP по показателю «Растворение» для контроля качества таблеток лоперамида гидрохлорида\***Table 4.** ВР, USP, and IP requirements for the "Dissolution" indicator for quality control of loperamide hydrochloride tablets\*

Фармакопея <i>Pharmacopoeia</i>	Норма <i>Norm</i>	pH среды растворения <i>pH value of the dissolution medium</i>
Британская фармакопея <i>British Pharmacopoeia (BP)</i> Таблетки / <i>Tablets</i>	Не менее 75% (Q) через 45 мин <i>Not less than 75% (Q) after 45 min</i>	4,7
Таблетки, диспергируемые в полости рта <i>Orodispersible tablets</i>	Не менее 75% (Q) через 10 мин <i>Not less than 75% (Q) after 10 min</i>	4,7
Фармакопея США <i>United States Pharmacopoeia (USP)</i>	Тест 1: не менее 80% (Q) через 30 мин <i>Test 1: not less than 80% (Q) after 30 min</i>	2,0
	Тест 2: не менее 80% (Q) через 10 мин <i>Test 2: not less than 80% (Q) after 10 min</i>	2,0
Индийская фармакопея <i>Indian Pharmacopoeia (IP)</i>	Не менее 80% (Q) через 30 мин <i>Not less than 80% (Q) after 30 min</i>	2,0

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** Для оценки результатов испытания используется метод ВЭЖХ.

**Note.** HPLC method is used to evaluate the test results.

**Таблица 5.** Контроль качества препаратов лоперамида гидрохлорида в лекарственной форме «таблетки» в различных модификациях по отдельным показателям**Table 5.** Quality control of loperamide hydrochloride preparations in tablet form in various modifications according to individual indicators

Лекарственная форма <i>Dosage form</i>	Распадаемость/Растворение <i>Disintegration/Dissolution</i>	Однородность дозирования <i>Dosing uniformity</i>
Таблетки <i>Tablets</i>	- / +	Прямое определение <i>Direct determination</i>
Таблетки жевательные <i>Chewable tablets</i>	- / +	Прямое определение <i>Direct determination</i>
Таблетки, диспергируемые в полости рта <i>Orodispersible tablets</i>	+ / +	Прямое определение <i>Direct determination</i>
Таблетки-лиофилизат <i>Lyophilisate tablets</i>	+ / - * + / + **	Расчетно-массовый способ <i>Calculation-mass method</i>

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** «+» – применимо, «-» – не применимо.

**Note.** "+", applicable; "-", not applicable.

\* Если восстановленная форма «раствор» / If the reconstituted form is a "solution".

\*\* Если восстановленная форма «суспензия» / If the reconstituted form is a "suspension".

(табл. 5), хотя в ОФС.1.4.1.0015 «Таблетки» ГФ РФ<sup>46</sup> эти требования пока не включены.

Показатель «Однородность единиц дозирования» включен во все монографии ВР, USP и IP; для проведения данного анализа предусмотрен метод ВЭЖХ. В России, согласно данным ГРЛС, зарегистрированы препараты в ЛФ «таблетки» с дозировкой 2 мг. В соответствии с ГФ РФ<sup>47</sup> для такой дозировки необходимо прямое определение содержания действующего вещества в дозированных единицах. В то же время для ЛФ «лиофилизат», согласно общим требованиям, применим расчетно-массовый способ контроля

однородности дозирования. Поскольку препараты в ЛФ «таблетки-лиофилизат» фактически не являются классическими таблетками, следует рассмотреть возможность экстраполировать на них расчетно-массовый способ вместо прямого определения (табл. 5).

Определение родственных примесей для таблеток лоперамида гидрохлорида не предусмотрено в IP. В ВР и USP родственные примеси контролируются методом ВЭЖХ. В ВР<sup>48</sup> для таблеток, диспергируемых в полости рта, требования отличаются, в обоих случаях специфицирована только примесь F, но норма по ее содержанию

<sup>46</sup> ОФС.1.4.1.0015 Таблетки. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>47</sup> ОФС.1.4.2.0008 Однородность дозирования. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>48</sup> Monograph Loperamide orodispersible tablets. British Pharmacopoeia. London; 2025.

жестче, а для суммы примесей, кроме примеси F, – наоборот. В USP<sup>49</sup> контролируют только сумму пространственных (цис- и транс-) изомеров лоперамида N-оксида – суммарно примеси F и G (табл. 6).

В монографиях на фармацевтическую субстанцию примесь F идентифицирована и указана в перечне примесей (Ph. Eur./BP), но не специфицирована; то есть примесь F учитывается как «любая другая неспецифицируемая примесь».

Так как максимальная суточная доза лоперамида обычно не превышает 12 мг, в соответствии с ГФ РФ<sup>50</sup> и Решением Коллегии ЕЭК<sup>51</sup> порог идентификации составляет 0,2%, что коррелирует с приведенными нормами. Как правило,

производители воспроизведенных препаратов лоперамида гидрохлорида контролируют родственные примеси в соответствии с монографиями ВР.

### Требования для препаратов лоперамида гидрохлорида в лекарственной форме «капсулы»

Описание капсул лоперамида гидрохлорида приводится только в ChP<sup>52</sup>, где указано: «капсулы содержат белый или почти белый порошок». Для идентификации лоперамида гидрохлорида в ВР, USP (монография 2013 г.), IP и KP предлагается комбинация методов ТСХ и ВЭЖХ. ChP предусматривает идентификацию только методом ВЭЖХ.

Таблица 6. Требования ВР и USP по контролю примесей в таблетках и капсулах лоперамида гидрохлорида

Table 6. BP and USP requirements for the control of impurities in loperamide hydrochloride tablets and capsules

Лекарственная форма Dosage form	Контролируемые примеси Controlled impurities	Британская фармакопея* British Pharmacopoeia (BP)*	Фармакопея США** United States Pharmacopoeia (USP)**
Таблетки Tablets	Идентифицируемые примеси Identifiable impurities	≤2,0% Примесь F (лоперамида N-оксид) Impurity F (Loperamide N-oxide)	≤2,0% Сумма лоперамида цис- и транс-N-оксид (примеси G и F) Total amount of loperamide cis- and trans-N-oxide (impurities G and F)
	Любая другая примесь Any other impurity	≤0,2%	Не применимо Not applicable
	Сумма примесей, кроме примеси F Total impurities, except for impurity F	≤0,5%	Не применимо Not applicable
Таблетки, диспергируемые в полости рта Orodispersible tablets	Идентифицируемые примеси Identifiable impurities	≤1,0% Примесь F (лоперамида N-оксид) Impurity F (Loperamide N-oxide)	Не применимо Not applicable
	Любая другая примесь Any other impurity	≤0,2%	
	Сумма примесей, кроме примеси F Total impurities, except for impurity F	≤1,0%	
Капсулы Capsules	Идентифицируемые примеси Identifiable impurities	≤2,0% Примесь F (лоперамида N-оксид) Impurity F (Loperamide N-oxide)	Не применимо Not applicable
	Любая другая примесь Any other impurity	≤0,2%	
	Сумма примесей, кроме примеси F Total impurities, except for impurity F	≤1,0%	

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

\* Описан контроль по содержанию единичной идентифицированной примеси F / Control of the content of a single identified impurity F is described.

\*\* Не нормированы примеси Loperamide trans-N-oxide и Loperamide cis-N-oxide отдельно, а рассчитывается их сумма / Impurities of Loperamide trans-N-oxide and Loperamide cis-N-oxide are not standardized separately, but their total amount is calculated.

<sup>49</sup> Monograph Loperamide hydrochloride tablets. United States Pharmacopoeia. USP 48–NF 43. Rockville, MD; 2025.

<sup>50</sup> ОФС.1.1.0023 Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>51</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 04.10.2022 № 138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей».

<sup>52</sup> Monograph Loperamide hydrochloride capsules. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. 11th ed. Beijing; 2020.

Монографии всех фармакопей предусматривают испытание по показателю «Растворение». Согласно ChP, USP, IP и KP используется аппарат «вращающаяся корзинка» (скорость вращения 100 об/мин); согласно ВР – аппарат «лопастная мешалка» (50 об/мин), что считается равноценным. Среда растворения (ацетатный буфер, рН 4,7) одинаковая в фармакопеях. Для оценки количества высвобождаемого вещества во всех монографиях включен метод ВЭЖХ. Нормы по количеству высвобождаемого вещества в фармакопеях ChP, USP, IP и KP составляют «не менее 80% (Q) от заявленного количества через 30 мин». В ВР традиционно приведена ссылка на общую монографию «Растворение», в которой указана стандартная норма «не менее 75% (Q) от заявленного количества через 45 мин».

Контроль родственных примесей для капсул лоперамида гидрохлорида предусмотрен только в ВР (метод ВЭЖХ) [9]. Поскольку в USP монография не пересматривалась с 2013 г., поэтому в нее, вероятно, не включено определение примесей. ВР нормирует содержание примеси F (лоперамида N-оксид) – не более 2,0%; любой другой примеси – не более 0,2%; суммы примесей – не более 0,5%. Так как максимальная суточная доза лоперамида обычно не превышает 12 мг, в соответствии с ГФ РФ<sup>53</sup> и Решением Коллегии ЕЭК<sup>54</sup> порог идентификации составляет 0,2%, что соответствует указанным нормам.

Для показателя «Количественное определение» нормативные требования в фармакопеях также различаются. В IP, USP, ChP и KP установлена норма «от 90,0 до 110,0% от заявленного количества лоперамида гидрохлорида»; в ВР задан более узкий диапазон – «от 95,0 до 105,0% от заявленного количества лоперамида гидрохлорида». Во всех монографиях для количественного определения предусмотрено использование метода ВЭЖХ с УФ-детектором, изократическим режимом элюирования и определенными отличиями в составе подвижной фазы и оборудовании. Например, в ВР, ChP и KP указано использование колонки C18, а в USP – C8. Колонка C8 содержит октилсилан в качестве стационарной фазы, а C18 – октадецилсилан. Колонки C18 обеспечивают более высокую эффективность разделения веществ за счет более длинной алкильной цепи, что позволяет получать более четкие пики и лучшее разрешение, но при более длительном времени работы. Колонки C8 обеспечивают бо-

лее быстрое разделение благодаря умеренной гидрофобности сорбента, но меньшую степень разделения<sup>55</sup>.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного сравнительного анализа фармакопейных стандартов качества на фармацевтическую субстанцию лоперамида гидрохлорида установлено, что ФС.2.1.0613 «Лоперамида гидрохлорид» ГФ РФ в значительной степени гармонизирована с Ph. Eur./ВР. Требования ФС являются одними из наиболее строгих, используются более совершенные методики по сравнению с USP, IP, ChP и KP.

Поскольку, согласно Концепции гармонизации фармакопей государств – членов ЕАЭС (Решение Коллегии ЕЭК от 22.09.2015 № 119), приоритетными являются Ph. Eur./ВР и USP, актуально исключение идентификации лоперамида гидрохлорида методом УФ-спектрофотометрии из ФС.2.1.0613 ГФ РФ и включение дополнительно метода идентификации хлоридов с помощью качественной реакции, так как фармацевтическая субстанция является солью.

Качественный профиль примесей в фармацевтической субстанции лоперамида гидрохлорида одинаковый в ГФ РФ, Ph. Eur./ВР и USP. Он детально контролируется, в отличие от подхода фармакопей азиатских стран. Для фармацевтической субстанции лоперамида гидрохлорида установлены примеси, относящиеся к технологическим примесям синтеза фармацевтической субстанции и продуктам деструкции. Определение тяжелых металлов полуколичественным методом следует заменить на оценку рисков содержания элементных примесей.

При подготовке спецификаций на таблетки и капсулы лоперамида гидрохлорида рекомендуется использовать для идентификации препаратов в лекарственной форме «таблетки» комбинацию методов ВЭЖХ и УФ или ВЭЖХ и ТСХ, для капсул – ВЭЖХ и ТСХ, так как оценка только по времени удерживания не рассматривается в настоящее время как специфичная идентификация.

Производители воспроизведенных препаратов лоперамида гидрохлорида, как правило, контролируют родственные примеси в соответствии с монографиями ВР (проводится контроль примеси F и неспецифицированных примесей).

<sup>53</sup> ОФС.1.1.0023 Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>54</sup> Решение Коллегии ЕЭК № 138 от 04.10.2022 «Об утверждении требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей».

<sup>55</sup> Садек ПС. Как избежать ошибок в высокоэффективной жидкостной хроматографии. Лабораторное пособие. М.; 1988.

Различия в условиях испытания на растворение (рН среды), нормах по высвобождению для таблеток будут реализовываться в спецификациях производителей и создавать разнообразие условий испытания и требований.

Несмотря на указание в ОФС.1.4.1.0015 «Таблетки» ГФ РФ о том, что при проведении испытания по показателю «Растворение» допускается не проводить испытание по показателю «Распадаемость», в зависимости от модификации лекарственной формы «таблетки» может быть необходимо включение обоих испытаний

на «Распадаемость» и «Растворение» для таблеток, диспергируемых в полости рта, таблеток диспергируемых, таблеток-лиофилизатов (в последнем случае, если восстановленная форма – суспензия).

Следует рассмотреть вопрос о возможности экстраполяции применения расчетно-массового способа к контролю однородности дозирования для таблеток-лиофилизатов независимо от дозировки согласно общему подходу к лиофилизатам, так как таблетки-лиофилизаты фактически таблетками не являются.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Болотина ГИ, Ноздрачева ЕВ. Влияние факторов эндогенного и экзогенного происхождения на функциональное состояние желудочно-кишечного тракта человека. *Ученые записки Брянского государственного университета*. 2021;(1):21–4. Bolotina GI, Nozdracheva EV. Influence of factors of endogenous and exogenous origin on functional state of the gastrointestinal tract. *Scientific Notes of the Bryansk State University*. 2021;(1):21–4 (In Russ.). EDN: AMAJGH
2. Шептулин АА, Работягова ЮС. Современные подходы к диагностике и лечению функциональной диареи. *Клиническая медицина*. 2022;100(6):300–4. Sheptulin AA, Rabotyagova YuS. Modern approaches to the diagnostics and treatment of functional diarrhea. *Clinical Medicine (Russian Journal)*. 2022;100(6):300–4 (In Russ.). <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2022-100-6-300-304>
3. Borron SW, Watts SH, Tull J, et al. Intentional misuse and abuse of loperamide: A new look at a drug with “low abuse potential”. *J Emerg Med*. 2017;53(1):73–84. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2017.03.018>
4. Масловский ЛВ. Лоперамида гидрохлорид: механизм действия и возможности использования в гастроэнтерологии (обзор литературы). *Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium Medicum*. 2015;(1):43–8. Maslovsky LV. Loperamide hydrochloride: The mechanism of action and potential use in gastroenterology (literature review). *Consilium Medicum. Gastroenterology (Suppl)*. 2015;(1):43–8 (In Russ.). EDN: TTGSJD
5. Казаков АС, Аляутдин РН, Снегирева ИИ и др. Современные риски лекарственных взаимодействий при применении лоперамида. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017;80(3):36–9. Kazakov AS, Alyautdin RN, Snegireva II, et al. Modern risks of loperamide drug interactions. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017;80(3):36–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2017-80-3-36-39>
6. Estévez Company C, Bayarri Ferrer N, Castells Boliart J, Echeverría Beistegui B. Process for the preparation of loperamide. European patent specification, EP2132175B1. <https://patents.google.com/patent/EP2132175B1/en>
7. Belboukhari N, Meriem B, Sekkoum K. Chemical testing and enantio-separation of Loperamide by HPLC method. *Stud Eng Exact Sci*. 2024;5(2):e11886. <https://doi.org/10.54021/seesv5n2-715>
8. Alejandro B, Guillermo T, Angeles PM. Formulation and evaluation of loperamide HCl oro dispersible tablets. *Pharmaceuticals*. 2020;13(5):100. <https://doi.org/10.3390/ph13050100>
9. Pippalla S, Chintala V. Stability-indicating RP-HPLC method development and validation for determination of impurities in loperamide hydrochloride capsules dosage form. *Biomed Chromatogr*. 2025;39(4):e70027. <https://doi.org/10.1002/bmc.70027>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.Н. Новиченко – систематизация и анализ нормативных документов, написание текста рукописи; Е.Л. Ковалева – идея исследования, ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; П.А. Онисько – систематизация и анализ нормативных документов, написание текста рукописи; К.С. Кочетов – участие в обсуждении материалов, сбор, анализ и интерпретация данных литературы, составление табличного материала.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. A.N. Novichenko reviewed and analyzed regulatory documents, drafted the manuscript. E.L. Kovaleva conceived the study, was responsible for all aspects of the work and the integrity of all parts of the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication. P.A. Onisko reviewed and analyzed regulatory documents, drafted the manuscript. K.S. Kochetov participated in discussions of the materials, collected, analyzed, and interpreted literature data, and compiled the tables.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Новиченко Анастасия Николаевна / Anastasia N. Novichenko

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2105-8932>

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук / Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>

Онисько Полина Андреевна / Polina A. Onisko

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-2241-7600>

Кочетов Константин Сергеевич / Konstantin S. Kochetov

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0743-3738>

Поступила 29.10.2025

После доработки 03.04.2026





Принята к публикации 21.04.2026

Received October 29, 2025

Revised April 3, 2026

Accepted April 21, 2026



Л.И. Панова ✉   
Л. Изганина   
А.С. Ворожейкин   
О.Н. Зайцева 

## Сравнительный анализ фармакопейных требований к качеству лекарственных средств метоклопрамида

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

✉ Панова Людмила Ивановна; [panova@expmed.ru](mailto:panova@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Метоклопрамид – лекарственный препарат, который широко применяется в качестве противорвотного средства. В фармацевтической промышленности используется метоклопрамид в форме основания или гидрохлорида моногидрата. Фармакопейная статья на фармацевтическую субстанцию «метоклопрамида гидрохлорид моногидрат» включена в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ), однако требования в качестве лекарственных препаратов на основе метоклопрамида в ГФ РФ отсутствуют. Для последующей разработки фармакопейной статьи на лекарственные препараты метоклопрамида представляется необходимой систематизация действующих зарубежных и российских требований к лекарственным средствам на основе метоклопрамида.

**ЦЕЛЬ.** Разработка подхода к контролю качества лекарственного препарата в лекарственной форме «таблетки» и фармацевтической субстанции метоклопрамид (гидрохлорид и основание).

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В работе использовали методы сравнительного информационно-аналитического исследования и контент-анализа. Проведено исследование требований ГФ РФ XV изд. и ведущих зарубежных фармакопей: Европейской фармакопеи (Ph. Eur.), Британской фармакопеи (BP), Фармакопеи США (USP), Индийской фармакопеи (IP), Фармакопеи Китайской Народной Республики (ChP), Японской фармакопеи (JP), Корейской фармакопеи (KP).

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Обоснован выбор показателей качества, методов анализа и критериев приемлемости для подготовки рекомендаций по составлению спецификаций на фармацевтическую субстанцию «метоклопрамид» основания и солевой формы, а также лекарственного препарата в лекарственной форме «таблетки». Проведен сравнительный анализ требований ГФ РФ и зарубежных фармакопей, а также изучены материалы регистрационных досье на фармацевтические субстанции и препараты в части ключевых показателей качества фармацевтической субстанции метоклопрамида: «Идентификация», «Родственные примеси», «Количественное определение» для субстанций и для таблеток; дополнительно для таблеток – «Растворение». В ходе проведенного анализа обоснован выбор аналитических методов контроля качества по показателю «Идентификация»: для фармацевтической субстанции – спектроскопия в ближней инфракрасной области, тонкослойная хроматография; для лекарственного препарата – высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектором или комбинация методов высокоэффективной жидкостной хроматографии и спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях. Установлен допустимый уровень единичных примесей по показателю «Родственные примеси» для фармацевтической субстанции и препарата. Рекомендованы условия проведения испытаний по показателям качества «Растворение» и «Количественное определение». Даны рекомендации по включению показателей качества и методов анализа в фармакопейную статью на метоклопрамид основание. Предложено сокращение количества методов идентификации, указанных в ФС «Метоклопрамида гидрохлорид моногидрат».





**ВЫВОДЫ.** На основании сравнительного анализа фармакопейных требований предложен подход к формированию требований к качеству лекарственных средств метоклопрамида (субстанции и лекарственного препарата в форме «таблетки»). В качестве основы нормирования любой единичной примеси и суммы примесей предложено использовать подход Британской фармакопеи. Рекомендовано включить в ГФ РФ ФС на фармацевтическую субстанцию «метоклопрамид основание».

**Ключевые слова:** противорвотные средства; метоклопрамид; метоклопрамид основание; метоклопрамида гидрохлорид моногидрат; стандартизация; сравнительный анализ; фармакопеи; требования к качеству; качество лекарственных средств; показатели качества; методы анализа; фармацевтическая субстанция; таблетки

**Для цитирования:** Панова Л.И., Изганина Л., Ворожейкин А.С., Зайцева О.Н. Сравнительный анализ фармакопейных требований к качеству лекарственных средств метоклопрамида. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):152–162. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-152-162>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР № 124022300127-0).

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Lyudmila I. Panova   
Lyubov Izganina   
Alexander S. Vorozheykin   
Olga N. Zaitseva 

## Comparative Analysis of Pharmacopoeial Requirements for the Quality of Metoclopramide Medicinal Products

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

✉ Lyudmila I. Panova; [panova@expmed.ru](mailto:panova@expmed.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Metoclopramide is a medicinal product widely used as an antiemetic. The pharmaceutical industry applies metoclopramide in the form of base or hydrochloride monohydrate. The pharmacopoeial monograph for metoclopramide hydrochloride monohydrate drug substance was included in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF); however, SP RF specifies no quality requirements for metoclopramide-based medicinal products. In order to develop a relevant monograph, it seems necessary to systematize the current foreign and Russian compendial requirements.

**AIM.** This study aimed to develop an approach to quality control of metoclopramide drug substance (hydrochloride and base) and a medicinal product in the dosage form of tablets.

**MATERIALS AND METHODS.** The study used comparative data analysis and content analysis. Compendial requirements of SP RF, Edition XV, and the leading foreign pharmacopoeias – European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), British Pharmacopoeia (BP), United States Pharmacopoeia (USP), Indian Pharmacopoeia (IP), Pharmacopoeia of the People's Republic of China (ChP), Japanese Pharmacopoeia (JP), and Korean Pharmacopoeia (KR) were analyzed.

**RESULTS.** We substantiated the choice of quality parameters, analytical methods and acceptability criteria used to draft the guidelines on preparing specifications for metoclopramide hydrochloride and base, as well as tablets. The requirements found in SP RF and foreign pharmacopoeias were compared, as well as sections of registration dossier for drug substance and tablets covering key quality indicators: Identification, Impurities, and Assay for the substance and tablets; Dissolution (additionally for tablets). Recommendations were given to include quality parameters and analytical methods for the monograph on metoclopramide base. It was proposed to reduce the number of identification methods included in the monograph on Metoclopramide hydrochloride monohydrate.

**CONCLUSIONS.** Comparative analysis of compendial requirements has made it possible to offer a unified approach to the formation of quality requirements for

metoclopramide products (drug substances and tablets). The approach of the British Pharmacopoeia is recommended for rationing any single impurity and total impurities. It is also recommended to include Metoclopramide base monograph in the SP RF.

**Keywords:** antiemetics; metoclopramide; metoclopramide hydrochloride monohydrate; standardization; comparative analysis; pharmacopoeias; quality requirements; drug quality; quality parameters; analytical methods; drug substance; tablets

**For citation:** Panova L.I., Izganina L., Vorozheykin A.S., Zaitseva O.N. Comparative analysis of pharmacopoeial requirements for the quality of metoclopramide medicinal products. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):152–162. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-152-162>

**Funding.** This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00061-26-00 (R&D Registry No. 124022300127-0).

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Метоклопрамид — антагонист дофаминовых D2-рецепторов, широко применяемый в медицинской практике в качестве противорвотного средства. Он используется для лечения тошноты и рвоты, вызванной мигренью, у пациентов после операций, а также у пациентов, проходящих химиотерапию, особенно в случаях, когда назогастральная аспирация противопоказана или недоступна [1–4].

В настоящее время в Государственный реестр лекарственных средств<sup>1</sup> включены 3 зарубежных производителя фармацевтической субстанции метоклопрамид, зарегистрировано 6 препаратов в лекарственной форме «таблетки» (из них в Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС)<sup>2</sup> зарегистрировано 4), содержащих метоклопрамида гидрохлорид в одной дозировке 10 мг.

В Государственную фармакопею Российской Федерации XV изд. (ГФ РФ XV) включена фармакопейная статья (ФС) на фармацевтическую субстанцию метоклопрамида гидрохлорид<sup>3</sup>, однако ФС на фармацевтическую субстанцию метоклопрамид основание и лекарственный препарат отсутствуют. В связи с этим представляется необходимым проведение сравнительного анализа монографий зарубежных фармакопей на фармацевтические субстанции метоклопрамида гидрохлорид и основание и лекарственные препараты в лекарственной форме «таблетки» для обобщения требований.

Отсутствие национальных требований к качеству лекарственных средств (субстанции и препарата), содержащих метоклопрамид, создает неопределенности в процессе фармацевтической разработки лекарственного средства при

выборе показателей качества и их критериев приемлемости как для производителей, так и для экспертов, выполняющих экспертизу материалов регистрационного досье.

Цель работы — разработка подхода к контролю качества лекарственного препарата в лекарственной форме «таблетки» и фармацевтических субстанций метоклопрамида гидрохлорид и метоклопрамида основание.

Задачи исследования

1. Сравнительный анализ фармакопейных требований ГФ РФ и зарубежных фармакопей, а также материалов регистрационных досье, касающихся качества фармацевтической субстанции метоклопрамида основание и метоклопрамида гидрохлорид моногидрат.
2. Сравнительный анализ требований зарубежных фармакопей к контролю качества препарата метоклопрамид в лекарственной форме «таблетки» и обоснование рекомендации к спецификации на препарат.
3. Обобщение основных требований к оценке качества на фармацевтические субстанции метоклопрамида основание и солевой формы, а также ФС на препарат в лекарственной форме «таблетки», содержащие метоклопрамида основание или метоклопрамида гидрохлорид моногидрат.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено с использованием информационно-аналитического метода. Объекты исследования — монографии Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ), Европейской (Ph. Eur.), Британской (BP), Японской (JP), Индийской (IP), Международной (Ph. Int.), Корейской фармакопеи (KP), Фармакопеи

<sup>1</sup> <https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx>

<sup>2</sup> <https://pharma.eaeunion.org/pharma/register/26/ru/register>

<sup>3</sup> ФС.2.1.0469 Метоклопрамида гидрохлорид моногидрат. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

США (USP) и Фармакопеи Китайской Народной Республики (ChP)<sup>4</sup>.

Монографии на лекарственную форму «таблетки метоклопрамида» включены в ряд ведущих зарубежных фармакопей (USP, BP, IP) и содержат данные для таблеток, содержащих метоклопрамида гидрохлорид, а в ChP, JP — данные для таблеток, содержащих метоклопрамида основание.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Фармакопейные требования к качеству фармацевтической субстанции метоклопрамида

В фармацевтической промышленности в качестве активной фармацевтической субстанции используется метоклопрамида гидрохлорид в форме основания либо гидрохлорида моногидрата, подходы к стандартизации метоклопрамида варьируются в зависимости от формы соединения (основание или гидрохлорида моногидрат).

Фармакопейная статья на фармацевтическую субстанцию метоклопрамида гидрохлорида моногидрат включена в ГФ РФ XV изд., Ph. Eur., BP, USP, IP, Ph. Int.<sup>5</sup>. Ph. Eur.<sup>6</sup> / BP наряду с метоклопрамида гидрохлоридом моногидратом устанавливают требования на метоклопрамида основание. В ChP, JP, KP<sup>7</sup> представлены монографии только на метоклопрамида в виде свободного основания. Препарат метоклопрамида гидрохлорид моногидрат в лекарственной форме «таблетки» описан в USP, BP, IP<sup>8</sup>, таблетки на основе метоклопрамида основание включены в монографии JP, ChP<sup>9</sup>.

Требования к качеству фармацевтической субстанции по показателям «Растворимость», «Температура плавления» и «Содержание воды», предъявляемые к разным химическим формам метоклопрамида, априори различны, также существуют различия по показателям «pH» и «Родственные примеси».

Метоклопрамида (солевая форма) представляет собой белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде (в отличие от метоклопрамида основания, который в воде практически нерастворим). Температура плавления метоклопрамида основания — 145–151 °С, гидрохлорида моногидрата — около 183 °С (плавление с разложением).

Содержание воды для гидрохлорида моногидрата в IP, ГФ РФ, Ph. Eur., Ph. Int. — 4,5–5,5%, в USP норма шире — 4,5–6,0%, для основания в ChP, JP, KP заявлена норма не более 0,5%, в Ph. Eur. менее жесткая норма — не более 1,0%.

Фармакопейные требования к качеству фармацевтической субстанции «метоклопрамида основание» представлены в *таблице 1*.

Профиль примесей, указанный в фармакопеях, различается. Идентифицированная примесь E (N,N-диэтилэтилендиамин) является одновременно технологической примесью и продуктом деградации действующего вещества. Ph. Eur. рекомендует использовать ТСХ для контроля примеси E (норма ≤0,2%) и метод ВЭЖХ (градиентная методика) для контроля остальных примесей (нормы: единичная неспецифицированная примесь ≤0,1%, сумма ≤0,2%); JP и KP применяют полуколичественный метод ТСХ для контроля всех примесей (норма ≤0,5%); ChP использует ВЭЖХ (изократическая методика, сумма примесей ≤0,5%), нормирование единичных неспецифицированных примесей и примеси E отсутствует.

Сравнение требований к методам идентификации и контролю примесей фармацевтической субстанции метоклопрамида гидрохлорида представлено в *таблице 2*.

Для идентификации метоклопрамида гидрохлорида USP, Ph. Eur., Int. Ph., ГФ РФ применяют ИК-спектроскопию и во всех монографиях упоминают тест на хлориды; УФ-спектрометрия предложена в Int. Ph. и IP, в ГФ РФ упоминается цветная реакция с 4-диметиламинобензальдегидом

<sup>4</sup> European Pharmacopoeia. 11.5 ed. Strasbourg; 2024; British Pharmacopoeia. London; 2022; Japanese Pharmacopoeia. 18th ed. English version. Tokyo; 2021; United States Pharmacopoeia. USP–NF. Rockville, MD; 2024; Indian Pharmacopoeia. 9th ed. New Delhi; 2022; Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023; International Pharmacopoeia. 12th ed. Geneva: WHO; 2025; Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. V. IV. Beijing; 2020; Korean Pharmacopoeia. 12th ed. Seoul; 2024.

<sup>5</sup> ФС.2.1.0469 Метоклопрамида гидрохлорид моногидрат. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

Monograph Metoclopramidum hydrochloridum monohydricum. European Pharmacopoeia; British Pharmacopoeia.

Monograph Metoclopramidum hydrochloride. United States Pharmacopoeia; Indian Pharmacopoeia.

Monograph Metoclopramide hydrochloride. International Pharmacopoeia.

Bisoprolol fumarate tablets. United States Pharmacopoeia. USP–NF. Rockville, MD; 2025. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed. English version. Tokyo; 2021. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. V. IV. Beijing; 2020. British Pharmacopoeia. London; 2025.

<sup>6</sup> Monograph Metoclopramidum. European Pharmacopoeia.

<sup>7</sup> Monograph Metoclopramide. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China; Japanese Pharmacopoeia; Korean Pharmacopoeia.

<sup>8</sup> Monograph Metoclopramide tablets. United States Pharmacopoeia; British Pharmacopoeia; Indian Pharmacopoeia.

<sup>9</sup> Monograph Metoclopramide tablets. Japanese Pharmacopoeia; Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China.

Таблица 1. Фармакопейные требования к фармацевтической субстанции «метоклопрамид основание»

Table 1. Compendial requirements for metoclopramide (base) drug substance

Показатель качества Quality parameter	Японская фармакопея Japanese Pharmacopoeia	Корейская фармакопея Korean Pharmacopoeia	Европейская фармакопея European Pharmacopoeia	Фармакопея КНР Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China
Идентификация Identification	<ul style="list-style-type: none"> <li>Реакция на первичные ароматические амины;</li> <li>реакция с реактивом Драгендорфа (образование красновато-оранжевого осадка);</li> <li>УФ-спектрофотометрия (среда – 0,01 М НСl, сравнение с УФ-спектром стандартного образца)</li> <li>Reaction to primary aromatic amines;</li> <li>Reaction with Dragendorff's reagent (reddish-orange precipitate);</li> <li>UV spectrophotometry (the medium, 0.01 M HCl solution compared with the UV spectrum of the reference standard)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Реакция на первичные ароматические амины;</li> <li>реакция с реактивом Драгендорфа;</li> <li>УФ-спектрофотометрия</li> <li>Reaction to primary aromatic amines;</li> <li>Reaction with Dragendorff's reagent;</li> <li>UV spectrophotometry</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Определение температуры плавления (145– 149 °С);</li> <li>ИК-спектроскопия (сравнение с ИК-спектром стандартного образца).</li> </ul> Для аптек: <ul style="list-style-type: none"> <li>определение температуры плавления;</li> <li>тонкослойная хроматография</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>Melting point determination (145 to 149 °C);</li> <li>IR spectroscopy (comparison of the IR spectrum with the spectrum of the reference standard).</li> </ul> For pharmacies: <ul style="list-style-type: none"> <li>Melting point determination;</li> <li>TLC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Цветная реакция с H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> на индол и его производные (нагревание с H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> дает фиолетово-черное окрашивание; при разбавлении водой – зеленая флуоресценция);</li> <li>УФ-спектрофотометрия (среда – 0,01 М НСl, максимум оптического поглощения раствора – 308 нм, минимум – 290 нм);</li> <li>ИК-спектроскопия (сравнение с ИК-спектром стандартного образца)</li> <li>Color reaction with sulfuric acid for indole and its derivatives (heating with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> produces a violet-black color; when diluted with water, green fluorescence occurs);</li> <li>UV spectrophotometry (the medium, 0.1 M HCl, has a maximum optical absorption of 308 nm and a minimum of 290 nm);</li> <li>IR spectroscopy (IR spectrum compared with the spectrum of the reference standard)</li> </ul>
Примеси Impurities	ТСХ (любая примесь – не более 0,5%)  TLC: any impurity – not more than 0.5%	ТСХ (любая примесь – не более 0,5%)  TLC: any impurity – not more than 0.5%	ТСХ (примесь Е: не более 0,2%). ВЭЖХ (другие примеси: неспецифицированные примеси – не более 0,1% каждая; сумма примесей – не более 0,2%)  TLC (impurity E: not more than 0.2%). HPLC (other impurities: unspecified impurities – not more than 0.1% each; total impurities – not more than 0.2%)	ВЭЖХ (сумма площадей всех примесных пиков не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (отклонение не более 0,5%))  HPLC: the sum of the areas of all impurity peaks should not exceed the area of the main peak on the chromatogram of the reference solution (deviation not more than 0.5%)

Таблица составлена авторами по данным Japanese Pharmacopoeia; Korean Pharmacopoeia; European Pharmacopoeia; Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China / The table was adapted by the authors from Japanese Pharmacopoeia, Korean Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia, and Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China

**Примечание.** ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ТСХ – тонкослойная хроматография.

**Note.** HPLC, high-performance liquid chromatography; TLC, thin-layer chromatography.

(специфическая реакция на первичную ароматическую аминогруппу (-NH<sub>2</sub>)), а также ТСХ. Таким образом, в ГФ РФ количество испытаний для идентификации является наибольшим. Целесообразно рассмотреть вопрос о сокращении нормативных обязательных испытаний: например, исключить ТСХ или реакцию с диметиламинобензальдегидом.

Примеси в метоклопрамида гидрохлорида моногидрате в ГФ РФ и Ph. Eur. нормируются одинаково: примесь Е (ТСХ) – не более 0,5%, другие

примеси (ВЭЖХ) – не более 0,1%, сумма примесей – не более 0,2%. В USP (ВЭЖХ) примесь А, В, D – не более 0,15% каждая, любая другая примесь – не более 0,10%, сумма примесей – не более 0,50%. В IP (ВЭЖХ) любая единичная примесь – не более 0,15%, сумма примесей – не более 0,5%. В Int. Ph. используется полуколичественный метод ТСХ и менее жесткая норма – не более 1,0% (для каждой индивидуальной примеси). В отличие от метоклопрамида гидрохлорида гидрата в Ph. Eur. для метоклопрамида (основание) для примеси Е предусмотрена

Таблица 2. Фармакопейные требования к фармацевтической субстанции метоклопрамида гидрохлорида  
Table 2. Compendial requirements for Metoclopramide hydrochloride drug substance

Показатель качества Quality parameter	Фармакопея США United States Pharmacopoeia	Международная фармакопея International Pharmacopoeia	Государственная фармакопея Российской Федерации State Pharmacopoeia of the Russian Federation	Индийская фармакопея Indian Pharmacopoeia	Европейская фармакопея European Pharmacopoeia
Идентификация Identification	<ul style="list-style-type: none"> <li>ИК-спектроскопия;</li> <li>качественная реакция на хлориды</li> <li>IR spectroscopy;</li> <li>qualitative reaction for chlorides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ИК-спектроскопия;</li> <li>УФ-спектроскопия (в диапазоне от 230 до 350 нм максимумы при 273 и 309 нм);</li> <li>реакция с 4-диметиламинобензальдегидом (желто-оранжевое окрашивание);</li> <li>реакция на хлориды.</li> </ul> <p>Могут применяться либо методы А и D, либо методы В, С и D</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>IR spectroscopy;</li> <li>UV spectroscopy (in the range from 230 to 350 nm, maximum values observed at approximately 273 nm and 309 nm);</li> <li>reaction with 4-dimethylaminobenzaldehyde (yellow-orange color);</li> <li>reaction to chlorides.</li> </ul> <p>Either Methods A and D, or Methods B, C, and D can be used</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ИК-спектроскопия;</li> <li>тонкослойная хроматография;</li> <li>реакция с диметиламинобензальдегидом (красновато-оранжевый осадок);</li> <li>реакция на хлориды</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>IR spectroscopy;</li> <li>TLC;</li> <li>reaction with dimethylaminobenzaldehyde (reddish-orange precipitate);</li> <li>reaction to chlorides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>УФ-спектроскопия (в диапазоне от 230 до 360 нм максимумы при 273 и 309 нм);</li> <li>реакция с диметиламинобензальдегидом;</li> <li>реакция на хлориды</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>UV spectrophotometry (in the range from 230 to 360 nm, maximum values are observed at approximately 273 nm and 309 nm);</li> <li>reaction with dimethylaminobenzaldehyde;</li> <li>reaction to chlorides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>pH (4,5–6,0);</li> <li>ИК-спектроскопия;</li> <li>реакция на хлориды.</li> </ul> <p>Для аптек:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>pH (4,5–6,0);</li> <li>тонкослойная хроматография;</li> <li>реакция на хлориды;</li> <li>реакция на первичные амины</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>pH (4,5–6,0);</li> <li>IR spectroscopy;</li> <li>chloride test.</li> </ul> <p>For pharmacies:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>pH (4,5–6,0);</li> <li>TLC;</li> <li>chloride test;</li> <li>primary amine test</li> </ul>
Примеси Impurities	<ul style="list-style-type: none"> <li>Остаток при прокаливании ≤0,1%;</li> <li>органические примеси (ВЭЖХ): А, В, D ≤0,15%;</li> <li>любая неидентифицированная примесь ≤0,10%;</li> <li>сумма примесей ≤0,50%</li> <li>Residue on ignition: ≤0.1%;</li> <li>organic impurities (HPLC): A, B, D ≤0.15%;</li> <li>any unidentified impurity ≤0.10%;</li> <li>total impurities ≤0.50%</li> </ul>	<p>ТСХ: любая примесь ≤1,0%</p> <p>TLC: any impurity ≤1.0%</p>	<p>ТСХ: примесь E ≤0,5%;</p> <p>ВЭЖХ: любая примесь ≤0,1%;</p> <p>сумма примесей ≤0,2%</p> <p>Impurity E (TLC): ≤0.5%;</p> <p>HPLC: any impurity ≤0.1%; total impurities ≤0.2%</p>	<p>ВЭЖХ: любая примесь ≤0,15%;</p> <p>сумма примесей ≤0,5%</p> <p>HPLC: any impurity ≤0.15%; total impurities ≤0.5%</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ТСХ: примесь E ≤0,5%;</li> <li>ВЭЖХ: любая неидентифицированная примесь ≤0,10%; сумма примесей ≤0,2%</li> <li>TLC: impurity E ≤0.5%;</li> <li>HPLC: any unidentified impurity ≤0.10%, total impurities ≤0.2%</li> </ul>

Таблица составлена авторами по данным Государственной фармакопей Российской Федерации; United States Pharmacopoeia; International Pharmacopoeia; Indian Pharmacopoeia; European Pharmacopoeia / The table was adapted by the authors from the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, United States Pharmacopoeia, International Pharmacopoeia, Indian Pharmacopoeia, and European Pharmacopoeia

**Примечание.** ТСХ — тонкослойная хроматография, ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография.  
Технологические примеси: примесь А — 4-ацетамидо-5-хлор-N-[2-(диэтиламино)этил]-2-метоксибензамид, примесь В — метил-4-ацетамидо-5-хлор-2-метоксибензоат, примесь D — метил-4-ацетамидо-2-метоксибензоат.

**Note.** TLC, thin-layer chromatography; HPLC, high-performance liquid chromatography.  
Process impurities: impurity A, 4-acetamido-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamide; impurity B, methyl 4-acetamido-5-chloro-2-methoxybenzoate; impurity D, methyl 4-acetamido-2-methoxybenzoate; impurities A, B, D, process impurities.

более мягкая норма –  $\leq 0,5\%$ ; профиль примесей, определенный методом ВЭЖХ, совпадает для метоклопрамида гидрохлорида и метоклопрамида основания.

Дополнительные показатели контроля «Потеря в массе при высушивании» и «Сульфатная зола» контролируются во всех рассмотренных монографиях. Норма потери в массе при высушивании составляет  $\leq 0,5\%$  во всех фармакопеях, кроме Ph. Eur., где регламентирована менее жесткая норма –  $\leq 1,0\%$ . Норма сульфатной золы во всех фармакопеях указана  $\leq 0,1\%$ . Показатели «Мышьяк» ( $\leq 2$  ppm) и «Тяжелые металлы» ( $\leq 20$  ppm) контролируются только ChP. В монографиях JP, KP и ChP указаны условия хранения: «В хорошо укупоренной упаковке», в то время как в Ph. Eur. подобная информация отсутствует.

На основании сравнительного анализа можно рекомендовать гармонизацию проекта фармакопейной статьи «Метоклопрамид основание» с монографией Европейской фармакопеи<sup>10</sup>. Это обусловлено подходом к выбору методов и условий испытаний, наличием критичных показателей и допустимых критериев приемлемости для оценки качества субстанции. В проект ФС рекомендуется включить следующие показатели:

- описание;
- идентификация (ИК-спектроскопия + температура плавления; для аптек: ТСХ + качественная реакция с диметиламинобензальдегидом);
- родственные примеси (примесь E – ТСХ, другие примеси – ВЭЖХ);
- потеря в массе при высушивании;
- сульфатная зола;
- микробиологическая чистота;
- остаточные органические растворители;
- количественное определение (неводное потенциометрическое титрование) [5];
- условия хранения (в хорошо укупоренной упаковке).

Для идентификации, помимо ИК-спектроскопии и определения температуры плавления, целесообразно предусмотреть ТСХ и качественную реакцию (реакция с диметиламинобензальдегидом) при проведении анализа в производственных аптеках в качестве методов, не требующих серьезного инструментального оформления. В ФС для метоклопрамида

гидрохлорида моногидрат рекомендовано сохранить в качестве методов идентификации ИК-спектроскопию + качественную реакцию на хлориды.

### **Фармакопейные требования к качеству метоклопрамида в лекарственной форме «таблетки»**

Требования к качеству метоклопрамида гидрохлорида моногидрата в лекарственной форме «таблетки» описаны в монографиях Metoclopramide tablets USP, BP, IP. Требования к качеству препарата в ЛФ «таблетки», содержащие метоклопрамида основание, описаны в монографиях Metoclopramide tablets JP, ChP (табл. 3).

УФ-спектр, зарегистрированный в растворе метоклопрамида гидрохлорида (IP) и метоклопрамида основания (JP), имеет 2 максимума (273 и 309 нм; 270–274 и 306–310 нм соответственно), в ChP для метоклопрамида основания указывается максимум поглощения при длине волны 308 нм и минимум – при длине волны 290 нм. УФ-детектирование при количественном определении осуществляется при разных длинах волн: метоклопрамида гидрохлорида 215 и 305 нм и метоклопрамида основания 275 и 308 нм.

Подход к контролю примесей в таблетках, содержащих метоклопрамида основание и метоклопрамида гидрохлорид, различается. В ChP и JP контроль примесей в таблетках метоклопрамида основания не регламентирован, тогда как остальные фармакопеи в препаратах солевой формы обязуют контролировать любую единичную примесь ( $\leq 0,5\%$ ) (USP, BP, IP), и BP дополнительно устанавливает требования к сумме примесей ( $\leq 1,5\%$ ). Согласно Решению Коллегии ЕЭК<sup>11</sup> примеси с содержанием  $\geq 0,2\%$  должны быть идентифицированы (при максимальнойточной дозе 30 мг).

Сравнительный анализ требований JP, USP, IP, ChP и BP выявил различные подходы в условиях проведения испытаний по показателю «Растворение». Так, JP руководствуется общими требованиями (устанавливаются отдельно при регистрации препарата), в отличие от стандартизированного подхода USP и IP, предусматривающего конкретные условия проведения испытания и нормы, что может обеспечить большую воспроизводимость результатов. ChP придерживается более жестких

<sup>10</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 22.09.2015 № 119 «О Концепции гармонизации фармакопей государств – членов Евразийского экономического союза».

<sup>11</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 04.10.2022 № 138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей».

Сравнительный анализ фармакопейных требований к качеству лекарственных средств метоклопрамида

Таблица 3. Требования к качеству лекарственного препарата метоклопрамида в лекарственной форме «таблетки»

Table 3. Compendial requirements for Metoclopramide tablets

Показатель качества Quality parameter	Индийская фармакопея. Таблетки метоклопрамида гидрохлорид Indian Pharmacopoeia. Metoclopramide hydrochloride tablets	Американская фармакопея. Таблетки метоклопрамида гидрохлорид United States Pharmacopoeia. Metoclopramide hydrochloride tablets	Британская фармакопея. Таблетки метоклопрамида гидрохлорид British Pharmacopoeia. Metoclopramide hydrochloride tablets	Фармакопея КНР. Таблетки метоклопрамида Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. Metoclopramide base tablets	Японская фармакопея. Таблетки метоклопрамида основание Japanese Pharmacopoeia. Metoclopramide base tablets
Идентификация Identification	ВЭЖ HPLC	ВЭЖ с диодно-матричным детектором HPLC with diode array detector	ВЭЖ HPLC	ВЭЖ HPLC	-
	Качественная реакция Identification test	Цветная реакция с 4-диметил-тиламинобензальдегидом (специфическая реакция на первичную ароматическую аминогруппу (-NH <sub>2</sub> )) Color reaction with 4-dimethylaminobenzaldehyde (specific reaction for the primary aromatic amino group (-NH <sub>2</sub> ))	Цветная реакция с 4-диметил-аминобензальдегидом (специфическая реакция на первичную ароматическую аминогруппу (-NH <sub>2</sub> )) Color reaction with 4-dimethylaminobenzaldehyde (specific reaction for the primary aromatic amino group (-NH <sub>2</sub> ))	Цветная реакция с серной кислотой (специфическая реакция на индол или его производные) Color reaction with sulfuric acid (specific reaction for indole or its derivatives)	Цветная реакция с 4-диметил-тиламинобензальдегидом (специфическая реакция на первичную ароматическую аминогруппу (-NH <sub>2</sub> )) Color reaction with 4-dimethylaminobenzaldehyde (specific reaction for the primary aromatic amino group (-NH <sub>2</sub> ))
Растворение Dissolution	УФ-спектрометрия UV spectrometry	УФ-спектрофотометрия (максимумы при 273 и 309 нм) UV spectrophotometry (maximum values at 273 nm and 309 nm)	-	УФ-спектрофотометрия (максимум при 270–274 нм и минимум – при 290 нм) UV spectrophotometry (maximum value at wavelength of 308 nm, minimum – at wavelength of 290 nm)	УФ-спектрофотометрия (максимумы при 270–274 нм и при 306–310 нм) UV spectrophotometry (maximum values between 270–274 nm and between 306–310 nm)
	Не менее 75% (Q) в течение 30 мин от заявленного количества Not less than 75% (Q) within 30 min of the declared quantity	Не менее 75% (Q) в течение 30 мин от заявленного количества Not less than 75% (Q) within 30 min of the declared quantity	Не менее 75% (Q) в течение 30 мин от заявленного количества Not less than 75% (Q) within 30 min of the declared quantity	Не менее 80% (Q) в течение 30 мин от заявленного количества Not less than 80% (Q) within 30 min of the declared quantity	Требования к растворению определяются регулирующими органами Японии и указываются в спецификации конкретного препарата Dissolution requirements are determined by the Japanese regulatory authorities and are listed in the specifications of the given registered product

Продолжение таблицы 3

Table 3 (continued)

Показатель качества Quality parameter	Индийская фармакопея. Таблетки метоклопрамида гидрохлорид <i>Indian Pharmacopoeia. Metoclopramide hydrochloride tablets</i>	Американская фармакопея. Таблетки метоклопрамида гидрохлорид <i>United States Pharmacopoeia. Metoclopramide hydrochloride tablets</i>	Британская фармакопея. Таблетки метоклопрамида гидрохлорид <i>British Pharmacopoeia. Metoclopramide hydrochloride tablets</i>	Фармакопея КНР. Таблетки метоклопрамида основание <i>Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. Metoclopramide base tablets</i>	Японская фармакопея. Таблетки метоклопрамида основание <i>Japanese Pharmacopoeia. Metoclopramide base tablets</i>
Условия испытания «Растворение» Test Method (for Dissolution)	Среда – вода; объем 900 мл; аппарат: корзинка (аппарат 1); скорость 50 об/мин; длительность выдерживания 30 мин; УФ-детектирование при ~309 нм <i>Medium: water; volume: 900 mL; apparatus: basket (apparatus 1); speed: 50 rpm; time: 30 min; detection: UV at ~309 nm</i>	Среда – вода; объем 900 мл; аппарат: корзинка (аппарат 1); скорость 50 об/мин; длительность выдерживания 30 мин; УФ-детектирование при ~309 нм <i>Medium: water; volume: 900 mL; apparatus: basket (apparatus 1); speed: 50 rpm; time: 30 min; detection: UV at ~309 nm</i>	Среда – раствор хлороводородной кислоты (рН≈1,24); объем 500 мл (для 5 мг) или 900 мл (для 10 мг); аппарат корзинка (метод 1); скорость 100 об/мин; длительность выдерживания 30 мин; УФ-детектирование при 308 нм <i>Medium: hydrochloric acid solution (pH≈1.24); volume: 500 mL (for 5 mg) or 900 mL (for 10 mg); apparatus: basket (method 1); speed: 100 rpm; time: 30 min; detection: UV at 308 nm</i>	Среда – раствор хлороводородной кислоты (рН≈1,24); объем 500 мл (для 5 мг) или 900 мл (для 10 мг); аппарат корзинка (метод 1); скорость 100 об/мин; длительность выдерживания 30 мин; УФ-детектирование при 308 нм <i>Medium: hydrochloric acid solution (pH≈1.24); volume: 500 mL (for 5 mg) or 900 mL (for 10 mg); apparatus: basket (method 1); speed: 100 rpm; time: 30 min; detection: UV at 308 nm</i>	Требования к раствору определены регулирующими органами Японии и указываются в спецификации конкретного зарегистрированного продукта <i>Dissolution requirements are determined by the Japanese regulatory authorities and are listed in the specification of the given registered product</i>
Примеси Impurities	ВЭЖХ. Любая единичная примесь ≤0,5% HPLC. Any single impurity ≤ 0.5%	ВЭЖХ. Любая единичная примесь ≤0,5% HPLC. Any single impurity ≤ 0.5%	ВЭЖХ. Любая примесь ≤0,5%; сумма примесей ≤1,5% HPLC. Any impurity ≤0.5%; total impurities ≤1.5%	–	–
Количественное определение, % от заявленного содержания Assay, % of the label content	90,0–110,0	90,0–110,0	90,0–110,0	90,0–110,0	95,0–105,0
Условия испытания «Количественное определение» Test Method (for Assay)	ВЭЖХ (колонок C18 (20×4,6 см, 5 мкм); рН подвижной фазы 3,8; УФ-детектирование при 305 нм) HPLC (column: C18 (20×4,6 cm, 5 μm); mobile phase: pH 3,8, UV at 305 nm)	ВЭЖХ (колонок L1 C18 (25 см × 4,6 мм, 5 мкм); рН подвижной фазы 6,5; УФ-детектирование при 215 нм) HPLC (column: L1 C18 (25 cm × 4,6 mm, 5 μm); mobile phase: pH 6.5; UV at 215 nm)	ВЭЖХ (колонок стальная, 15 см × 4,6 мм, C18 (Novapak C18, 4 мкм); рН подвижной фазы 3,8; УФ-детектирование при 305 нм) HPLC; (column: stainless steel, 15 cm × 4,6 mm, C18 (Novapak C18, 4 μm); mobile phase: pH 3.8; UV at 305 nm)	ВЭЖХ (колонок C18 (октадецилсилановая); рН подвижной фазы 4,0; УФ-детектирование при 275 нм) HPLC (column: C18 (octadecylsilane); mobile phase: pH 4.0; UV at 275 nm)	УФ-спектрофотометрия (растворитель 0,1 М HCl; детектирование при 308 нм) UV spectrophotometry; solvent: 0.1 M HCl; detector: UV at 308 nm

Таблица составлена авторами по данным Indian Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, Japanese Pharmacopoeia / The table was adapted by the authors from Indian Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, and Japanese Pharmacopoeia

**Примечание.** «–» – показатель в монографии не включен; ВЭЖХ/HPLC или ВЭЖХ с диодно-матричным детектором – высокоэффективная жидкостная хроматография или высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектором; УФ-спектрофотометрия – абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях.  
**Note.** –, not standardised; HPLC / HPLC with diode array detector; high-performance liquid chromatography or HPLC with diode array detector; UV spectrophotometry, absorption spectrophotometry in the ultraviolet and visible range.

требований к оценке растворения по сравнению с USP и IP, делая акцент на повышенном контроле биофармацевтических характеристик лекарственных форм.

При оценке количественного содержания действующего вещества USP, IP, ChP и BP применяют сходные допустимые пределы и методы анализа (ВЭЖХ), что указывает на согласованный подход к нормам. В JP зафиксирован более узкий диапазон допустимых значений, однако метод анализа совпадает с указанным в вышеупомянутых фармакопеях.

Таблетки метоклопрамида чувствительны к свету, поэтому фармакопейные документы оговаривают специальные условия хранения: ChP и JP рекомендуют хранение в плотно закрытых контейнерах; USP – в плотно закрытых светозащитных контейнерах при контролируемой комнатной температуре; IP и BP – в защищенном от света месте, при этом IP дополнительно требует защиты от влаги.

Сравнение требований к таблеткам метоклопрамида на основе спецификаций и нормативных документов производителей приведено в *таблице 4 Требования к лекарственным препаратам «метоклопрамид таблетки» производителей фармацевтической продукции* (опубликована на сайте журнала)<sup>12</sup>.

Все 6 производителей используют в качестве действующего вещества при производстве лекарственной формы метоклопрамида гидрохлорида моногидрат, в технологическом процессе производства в качестве растворителя на этапе влажной грануляции используют воду, в связи с чем контроль остаточных органических растворителей отсутствует. Методы анализа, используемые при контроле качества, также сходные.

## ВЫВОДЫ

На основании сравнительного анализа фармакопейных требований предложен подход к формированию требований к качеству лекарственных средств метоклопрамида (субстанции

и лекарственного препарата в форме «таблетки»). Основой нормирования любой единичной примеси и суммы примесей предложено использовать подход Британской фармакопеи.

При оценке качества фармацевтических субстанций метоклопрамида целесообразно включение монографии на метоклопрамид основание в ГФ РФ (профиль примесей метоклопрамида в форме основания и в солевой форме практически одинаков). ФС на субстанции метоклопрамид основание и метоклопрамида гидрохлорид позволит включить в ГФ РФ ФС на лекарственные препараты, изготовленные из обеих фармацевтических субстанций.

При оценке качества лекарственных препаратов в лекарственной форме «таблетки» для идентификации действующего вещества возможно использование метода ВЭЖХ с диодно-матричным детектором либо комбинации двух методов: ВЭЖХ и УФ-СФМ.

Поскольку метоклопрамида гидрохлорид имеет высокую биодоступность, производители лекарственных средств могут рассматривать различные условия проведения испытаний по показателю «Растворение» при разработке и подготовке спецификаций и нормативного документа по качеству на лекарственный препарат «метоклопрамид таблетки» (например, аппарат «вращающаяся корзинка», среда растворения – вода, с нормой «не менее 75% (Q) от заявленного количества в течение 30 мин»). Если состав лекарственного препарата содержит метоклопрамид основание, можно использовать в качестве среды растворения раствор хлороводородной кислоты (9 мл до 1000 мл, pH – 1,24). Анализ количественного содержания действующего вещества и профиля контролируемых примесей в лекарственных препаратах «метоклопрамид» возможен с помощью метода ВЭЖХ, при этом максимальный уровень содержания неспецифицированных (неидентифицированных) примесей, согласно требованиям ГФ РФ и нормативно-правовых документов ЕАЭС, не должен превышать 0,2%.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Пахомович СС, Чепинога ОА, Солодков МВ. К вопросу о развитии импортозамещения в фармацевтической промышленности. *Известия Байкальского государственного университета*. 2024;34(2):379–88. Pakhomovich SS, Chepinoga OA, Solodkov MV. On the issue of the development of import substitution in the pharmaceutical industry. *Bulletin of the Baikal State University*. 2024;34(2):379–88 (In Russ.). [https://doi.org/10.17150/2500-2759.2024.34\(2\).379-388](https://doi.org/10.17150/2500-2759.2024.34(2).379-388)
2. Parkash M, Shoaib MH, Sikandar M, et al. Formulation development, characterization, and mechanistic PBPK modeling of metoclopramide loaded halloysite nanotube (HNT) based drug-in-adhesive type transdermal drug delivery system. *Sci Rep*. 2024;14:28512. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-80089-8>
3. Wolfes J, Ellermann C, Burde S, et al. Proarrhythmic potential of metoclopramide in a sensitive whole-heart model. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2021;128(6):741–6. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13567>

<sup>12</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-152-162-table>

4. Egerton-Warburton D, Meek R, Mee MJ, Braitberg G. Antiemetic use for nausea and vomiting in adult emergency department patients: randomized controlled trial comparing ondansetron, metoclopramide, and placebo. *Ann Emerg Med.* 2014;64(5): 526–32. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2014.03.017>
5. Devi OZ, Basavaiah K, Vinay KB. Application of potassium permanganate to spectrophotometric assay of metoclopramide hydrochloride in pharmaceuticals. *J Appl Spectrosc.* 2012;78:873–83. <https://doi.org/10.1007/s10812-012-9547-9>

**Дополнительная информация.** Таблица 4 размещена на сайте журнала «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств». <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-152-162-table>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Л.И. Панова – идея, разработка концепции исследования, критический пересмотр текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; Л. Изганина – систематизация и анализ нормативных требований, сбор данных литературы, участие в обсуждении материалов и написании текста рукописи; А.С. Ворожейкин, О.Н. Зайцева – сбор, анализ и интерпретация данных литературы, составление табличного материала, написание текста рукописи.

**Additional information.** Table 4 is published on the website of *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-152-162-table>

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Lyudmila I. Panova conceptualized the study, critically revised the manuscript, and approved the final version for publication. Lyubov Izganina systematized and analyzed regulatory requirements, collected literature data, participated in discussing the materials and drafting the manuscript. Alexander S. Vorozheykin, Olga N. Zaitseva collected, analyzed and interpreted literature data, drafted the tables and the manuscript.

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Панова Людмила Ивановна / Lyudmila I. Panova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2417-8295>

Изганина Любовь / Lyubov Izganina

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-9255-0828>

Ворожейкин Александр Сергеевич / Alexander S. Vorozheykin

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-6584-2722>

Зайцева Ольга Николаевна / Olga N. Zaitseva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1425-5306>

Поступила 08.10.2025

После доработки 26.01.2026





Принята к публикации 11.02.2026

Received October 8, 2025

Revised January 26, 2026

Accepted February 11, 2026



М.В. Карлина ✉   
В.М. Косман   
М.Н. Макарова   
В.Г. Макаров 

## Подходы к дизайну исследования фармакокинетики лекарственных средств в доклинических исследованиях (обзор)

Акционерное общество «Научно-производственное объединение  
«ДОМ ФАРМАЦИИ»,  
Заводская ул., д. 3, к. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский р-н,  
Ленинградская обл., 188663, Российская Федерация

✉ Карлина Марина Валерьевна; [karlina.mv@doclinika.ru](mailto:karlina.mv@doclinika.ru), [info@doclinika.ru](mailto:info@doclinika.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** В соответствии с требованиями по процедуре регистрации лекарственных препаратов (ЛП) в регистрационное досье должны быть включены данные по доклиническому изучению фармакокинетики лекарственных средств. Однако вопрос объема предоставляемых данных для различных групп препаратов, а также определение того, какие фармакокинетические процессы и их параметры на каждом этапе жизненного цикла препарата должны быть изучены, остается открытым.

**ЦЕЛЬ.** Анализ данных литературы, отечественных и зарубежных методических документов по доклиническому изучению фармакокинетики лекарственных средств для выбора оптимальной стратегии сбора данных фармакокинетики на разных этапах жизненного цикла лекарственного препарата.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Материалы исследования – регуляторные документы, руководства по доклиническому изучению ЛП, научные статьи и иные литературные источники, находящиеся в открытом доступе (в том числе по данным электронных баз РИНЦ (eLIBRARY.RU), PubMed, Web of Science). Рассмотрены основные подходы к планированию исследований фармакокинетики для различных лекарственных препаратов (оригинальных, воспроизведенных, биологических и т.д.), включая выбор вида и количества лабораторных животных, исследуемых доз и временных точек отбора биоматериала.





**ВЫВОДЫ.** Исследования фармакокинетики лекарственных препаратов на этапе доклинических исследований необходимы для оптимизации структуры молекулы действующего вещества, выбора оптимального пути введения и оптимальной лекарственной формы, прогнозирования значений фармакокинетических параметров у человека, сокращения временных затрат и рисков при разработке безопасных и эффективных лекарственных средств. Предложены дизайны исследований фармакокинетики на этапе скрининга молекул, оптимизации молекул и выбора лекарственной формы для исследований различных групп препаратов.

**Ключевые слова:** фармакокинетика; дизайн исследования; доклинические исследования; оригинальный препарат; воспроизведенный препарат; гибридный препарат; комбинированный препарат; биологический препарат

**Для цитирования:** Карлина М.В., Косман В.М., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Подходы к дизайну исследования фармакокинетики лекарственных средств в доклинических исследованиях (обзор). *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):163–178. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-163-178>

**Финансирование.** Работа выполнялась без спонсорской поддержки.

**Потенциальный конфликт интересов.** М.Н. Макарова – член редакционной коллегии журнала «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2018 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Marina V. Karlina   
Vera M. Kosman   
Marina N. Makarova   
Valery G. Makarov 

## Approaches to Drug Pharmacokinetics Study Design in Preclinical Trials (Review)

Research-and-manufacturing company "HOME OF PHARMACY",  
3/245 Zavodskaya St., Kuzmolovsky urban-type settlement,  
Vsevolzhsky district, Leningrad region, 188663, Russian Federation

✉ Marina V. Karlina; [karlina.mv@doclinika.ru](mailto:karlina.mv@doclinika.ru), [info@doclinika.ru](mailto:info@doclinika.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** According to drug registration requirements, a registration dossier should include the data on preclinical trials of drug pharmacokinetics. However, the scope of data provided for various drugs groups, as well as pharmacokinetics elements to be studied at each stage of the product life cycle is still a relevant issue.

**AIM.** This study aimed to analyze literature data, Russian and foreign guidelines on preclinical trials of drug pharmacokinetics to choose an optimal strategy of data collection at various stages of drug life cycle.

**DISCUSSION.** The research materials included regulatory documents, guidelines on preclinical trials, scientific articles and other publicly available sources (including electronic RSCI databases (eLIBRARY.RU), PubMed, and Web of Science). We analyzed the main approaches to planning pharmacokinetic trials for various drugs (original, generic, biological drugs, etc.), including the type and number of laboratory animals, the doses studied and the time points of biomaterial sampling.

**CONCLUSIONS.** Preclinical pharmacokinetic trials are warranted for optimization of active pharmaceutical substance molecules, selection of the dosage form to study various drug groups, predicting pharmacokinetic parameters in humans, reducing time costs and risks when developing safe and effective drugs. Designs of pharmacokinetic trials were proposed at the stage of molecule screening, molecule optimization and selection of the drug forms for the research of various drug groups.

**Keywords:** pharmacokinetics; pharmacokinetic study designs; preclinical trials; original drug; generic drug; hybrid drug; combined preparation; biological products

**For citation:** Karlina M.V., Kosman V.M., Makarova M.N., Makarov V.G. Approaches to drug pharmacokinetics study design in preclinical trials (review). *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):163–178. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-163-178>

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Disclosure.** Marina N. Makarova has been a member of the Editorial Board of *Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2018. The other authors declare no conflict of interest.

### ВВЕДЕНИЕ

Фармакокинетика (ФК) — раздел фармакологии, изучающий процессы абсорбции, распределения, метаболизма и выведения (adsorption, distribution, metabolism, excretion, ADME). В настоящее время исследования ФК являются ключевыми при разработке лекарственного препарата (ЛП). Как самостоятельный раздел фармакологии ФК была выделена в 1930-х гг., однако до 1960-х гг. рассматривалась исключительно в качестве академической дисциплины, не имеющей прикладного значения. Впервые практическая значимость ФК была показана при разработке математической модели опти-

мального режима применения сульфаниламидов, позволившей сократить количество нежелательных реакций [1].

Доклинические фармакокинетические данные должны быть включены в состав регистрационного досье на лекарственные препараты (модуль 4, «Доклинические исследования»)¹. На основании подобных данных может быть проведен скрининг биологически активных молекул, оптимизация лекарственных форм (ЛФ), а также сделан прогноз потенциальных лекарственных взаимодействий [2]. Совокупность знаний о ФК, фармакодинамике (ФД) и токсичности позволяет выбрать ЛП с благоприятным

<sup>1</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

фармакологическим профилем, определить оптимальные пути введения и схемы дозирования препаратов в клинической практике, а также дает понимание поведения действующего вещества (ДВ) в организме [3, 4].

Дизайны ФК-эксперимента могут значительно различаться в зависимости от конечной цели исследователя: скрининговое исследование соединений, изучение ФК в ходе разработки ЛФ, изучение возможного фармакокинетического взаимодействия или регистрационные исследования ЛП. Для алгоритмизации возможных дизайнов исследования ФК необходимы сбор и систематизация имеющихся данных литературы.

Цель работы — анализ данных литературы, отечественных и зарубежных методических документов по доклиническому изучению фармакокинетики лекарственных средств для выбора оптимальной стратегии сбора данных фармакокинетики на разных этапах жизненного цикла ЛП.

При подготовке работы использовали регуляторные документы Международного совета по гармонизации (International Council for Harmonisation, ICH), Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA), Евразийской экономической комиссии (ЕЭК), а также находящиеся в открытом доступе научные статьи, преимущественно опубликованные в период 2014–2024 гг. Поиск производили в электронных базах данных PubMed, Web of Science, РИНЦ (eLIBRARY.RU) и поисковой системе Google Scholar. Ключевые слова, использованные в поисковых запросах: фармакокинетика, доклинические исследования, ADME, биоаналитические методы и их переводные аналоги.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Общие аспекты

Подробные рекомендации по дизайну и объему изучения ФК лекарственных средств (ЛС) на этапе доклинических исследований (ДКИ) в рамках документов Евразийского экономического союза (ЕАЭС) в настоящее время отсутствуют. В Решении<sup>2</sup> в разделе 4.2.2 отмечено, что документы регистрационного досье по ФК-исследованиям включают результаты анализа всех процессов,

происходящих с активным веществом и его метаболитами в живом организме, и охватывают изучение абсорбции, распределения, биотрансформации и выведения активного вещества и его метаболитов. Доклиническая оценка безопасности для регистрации ЛП должна включать доклинические ФК-исследования<sup>3</sup>. До начала клинических исследований (КИ) должны быть получены данные о системной экспозиции (токсикокинетике) на тех же самых видах животных, которые были использованы для изучения токсичности при многократном введении. Более подробные данные о ФК (включая сведения об абсорбции, распределении, метаболизме и выведении) у исследуемых видов животных должны быть доступны до назначения ЛП большому количеству субъектов или до начала III фазы КИ. Аналогичные требования содержит ICH M3 (R2)<sup>4</sup>: результаты исследований метаболизма и связывания с белками плазмы *in vitro* животных и людей следует оценивать до начала КИ. Сравнение метаболитов, образующихся у человека и животных, необходимо для оценки целесообразности проведения дополнительных испытаний, а также оценки вклада метаболита в общее действие ЛП: если метаболит характеризуется токсичностью и (или) его фармакологический эффект превышает 10%, то следует провести ФК-исследования этого метаболита. Такие исследования должны проводиться для поддержки КИ фазы III. Однако очевидно, что вклад метаболитов в фармакологическое действие необходимо оценить как можно раньше, т.к. метаболит может быть токсичным, обладать большим фармакологическим эффектом, что потребует его дополнительной характеристики и тестирования в ДКИ.

Результаты *in vitro* исследований связывания ДВ с белками, возможных путей метаболизма, проницаемости, а также оценка абсолютной биологической доступности (БД) вещества *in vivo* могут обосновать выбор ЛФ препарата и пути его введения, поэтому эти исследования необходимы уже на этапе фармацевтической разработки ЛП. Примером изучения ФК ДВ и оценки его абсолютной БД для обоснования разработки препарата для перорального введения является работа Г.Б. Колыванова и соавт. [5], в которой была оценена ФК кардиопротективного средства после однократного

<sup>2</sup> Там же.

<sup>3</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов». Миронов АН, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.

<sup>4</sup> ICH guideline M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals. ICH; 2009. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m3r2-non-clinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-and-marketing-authorisation-pharmaceuticals-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m3r2-non-clinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-and-marketing-authorisation-pharmaceuticals-step-5_en.pdf)

введения крысам внутривенно и внутрижелудочно. Установленная абсолютная БД позволила сделать вывод о возможности разработки ЛФ для приема внутрь.

В ICH S3B<sup>5</sup> рассмотрены вопросы изучения распределения препаратов по органам и тканям; даны разъяснения, в каких случаях необходима оценка распределения при однократном и многократном введении ЛП. Оценку тканевого распределения и потенциала кумуляции большинства ЛП рекомендуется проводить после их однократного введения. Исследования при многократном введении оправданы в случае, если препарат характеризуется длительным периодом полувыведения, неполной элиминацией или имеет непредвиденную органный токсичность. В ICH S3B не конкретизируется, нужно ли проводить такие исследования активной фармацевтической субстанции (АФС) или ЛП и, в случае ЛП, на каком этапе разработки. Однако изучение процессов распределения необходимо для выявления органов и тканей с максимальным накоплением ДВ, детального изучения механизмов действия ЛС [6], а также создания систем адресной доставки ЛП или увеличения его биодоступности [7–9].

Наиболее подробно ДКИ ФК для различных групп препаратов (оригинальный препарат, воспроизведенный препарат, новая ЛФ препарата и др.) описаны в Руководстве по проведению доклинических исследований<sup>6</sup>, где выделена отдельная глава – «Методические рекомендации по проведению доклинических исследований фармакокинетики лекарственных средств». Однако в документе не указаны параметры оценки при скрининге новых молекул, перечень необходимых исследований АФС и ЛП на этапе разработки, а также объем исследования возможных ФК-взаимодействий.

В жизненном цикле ЛП можно выделить несколько этапов [10], часть которых подразумевает изучение доклинической ФК: синтез и скрининг молекул, оптимизацию структуры молекулы и технологии синтеза ДВ, доклиническую разработку ЛП (включая фармацевтическую разработку и ДКИ).

### **Синтез и скрининг молекул действующего вещества**

Поиск новых молекул начинается с выбора белка-мишени, вовлеченного в патогенез

определенного заболевания человека. Затем проводится поиск соединения, которое может связываться с белком-мишенью. Для дальнейшей разработки молекула-кандидат должна обладать достаточной биологической активностью, профилем безопасности, должны быть предварительно получены фармакокинетические данные. Стратегия разработки ЛС включает такие подходы, как высокопроизводительный скрининг, секвенирование генома, использование микрочипов ДНК, робототехника, миниатюризация и методы биоинформатики [11]. Наряду с оценкой фармакологической активности и изучением токсических свойств новых молекул, ФК занимает одно из ключевых мест в скрининге, т.к. процессы всасывания, распределения, метаболизма и выведения напрямую определяют судьбу кандидатов в ЛС [12]. На этапе скрининга проводят исследования процессов ADME *in vitro* (метаболическая стабильность в микросомах печени животных и человека, метаболизм в системе цитохромов P450, растворимость и проницаемость через монослой клеток Caco-2, связывание с белками плазмы крови), а также исследования этих процессов *in vivo* в совокупности в живом организме [13–15]. Однако необходимо отметить, что многие исследования *in vitro* достаточно длительны и являются дорогостоящими, кроме того на данном этапе количества образца ДВ для исследования, как правило, не так много. Учитывая вышесказанное, а также то, что этап скрининга преодолевает только незначительное количество кандидатов, рационально минимизировать объем исследований ФК. Поскольку основной целью изучения ФК при скрининге молекул является установление зависимости фармакологического эффекта от системной концентрации вещества [13] и наиболее важными параметрами ФК на этом этапе являются скорость выведения препарата и прогнозирование его клиренса (CL) [10, 16], достаточно получить предварительную ФК с несколькими временными точками в предполагаемом интервале дозирования на одном виде животных.

Минимальный объем исследований на этапе скрининга (табл. 1) включает оценку параметров ФК при двух путях введения: внутривенном (обеспечивает абсолютную БД) и ином, установленном в исследованиях ФД и (или) планируемом в клинической практике. Представленный дизайн позволяет

<sup>5</sup> ICH S3B Pharmacokinetics: repeated dose tissue distribution studies. EMA; 1995. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-3-b-pharmacokinetics-guidance-repeated-dose-tissue-distribution-studies-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-3-b-pharmacokinetics-guidance-repeated-dose-tissue-distribution-studies-step-5_en.pdf)

<sup>6</sup> Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

**Таблица 1.** Возможный дизайн исследования фармакокинетики на начальных этапах изучения действующего вещества**Table 1.** Approximate design of the pharmacokinetic study at the initial stages of active pharmaceutical substance study

Группа Group	Доза и режим введения Dose and administration	Вид, количество животных Species, number of animals	Биоматериал, временные точки Biological sample, time points
Этап скрининга молекул / <i>Molecule screening stage</i>			
1	Субстанция ДВ, доза 1, однократное введение (доза и путь введения, установленные в исследованиях ФД) <i>APS, 1 single, administration (dose and route established in PD studies)</i>	Крысы, 30 (3 особи на 1 временную точку) <i>Rats, 30 (3 per time point)</i>	Отбор крови и при возможности органов-мишеней на 10 временных точках <i>Blood sampling and, when possible, target organ sampling at 10 time points</i>
2	Субстанция ДВ, доза 1, однократное внутривенное введение (только при условии растворимости в воде) <i>APS, 1 single, intravenous administration (only if soluble in water)</i>		Отбор крови на 10 временных точках <i>Blood sampling at 10 time points</i>
Этап оптимизации молекулы / <i>Molecule optimization stage</i>			
1	Субстанция ДВ, доза 1, однократное введение, неизменная молекула (доза и путь введения, установленные в исследованиях ФД) <i>APS, 1 single application of unchanged molecule (dose and route established in PD studies)</i>	Крысы, 30 (3 особи на 1 временную точку) или кролики (3 особи) <i>Rats, 30 (3 per time point) or rabbits, 3 animals</i>	Отбор крови на 10 временных точках <i>Blood sampling at 10 time points</i>
2	Субстанция ДВ, доза 1, однократное введение, оптимизированная молекула (доза и путь введения, установленные в исследованиях ФД) <i>APS, 1 single application optimized molecule (dose and route established in PD studies)</i>		

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** ДВ – действующее вещество, ФД – фармакодинамика.**Note.** APS, active pharmaceutical substance; PD, pharmacodynamics.

валидировать биоаналитическую методику для определения ДВ и (или) его метаболитов в плазме крови или обосновать необходимость модификации методики (например, для повышения чувствительности). В случае если известна биологическая мишень молекулы и ее локализация специфична, необходимо исследование распределения в органы и ткани [17]. Результаты этого исследования можно использовать для оптимизации химической структуры соединения и выбора ЛФ будущего ЛП для получения благоприятного фармакокинетического профиля. В ряде случаев альтернативой подобным экспериментам может выступать компьютерное моделирование [18].

### Оптимизация химической структуры и технологии синтеза действующего вещества

После выбора соединения-кандидата могут потребоваться исследования по оптимизации химической структуры (введение дополнительных функциональных групп, получение солей и т.д.), а также отработка технологии синтеза. На данном этапе оптимально параллельное проведение исследований ФК и ФД на одном виде

животных для обеспечения прогностической ценности данных и построения релевантных ФД- и ФК-моделей [19]. Примером такого подхода может быть работа X. Zhang и соавт. [20], где была проведена оценка ФК и ФД субстанции рекомбинантного человеческого интерферона альфа-2b у китайских макак-резусов после изменения технологии ее очистки и продемонстрировано отсутствие значимого влияния изменений на изученные параметры.

При изменении химической структуры соединения ДВ необходимо дополнительное исследование ФД, ФК и токсичности модифицированной структуры. Оптимальным дизайном исследований по оценке модифицированной структуры может быть сравнительное исследование модифицированного и немодифицированного соединения-кандидата при однократном введении одним путем в одной дозе (табл. 1).

### Доклиническая разработка лекарственного препарата

На этапе фармацевтической разработки и ДКИ изучение ФК позволяет оценить улучшение БД, разработать оптимальную ЛФ, обеспечить адресную доставку ДВ препарата, а также

разработать воспроизведенный препарат с профилем безопасности и эффективности, сопоставимым с таковым у оригинального препарата. При выборе ЛФ препарата ведущей является биофармацевтическая концепция разработки ЛФ, основанная на создании ЛП с учетом фармацевтических факторов, таких как состав ЛП (в том числе вспомогательные вещества (ВВ)), вид ЛФ, путь введения, физико-химические свойства АФС, технологические условия производства [21], а также учитывающая результаты исследований, проведенных на этапе скрининга. При разработке ЛП в ЛФ для перорального приема безусловно важно понимание степени всасываемости вещества (его проникающей способности), стабильности в ЖКТ, что определяет выбор ВВ, также эта информация важна на этапе разработки воспроизведенных препаратов с точки зрения возможности проведения процедуры биоэвивера.

Проведение экспериментов *in vitro* в ходе ДКИ регламентируется Решением Совета ЕЭК<sup>7</sup>. Примером использования информации о ФК для выбора оптимальной технологии и ЛФ для обоснования пути введения могут служить работы [22–25]. Так, в работе [22] авторы показали, что БД фтортиазинона из твердой дисперсионной формы при внутрижелудочном введении крысам гораздо выше по сравнению с кристаллической формой, что дало основание считать ее более подходящей для дальнейшей разработки лекарственной формы. Авторы работы [23] доказали, что БД куркумина при пероральном введении в виде микроэмульсии увеличивается, кроме того, при этом повышается проникновение его в головной мозг. В работе [24] показана перспективность использования нановезикулярных носителей для увеличения БД ропинирола. Авторы работы [25] определили абсолютную БД нового противопаркинсонического средства после внутрижелудочного введения мышам, которая составила 10–16%, что позволило говорить о потенциальной возможности разработки лекарственной формы для приема внутрь.

Для определения оптимального состава или пути введения будущего препарата на этапе фармацевтической разработки достаточно проведения сравнительного изучения ФК с определением концентрации ДВ только в крови

(дизайн аналогичен исследованию оптимизированной молекулы, табл. 1), т.к. на данном этапе важно определить фармакокинетические преимущества/особенности того или иного состава или пути введения. При разработке сложных ЛФ необходимы более обширные исследования ФК, поскольку ЛФ могут менять не только БД, но и распределение ДВ в органы и ткани. Так, для липосомальных ЛФ, согласно Решению<sup>8</sup>, уже на этапе фармацевтической разработки рационально оценить и распределение в органы и ткани, что подтвердит ее успешность (в случае отрицательного результата потребуются доработка ЛФ). При разработке блок-сополимерных мицеллярных форм ФК может значительно меняться в зависимости от скорости СЛ мицелл и их диссоциации, а также скорости высвобождения ДВ из мицеллы. Аналогично меняется ФК ЛС в форме наночастиц, что учтено в Рекомендации<sup>9</sup>. Указано, что ФК подобных ЛП требует характеристики *in vivo* с оценкой ФК параметров как для общего, так и свободно ДВ в крови при разных дозах, определения путей метаболизма и оценки лекарственных взаимодействий. Также необходимо установить распределение в органы и ткани, значимые для клинического назначения, и пути введения препарата. Рекомендовано сравнивать ФК блок-сополимерного мицеллярного ЛП и его ДВ, вводимого в чистом виде, для подтверждения эффективности ЛФ. Для вводимых внутривенно препаратов такого рода может потребоваться оценка взаимодействия блок-сополимерных мицелл с белками и клетками крови, поскольку эти факторы способны влиять на распределение, стабильность и безопасность ЛС.

После выбора ЛФ следует провести комплекс исследований ФК, необходимых и достаточных для регистрации ЛП. Общая схема доклинического изучения ФК на предрегистрационном этапе приведена на рисунке 1. Объем исследований в зависимости от природы ДВ, его изученности и выбранной ЛФ может значительно отличаться.

**Оригинальный ЛП.** При регистрации препарата должны быть предоставлены данные о ФК, полученные как *in vitro*, так и *in vivo*.

В регистрационное досье на ЛП должны быть включены отчеты о следующих исследованиях *in vitro*: связывание ДВ с белками плазмы,

<sup>7</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».

<sup>8</sup> Решение Совета ЕЭК от 15.09.2020 № 111 «Об утверждении Руководства по фармакокинетическому и клиническому изучению биоэквивалентности липосомальных лекарственных препаратов для внутривенного введения».

<sup>9</sup> Рекомендация Коллегии ЕЭК от 15.09.2020 № 15 «О руководствах по оценке качества и исследованию биоэквивалентности отдельных групп лекарственных препаратов».

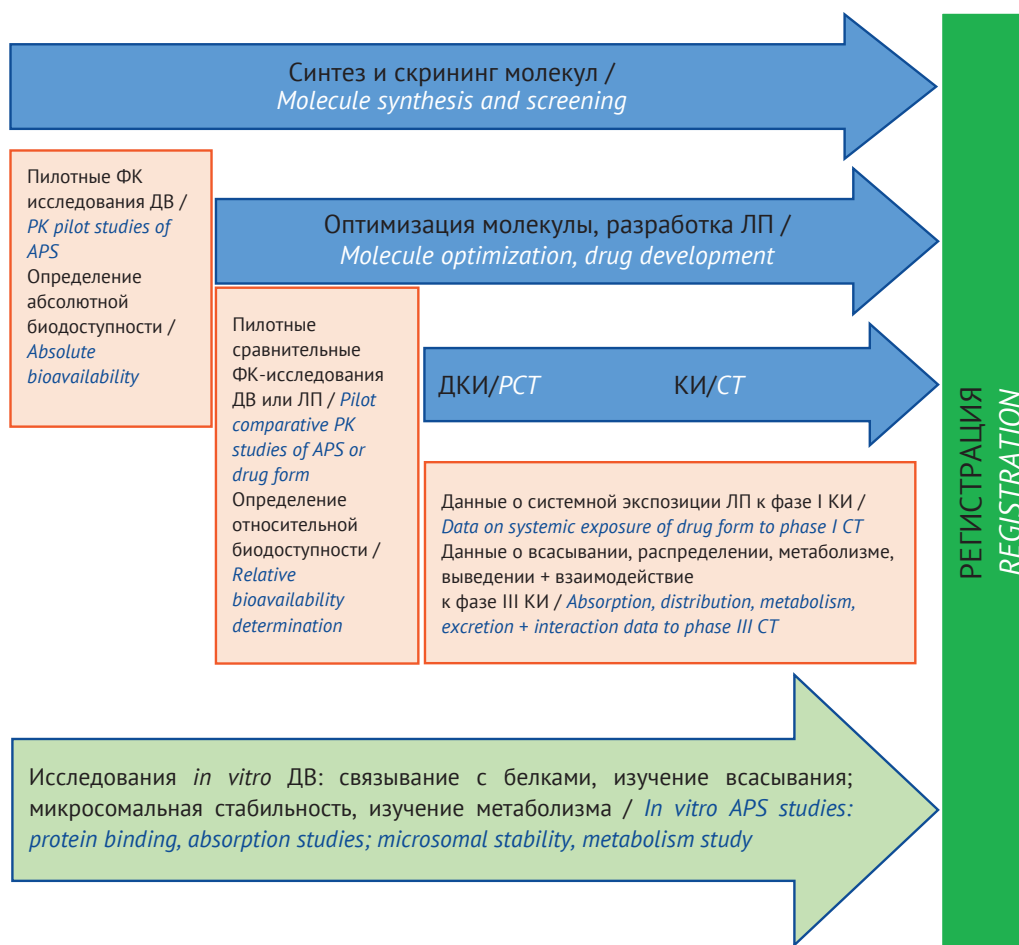


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

**Рис. 1.** Доклиническое изучение фармакокинетики *in vivo* и *in vitro* на этапе фармацевтической разработки и предрегистрационном этапе

**Примечание.** ДВ – действующее вещество; ДКИ – доклинические исследования; КИ – клинические исследования; ЛП – лекарственный препарат; ФК – фармакокинетика.

**Fig. 1.** Preclinical *in vivo* and *in vitro* pharmacokinetics trials at the pharmaceutical development and pre-registration stages

**Note.** APS, active pharmaceutical substance; PCT, preclinical trial; CT, clinical trial; PK, pharmacokinetics.

метаболизм в печени и лекарственные взаимодействия ДВ<sup>10</sup>. Исследования *in vitro* целесообразно проводить с использованием тест-систем, полученных от человека, нежели тест-систем животного происхождения. Такие исследования могут быть выполнены параллельно с фармацевтической разработкой ЛП на субстанции ДВ.

Регистрационное досье на ЛП включает результаты исследований *in vivo* всех процессов, происходящих с ДВ и его метаболитами в живом организме. Программа исследований ФК должна обеспечивать возможность сравнения результатов, полученных в эксперименте на животных и человеке, а также экстраполяцию на человека

результатов изучения ФК, полученных на животных моделях<sup>11</sup>.

Подробно объем и дизайн исследований фармакокинетики оригинального ЛС описан в Руководстве<sup>12</sup> (рис. 2). Исследования ФК проводят, как правило, на здоровых животных одного пола. В ряде случаев существует необходимость изучать ФК и на животных с моделью патологического процесса (например, при изучении противоопухолевых ЛП).

В качестве экспериментальных моделей для исследований ФК как новых, так и уже известных ДВ чаще всего используют крыс [26, 27], кроликов [28–30], реже используют животных других

<sup>10</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

<sup>11</sup> Там же.

<sup>12</sup> Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

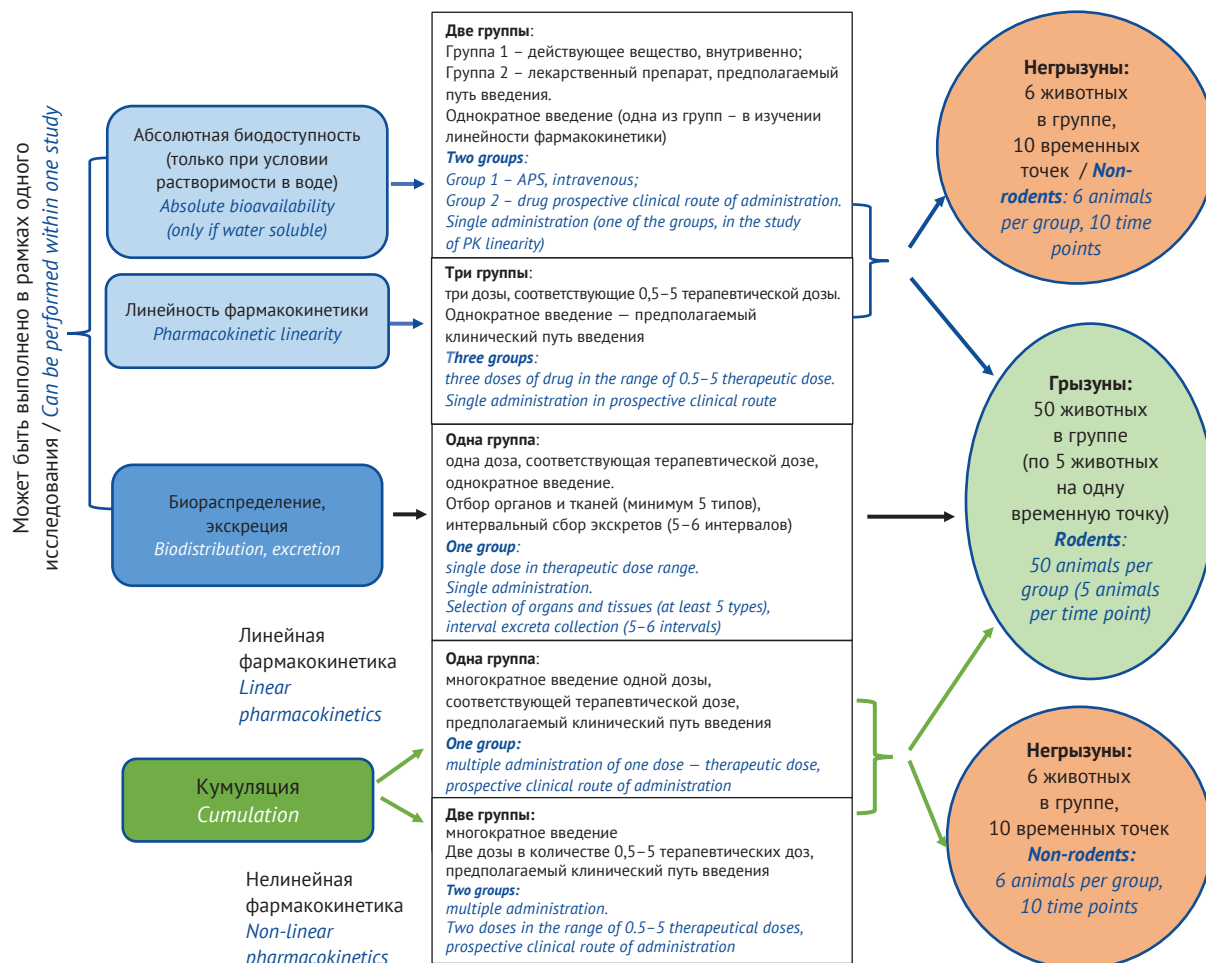


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

**Рис. 2.** Возможный дизайн исследования фармакокинетики оригинального препарата

**Fig. 2.** Approximate design of pharmacokinetics study for original drug

видов (собак [31], обезьян [32]). При проведении комплексных фармакологических исследований допускается использование мышей, морских свинок и кошек<sup>13</sup>. Выбор конкретных тест-систем (крысы, кролики, собаки, приматы) должен проводиться с учетом релевантности модели для конкретного ДВ [33], учитывать особенности метаболизма у разных видов животных [34] и отвечать требованиям дизайна планируемого исследования. Например, при исследовании высоких доз ЛП, необходимости введения ЛП полностью или получения большого количества биологических образцов в течение длительного периода времени требуется использование в эксперименте животного более крупного вида или более высокой организации [35].

Требования к количеству видов животных (не менее двух) при изучении оригинального препарата обоснованы необходимостью выявить

возможные межвидовые различия в ФК препарата и наиболее точно экстраполировать значения ФК-параметров на человека за счет выявления общих закономерностей и различий в ФК веществ у экспериментальных животных [30, 36].

Минимальное количество животных в группе, вводимых в эксперимент, – 5 (при реализации дизайна «одно животное – одна точка») или 6 (при условии отбора проб на всех временных точках от одной особи)<sup>14</sup>. В ряде исследований количество животных может быть увеличено [27, 37], однако, как было показано при проведении ретроспективной оценки вариабельности параметров ФК [38], это не является оправданным, для изучения ФК на этапе ДКИ требования Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств к количеству животных в группе являются достаточными.

<sup>13</sup> Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

<sup>14</sup> Там же.

Для внесения информации в регистрационное досье изучение ФК проводят на животных одного пола (как правило, самцах). Однако известно, что такие фундаментальные ФК-параметры, как клиренс (CL) и объем распределения (V), могут демонстрировать половые различия у самых разных видов животных: крыс, мышей, кроликов, хомяков и др. Например, различия в метаболизме лекарственных веществ у самцов и самок крыс часто являются результатом различий в экспрессии печеночных ферментов (цитохромы CYP2C11, CYP2C13 и CYP3A2 экспрессируются у самцов, тогда как CYP2C12 экспрессируется у самок) [39, 40]. Необходимо отметить, что в ряде случаев установленные половые различия для животных не подтверждаются в клинике, однако фармакокинетические данные используют для оптимизации дозы в других доклинических исследованиях [41].

Для оригинальных ЛП необходимо изучение линейности ФК, т.к. это позволяет оценить предсказуемость изменения концентрации ДВ или его основного метаболита, обладающего фармакологическим действием, в крови в ответ на изменение вводимой дозы препарата [42–45]. Нелинейная ФК встречается достаточно часто и возникает, когда концентрации ДВ превышают возможности тех биологических объектов (ферментов, субстрата, рецепторов), которые отвечают за всасывание, распределение, метаболизм и выведение [1].

Изучение ФК при многократном введении ЛП позволяет прогнозировать возможную кумуляцию, изменение характера выведения и уровня стационарной концентрации ДВ в пределах интервала дозирования [46], а также оценить возможный вклад индукции метаболизма в изменение ФК [47].

Поскольку в состав ЛП помимо ДВ входят вспомогательные вещества, которые потенциально

могут менять ФК ДВ, большую часть исследований корректнее выполнять непосредственно на ЛП. Если в состав ЛП введено ВВ, которое используют впервые, токсикологические и ФК исследования проводят в обязательном порядке<sup>15</sup>.

**Воспроизведенный ЛП.** В Решении Совета ЕЭК<sup>16</sup> указаны требования к представлению информации в модуле 4 регистрационного досье на ЛП. В случае если воспроизведенный ЛП соответствует критериям, указанным в правилах проведения исследований биоэквивалентности ЛП, то необходимости в определении БД нет. В случае если ДВ воспроизведенного ЛП представляет собой производное ДВ ранее зарегистрированного ЛП, то можно представить литературное или экспериментальное подтверждение отсутствия изменений в ФК. Если таковые отсутствуют, то такое ДВ следует рассматривать как новое оригинальное ДВ.

Таким образом, необходимо литературное или экспериментальное подтверждение отсутствия изменений в ФК. При ДКИ воспроизведенного ЛП достаточно проведения сравнительного исследования с оригинальным ЛП на одном виде животных с анализом ДВ только в крови<sup>17</sup>. Дизайн такого исследования приведен в *таблице 2*.

**Гибридный ЛП.** При разработке гибридного ЛП, как правило, происходят изменения ДВ, показаний к применению, дозировки, лекарственной формы или пути введения по сравнению с оригинальным препаратом.

Изменение ЛФ ЛП при сохранении аналогичного пути введения, а также изменение ЛФ и пути введения влечет за собой качественное и количественное изменение состава ВВ, что в ряде случаев может приводить к изменению ФД, ФК и профиля токсичности препарата. Классическим примером влияния замены ВВ

**Таблица 2.** Возможный дизайн фармакокинетического исследования воспроизведенного препарата

**Table 2.** Approximate design of the pharmacokinetic study of generic drug

Группа <i>Group</i>	Доза и режим введения <i>Dose and administration</i>	Количество животных <i>Number of animals</i>	Биоматериал, временные точки <i>Biological sample, time points</i>
1	Доза 1, однократное введение воспроизведенного препарата <i>Dose 1, generic drug single administration</i>	6	Отбор крови на 10 временных точках <i>Blood sampling at 10 time points</i>
2	Доза 1, однократное введение оригинального препарата <i>Dose 1, original drug single administration</i>		

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

<sup>15</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

<sup>16</sup> Там же.

<sup>17</sup> Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

является увеличение БД фенитоина при замене сульфата кальция на лактозу в капсулах, что вызвало вспышку отравления препаратом в 1968 г. в Австралии [48], более поздние исследования также показали несовместимость фенитоина с рядом ВВ, входящих в состав препарата [49].

В настоящее время взаимодействию действующих веществ и ВВ уделяют пристальное внимание [50, 51], однако степень, в которой эти взаимодействия могут изменять биодоступность ДВ, не во всех случаях возможно спрогнозировать только по результатам испытаний *in vitro* (например, тест «Растворение»). В каждом конкретном случае это будет определяться такими факторами, как доза, терапевтический диапазон, место абсорбции, проницаемость и растворимость молекулы, а также метаболизмом, выведением, возможностью деградации в месте абсорбции [52]. Для новых ЛФ гибридных препаратов рекомендовано проведение изучения ФК/абсорбции, распределения, метаболизма и элиминации ДВ, поскольку при таких изменениях

важно оценить форму фармакокинетической кривой и значение АUC<sup>18</sup>. Целью исследования новой ЛФ гибридного ЛП является оценка ее преимуществ, объем исследований аналогичен исследованиям воспроизведенного ЛП (табл. 2). Сравнивать новую ЛФ следует с уже существующей и оценивать относительную или абсолютную (при внутривенном пути введения) БД<sup>19</sup>. При изменении пути введения так же, как и в случае с новой ЛФ, рационально провести сравнительное изучение фармакокинетики. При изменении пути введения необходимо получать данные, характерные именно для нового пути введения: для офтальмологического пути введения – изучать распределение в тканях глаза; при создании препарата для введения в слуховой проход – изучать способность проникать через неповрежденную барабанную перепонку, для интраназального введения – оценивать проникновение в головной мозг, поскольку этот путь введения может обеспечить проникновение ДВ, минуя гематоэнцефалический барьер<sup>20</sup>.

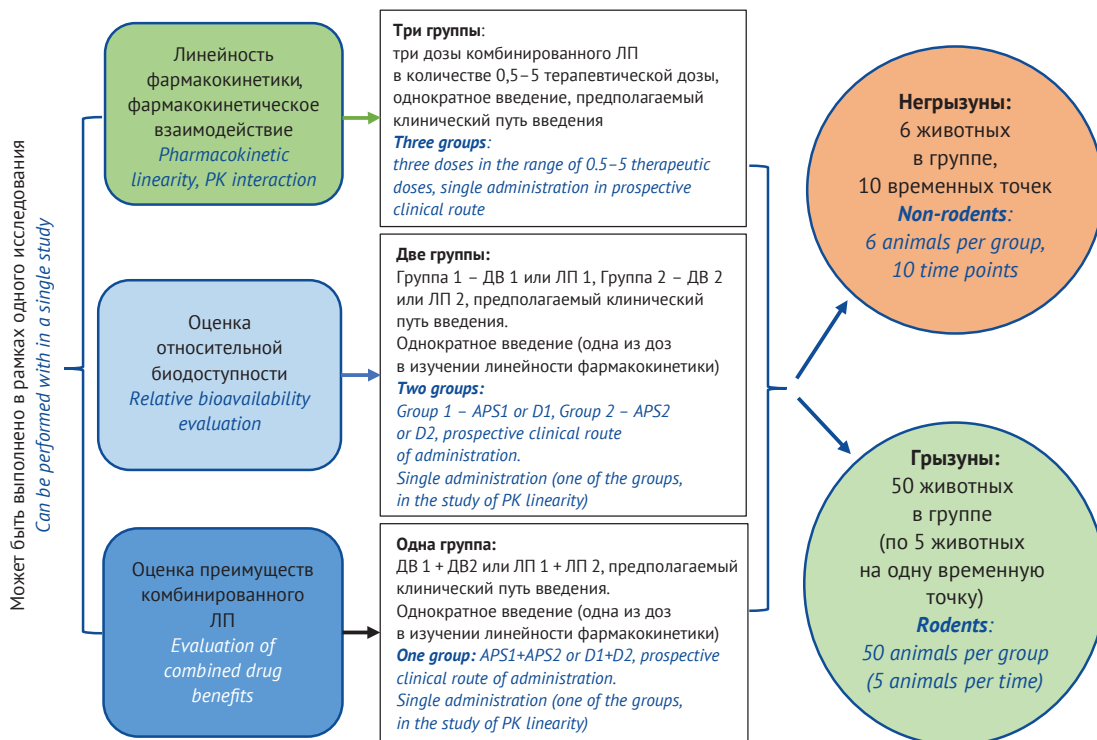


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

**Рис. 3.** Возможный дизайн исследования фармакокинетики двухкомпонентного комбинированного препарата

**Примечание.** ДВ – действующее вещество; ЛП – лекарственный препарат.

**Fig. 3.** Approximate design of pharmacokinetics study, two-component combined drug

**Note.** APS, active pharmaceutical substance; PK, pharmacokinetic; D, drug.

<sup>18</sup> Косенко ВВ, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. Экспертиза отдельных групп лекарственных средств. М.: Типография «Миттель Пресс»; 2025.

<sup>19</sup> Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

<sup>20</sup> Косенко ВВ, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. Экспертиза отдельных групп лекарственных средств. М.: Типография Миттель Пресс; 2025.

**Комбинированный ЛП.** При использовании новых фиксированных комбинаций известных ДВ, которые уже были исследованы, информация о собственных фармакокинетических исследованиях может отсутствовать в регистрационном досье, если такое решение обосновано результатами исследований токсичности и экспериментальных терапевтических исследований<sup>21</sup>. В случае комбинации зарегистрированных ДВ, которая не была ранее одобрена регуляторными органами в качестве комбинированной терапии, следует провести ДКИ или КИ фармакокинетических взаимодействий, а для комбинации, основанием фармацевтической разработки которой является ФК-взаимодействие, последнее следует экспериментально подтвердить<sup>22</sup>. В случае если ДВ исследованы и охарактеризованы ранее, то регистрационное досье их новой фиксированной комбинации может не содержать результатов ДКИ и КИ по отдельности.

Документ<sup>23</sup> оговаривает, что исследования ФК-взаимодействия в рамках ДКИ следует проводить на людях; ДКИ на животных могут быть проведены в случае, если нет значительных видовых различий, затрудняющих экстраполяцию результатов.

Таким образом, для комбинированных препаратов доклиническое изучение фармакокинетического взаимодействия в ряде случаев необходимо. Фармакокинетическое взаимодействие может проходить как на этапе всасывания, так и на этапе распределения, метаболизма и выведения [53], поэтому для некоторых комбинаций рационально определять ДВ не только в крови, но и в органах и тканях. Так, в работе [54] авторы при изучении комбинированного препарата Диоксазид показали, что комбинированное введение изониазида не влияет на БД диоксида, однако наблюдали снижение концентрации изониазида в крови и увеличение его содержания в печени в сравнении с индивидуальным введением препарата в эквивалентных дозах. При оценке относительной БД и преимуществ комбинированного препарата могут быть использованы как субстанции ДВ комбинированного ЛП, так и зарегистрированные монопрепараты.

Дизайн исследования ФК комбинированного ЛП приведен на рисунке 3.

**Биологический ЛП.** Перечень биологических ЛП включает широкий спектр препаратов различной природы, в связи с чем единой схемы проведения фармакокинетических исследований таких ЛП не существует. В соответствии с Решением<sup>24</sup> информативными являются фармакокинетические исследования при однократном и многократном введении ЛП, токсикокинетические исследования, исследования распределения в тканях на релевантных видах животных. Оценка соотношения введенного и элиминированного ЛП не является необходимой частью исследования. Примерами изучения ФК биологических препаратов на этапе ДКИ могут служить работы [55–57].

В Решении отмечено, что при использовании белков с радиоактивной меткой важно доказать, что материал с радиометкой сохраняет активность и биологические свойства, эквивалентные таковым у немеченного вещества<sup>25</sup>. Получаемые данные могут быть сложно интерпретировать из-за быстрого метаболизма белка *in vivo* или нестабильности связи радиоактивной метки с белком.

Значимой группой биопрепаратов являются ЛП на основе моноклональных антител, изучению которых посвящено сравнительно много публикаций. В отношении изучения их ФК авторы отмечают такие особенности, как возможность применения различных вариантов ВЭЖХ и, преимущественно, ИФА методов для анализа, а также длительная циркуляция этих молекул в организме [58–59]. Детализация объема ДКИ в отношении ФК в доступных работах не рассмотрена. Можно привести пример комплексного исследования, в котором ФК являлась лишь небольшой составной частью и его объем (внутривенное введение мышам в одной дозе, по 3 животных на временную точку) можно рассматривать только в аспекте первичной, предварительной оценки ФК нового лекарственного кандидата [60].

В случае генотерапевтических ЛП (ГТЛП) необходимо изучение биораспределения (персистенции)<sup>26</sup>,

<sup>21</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

<sup>22</sup> Рекомендация Коллегии ЕЭК от 02.09.2019 № 25 «О Руководстве по доклинической и клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов».

<sup>23</sup> Guideline on the investigation of drug interactions. EMA; 2012. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-drug-interactions-revision-1\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-drug-interactions-revision-1_en.pdf)

<sup>24</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

<sup>25</sup> Там же.

CL и мобилизации<sup>27</sup>). При изучении персистенции допускается объединять исследования токсичности при однократном введении, фармакологической безопасности и исследования ФК<sup>28</sup>. При исследовании биораспределения рекомендуется<sup>29</sup> провести анализ следующего набора органов и тканей / биологических жидкостей: головной и спинной мозг (шейный, грудной и поясничный отделы), печень, почки, легкие, сердце, селезенка, надпочечники, половые железы, ткани места введения и кровь. При отсутствии системного воздействия ГТЛП перечень исследуемых органов может быть сокращен [61]. В случае если в исследованиях специфической активности и токсичности используют различные виды лабораторных животных, то для оценки видовых различий и правильной экстраполяции результатов на человека биораспределение ГТЛП следует определять у каждого из видов, а также учитывать влияние модели заболевания. Продолжительность исследования биораспределения определяется как время до полного исчезновения обнаруживаемого сигнала или до достижения долгосрочного плато положительного сигнала. Следует помнить, что сигнал учитывают как в целевых, так и в нецелевых органах, а продолжительность обнаружения долгосрочного сигнала является предметом научного рассмотрения.

Стандартных исследований ФК ЛП на основе соматических клеток и препаратов тканевой инженерии не требуется. Однако если теоретическое обоснование в регистрационном досье на ЛП отсутствует, то необходимо изучить такие параметры, как жизнеспособность, долговечность, распределение, рост, дифференцировка и миграция клеток. В отношении соматотерапевтических ЛП и препаратов тканевой инженерии, синтезирующих активные биомолекулы, необходимо изучить распределение, продолжительность и объем экспрессии<sup>30</sup>.

Отметим, что в некоторых работах, посвященных созданию генотерапевтических и соматотерапевтических препаратов, рассматриваются различные аспекты этого процесса: вопросы качества, истории регистрации, основные направления клеточной терапии, анализируются данные об одобренных лекарственных препаратах клеточной терапии и тканевой инженерии, оцениваются проблемы и перспективы их использования, но такие работы не содержат детализации ДКИ таких препаратов в целом и ФК в рамках ДКИ в частности [62–65].

**Биоаналогичный ЛП.** Решение о необходимости проведения сравнительных исследований ФК биоаналогичных препаратов принимают в каждом отдельном случае исходя из данных, полученных *in vitro*. Наличие потенциально значимых количественных различий в показателях качества между рассматриваемым биоаналогичным (биоподобным) и оригинальным (референтным) ЛП, а также значимых различий в составе ЛП могут быть основанием для проведения ДКИ ФК при условии наличия релевантных животных для модели *in vivo*<sup>31</sup>.

В случае биоаналогичных (биоподобных) препаратов, как правило, проводят только одно исследование токсичности при многократном введении, включающее изучение токсикокинетики, определение титров антител, перекрестной реактивности и нейтрализующей способности. Указанные исследования позволяют определить значимые отличия токсических и (или) иммунных ответов между биоаналогичным и референтным препаратами<sup>32</sup>.

Примером сравнительных исследований биоаналогов могут служить работы [66, 67].

Как регуляторные документы<sup>33</sup>, так и научные статьи [68, 69] отмечают особенности и этапность исследований подобных биологических

<sup>26</sup> Персистенция ГТЛП – обнаружение векторных последовательностей или продукта трансгена в течение длительного времени после введения препарата.

<sup>27</sup> Мобилизация – способность вируса / вирусной последовательности выходить из латентного состояния и реактивироваться вследствие непреднамеренной репликации после комплементации.

<sup>28</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

<sup>29</sup> S12 Nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products guidance for industry. ICH; 2023. [https://database.ich.org/sites/default/files/ICH\\_S12\\_Step4\\_Guideline\\_2023\\_0314.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_S12_Step4_Guideline_2023_0314.pdf)

<sup>30</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

<sup>31</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

<sup>32</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

<sup>33</sup> Guideline on similar biological medicinal products. EMA/CHMP/437/04. London; 2014.

Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance – quality issues. EMA/CHMP/BWP/247713/2012. London; 2014.

Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005. Rev. London; 2012.

препаратов, отличающие их от исследований воспроизведенных препаратов химической природы. Решение о целесообразности проведения исследований *in vivo* принимают на основании результатов, полученных на предыдущих этапах разработки (аналитические сравнительные испытания, исследования *in vitro*), степени значимости выявленных различий и характеристики класса разрабатываемого продукта. Исследования *in vivo* не проводят, если отсутствует соответствующая биологическая модель. При разработке подобных биологических препаратов всегда требуется проведение клинических сравнительных испытаний, первым этапом которых являются сравнительные ФК/ФД-исследования, желательны в группе здоровых добровольцев, а при невозможности – в группе пациентов [70]. Отметим, что позиции доказательства биоподобия биопрепаратов только на основании сопоставления физико-химического и биологического сходства [71] можно противопоставить случай недостаточности такой характеристики (на примере эритропоэтина) и целесообразности проведения сравнительных исследований *in vivo* [72].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен обзор данных литературы и нормативных документов, касающихся изучения фармакокинетики на доклиническом этапе разработки лекарственных препаратов. Согласно современным требованиям данные по фармакокинетике должны быть включены в состав регистрационного досье. Данные фармакокинетических исследований, полученные на разных этапах жизненного цикла лекарственного препарата, необходимы для оптимизации структуры молекулы, выбора оптимального пути введения и разработки оптимальной лекарственной формы, экстраполяции значений фармакокинетических параметров на человека, сокращения временных затрат и рисков при разработке безопасных и эффективных лекарственных средств.

Предложены дизайны исследований фармакокинетики на этапе скрининга молекул действующего вещества разрабатываемого лекарственного препарата, оптимизации молекул и выбора лекарственной формы для исследований различных групп препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bem AE, Kasimova AP, Gomon YUM, Kolbin AS. Концепция мишень-опосредованного лекарственного распределения высокомолекулярных и низкомолекулярных соединений. *Лекарственный вестник*. 2021;15(3):3–12. Bem AE, Kasimova AR, Gomon YuM, Kolbin AS. The concept of target-mediated drug distribution of high-molecular and low-molecular compounds. *Drug Bulletin*. 2021;15(3):3–12 (In Russ.). EDN: [XJMBJD](https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-2-29-36)
2. Rajput YK, Sahu TK. Pharmacokinetic consideration in drug development: A review. *Hist Med*. 2022;8(2):441–60.
3. Morgan P. The use of preclinical pharmacokinetic and pharmacodynamic data to predict clinical doses: current and future perspectives. *International Congress Series*. 2001;1220:1–12. [https://doi.org/10.1016/S0531-5131\(01\)00282-5](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(01)00282-5)
4. Жердев ВП, Бойко СС, Шевченко РВ, Гудашева ТА. Роль фармакокинетических и биофармацевтических исследований при создании новых дипептидных лекарственных средств (экспериментальное исследование). *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2017;(1):3–10. Zherdev VP, Boyko SS, Shevchenko RV, Gudasheva TA. The role of pharmacokinetics and biopharmaceutical investigations in the creation of a new dipeptide drugs (experimental investigation). *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(1):3–10 (In Russ.). EDN: [YPIQTV](https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-2-31-35)
5. Колыванов ГБ, Бочков ПО, Литвин АА и др. Абсолютная биодоступность соединения, обладающего кардиопротективной активностью (АЛМ-802), у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(2):31–5. Kolyvanov GB, Bockov PO, Litvin AA, et al. Absolute bioavailability of a substance with cardioprotective activity (ALM-802) in rats. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2021;(2):31–5 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-2-31-35>
6. Абаймов ДА, Хуторова АВ, Сариев АК и др. Изучение базовых фармакокинетических свойств нового производного гистидин-содержащего дипептида карнозина – пирролилкарнозина. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(2):29–36. Abaimov DA, Khutorova AV, Sariev AK, et al. The pilot study of the basic pharmacokinetic properties of pyrrolylcarnosine – the new pyrrolic derivative of dipeptide carnosine. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2023;(2):29–36 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-2-29-36>
7. Генатуллина ГН, Ясенявская АЛ, Цибизова АА, Самотруева МА. Нанокapsулированные системы: перспективные биомедицинские инициативы в фармакологии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024;69(3–4):62–72. Genatullina GN, Yasenyavskaya AL, Tsibizova AA, Samotrueva MA. Nanoencapsulated systems: Promising biomedical initiatives in pharmacology. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2024;69(3–4):62–72 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-62-72>
8. Yadav KS, Soni G, Choudhary D, et al. Microemulsions for enhancing drug delivery of hydrophilic drugs: Exploring various routes of administration. *Med Drug Discov*. 2023;20:100162. <https://doi.org/10.1016/j.medicidd.2023.100162>
9. Haripriyaa M, Suthindhiran K. Pharmacokinetics of nanoparticles: Current knowledge, future directions and its implications in drug delivery. *Futur J Pharm Sci*. 2023;9:113. <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00569-y>
10. Lai Y, Chu X, Di L, et al. Recent advances in the translation of drug metabolism and pharmacokinetics science for drug discovery and development. *Acta Pharm Sin B*. 2022;12(6):2751–77. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.03.009>
11. Хушпульян ДМ, Гайсина ИН, Никулин СВ и др. Высокопроизводительный скрининг при поиске лекарств: проблемы и решения. *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. 2024;65(2):96–112. Hushpulian DM, Gaisina IN, Nikulin SV, et al. High throughput screening in drug discovery: Problems and solutions. *Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry*. 2024;65(2):96–112 (In Russ.). EDN: [ARAUPF](https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.03.009)

12. Sandhya K, Ramesh Y, Penabaka V, Chandra YP. The role of pharmacokinetics in drug development. *GSC Biol Pharm Sci.* 2025;30(3):322–8. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2025.30.3.0098>
13. Reichel A, Lienau P. Pharmacokinetics in drug discovery: An exposure-centred approach to optimising and predicting drug efficacy and safety. In: Nielsch U, Fuhrmann U, Jaroch S, eds. *Handbook of Experimental Pharmacology.* Springer; 2016. [https://doi.org/10.1007/164\\_2015\\_26](https://doi.org/10.1007/164_2015_26)
14. Ruiz-Garcia A, Bermejo M, Moss A, Casabo VG. Pharmacokinetics in drug discovery. *J Pharm Sci.* 2008;97(2):654–90. <https://doi.org/10.1002/jps.21009>
15. White RE. High-throughput screening in drug metabolism and pharmacokinetic support of drug discovery. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2000;40:133–57. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.133>
16. Li Y, Meng Q, Yang M, et al. Current trends in drug metabolism and pharmacokinetics. *Acta Pharm Sin B.* 2019;9(6):1113–44. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.10.001>
17. Rizk ML, Zou L, Savic RM, Dooley KE. Importance of drug pharmacokinetics at the site of action. *Clin Transl Sci.* 2017;10(3):133–42. <https://doi.org/10.1111/cts.12448>
18. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* 2017;7:42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
19. Tuntland T, Ethell B, Kosaka T, et al. Implementation of pharmacokinetic and pharmacodynamic strategies in early research phases of drug discovery and development at Novartis Institute of Biomedical Research. *Front Pharmacol.* 2014;5:174. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00174>
20. Zhang X, Zhou B, Gong Y, Liu Y. Investigation into the pharmacodynamics and pharmacokinetics of recombinant human interferon alfa-2b vaginal suppository following process optimization in Chinese rhesus macaque. *Sci Rep.* 2025;15(1):15932. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-98813-3>
21. Демина НБ, Бардаков АИ, Краснюк ИИ. Становление и развитие биофармацевтической доктрины создания эффективных лекарственных средств. *Фармация.* 2022;71(7):5–10. Demina NB, Bardakov AI, Krasniuk II. Formation and development of the biopharmaceutical doctrine of creating effective medicines. *Pharmacy.* 2022;71(7):5–10 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-07-01>
22. Самойлов ВМ, Савицкий МВ, Ромашина АГ и др. Исследование фармакокинетики твердодисперсной и кристаллической форм антивирулентного средства фтортиазинон у крыс. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс».* 2023;25(7):57–62. Samojlov VM, Savitskii MV, Romashkina AG, et al. Pharmacokinetics of solid dispersion and crystalline forms of the anti-virulence drug fluorothiazinon in rats. *Medical & Pharmaceutical Journal "Pulse".* 2023;25(7):57–62 (In Russ.). <https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2023-25-7-57-62>
23. More SK, Pawar AP. Preparation, optimization and preliminary pharmacokinetic study of curcumin encapsulated turmeric oil microemulsion in zebra fish. *Eur J Pharm Sci.* 2020;155(1):105539. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105539>
24. Ali SK, Al-Akkam EJ. Comparison of pharmacokinetic characteristics of bilosomal dispersion versus pure solution of oral ropinirole hydrochloride in rats. *J Fac Med Baghdad.* 2024;66(2):201–8. <https://doi.org/10.32007/jfacmedbagdad.6622210>
25. Кравцова ОЮ, Дворянинов ДА, Колыванов ГБ и др. Экспериментальная фармакокинетика нового противопаркинсонического средства АДК-1113. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2024;(1):27–31. Kravtsova OYu, Dvoryanin DA, Kolyvanov GB, et al. Experimental pharmacokinetics of a new antiparkinsonian drug ADK-1113. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2024;(1):27–31 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-1-27-31>
26. Бойко СС, Колясникова КН, Жердев ВП. Сравнительное изучение фармакокинетики и энзиматической устойчивости нейропротекторного средства ГЗК-111 и ноопента у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2022;(3):20–5. Boyko SS, Koliashnikova KN, Zherdev VP. Comparative study of pharmacokinetics and enzymatic resistance of the neuroprotective mean GZK-111 and noopept in rats. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2022;(3):20–5 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-3-20-25>
27. Lu W, Zeng R, Pan M, et al. Pharmacokinetics, bioavailability, and tissue distribution of MRTX1133 in rats using UHPLC-MS/MS. *Front Pharmacol.* 2024;15:1509319. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1509319>
28. Wilson SE, Carpenter JW, Gardhouse S, Kukanich B. Pharmacokinetics of mavacoxib in New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Am J Vet Res.* 2023;84(5):ajvr.22.11.0196. <https://doi.org/10.2460/ajvr.22.11.0196>
29. Kumar PV, Maki MAA, Wei YS, et al. Rabbit as an animal model for pharmacokinetics studies of enteric capsule contains recombinant human keratinocyte growth factor loaded chitosan nanoparticles. *Curr Clin Pharmacol.* 2019;14(2):132–40. <https://doi.org/10.2174/1574884714666181120103907>
30. Шевченко ВБ, Литвин АА, Колыванов ГБ и др. Фармакокинетика инъекционной лекарственной формы ГК-2 у кроликов. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2020;(2):17–21. Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, et al. The pharmacokinetics of the injectable dosage form of GK-2 in rabbits. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2020;(2):17–21 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2020-2-17-21>
31. Weir SJ, Wood R, Schorno K, et al. Preclinical pharmacokinetics of fosciclovir, a novel treatment of urothelial cancers, in rats and dogs. *J Pharmacol Exp Ther.* 2019;370(2):148–59. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.257972>
32. Xie H, Chung J-K, Mascelli MA, McCauley TG. Pharmacokinetics and bioavailability of a therapeutic enzyme (idurulfase) in cynomolgus monkeys after intrathecal and intravenous administration. *PLoS One.* 2015;10(4):e0122453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122453>
33. Енгальчева ГН, Сябаев РД. Выбор релевантных видов животных для проведения доклинических исследований безопасности лекарственных средств: обзор. *Безопасность и риск фармакотерапии.* 2025;13(1):31–43. Engalycheva GN, Syubaev RD. Relevant species selection for preclinical safety studies of medicines: A review. *Safety and Risk of Pharmacotherapy.* 2025;13(1):31–43 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-460>
34. Мирошников МВ, Султанова КТ, Макарова МН, Макаров ВГ. Сравнительный обзор активности ферментов системы цитохрома P450 человека и лабораторных животных. Прогностическая ценность доклинических моделей *in vivo*. *Трансляционная медицина.* 2022;9(5):44–77. Miroshnikov MV, Sultanova KT, Makarova MN, Makarov VG. A comparative review of the activity of enzymes of the cytochrome P450 system in humans and laboratory animals. Prognostic value of preclinical models *in vivo*. *Translational Medicine.* 2022;9(5):44–77 (In Russ.). <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2022-9-5-44-77>
35. Heller AA, Lockwood SY, Janes TM, Spence DM. Technologies for measuring pharmacokinetic profiles. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif).* 2018;11(1):79–100. <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061417-125611>
36. Жердев ВП, Бойко СС, Шевченко ВБ и др. Роль исследований межвидовых особенностей фармакокинетики в создании новых пептидных лекарственных средств. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2018;(1):3–23. Zherdev VP, Boyko SS, Shevchenko RV, et al. The role of studies of interspecies differences pharmacokinetics in the creation of new peptide drugs. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2018;(1):3-23 (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2587-7836-2018-10001>
37. Zheng M-C, Tang W-T, Yu L-L, et al. Preclinical pharmacokinetics and bioavailability of oxupeucedanin in rats after single intravenous and oral administration. *Molecules.* 2022;27(11):3570. <https://doi.org/10.3390/molecules27113570>

38. Косман ВМ, Карлина МВ. Ретроспективная оценка вариабельности фармакокинетических параметров в зависимости от биологического вида и числа особей в экспериментальной группе. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2023;6(1):60–9. Kosman VM, Karlina MV. Retrospective of pharmacokinetic parameters variability in dependence on biological species and number of individuals in the experimental group. *Laboratory Animals for Science*. 2023;6(1):60–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.57034/2618723X-2023-01-06>
39. Czerniak R. Gender-based differences in pharmacokinetics in laboratory animal models. *Int J Toxicol*. 2001;20(3):161–3. <https://doi.org/10.1080/109158101317097746>
40. Kushida H, Matsumoto T, Ikarashi Y, et al. Gender differences in plasma pharmacokinetics and hepatic metabolism of geissoschizine methyl ether from *Uncaria hook* in rats. *J Ethnopharmacol*. 2021;264:113354. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113354>
41. Arora P, Gudelsky G, Desai PB. Gender-based differences in brain and plasma pharmacokinetics of letrozole in Sprague-Dawley rats: Application of physiologically-based pharmacokinetic modeling to gain quantitative insights. *PLoS One*. 2021;16(4):e0248579. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248579>
42. Смольякова ВИ, Чернышева ГА, Яновская ЕА и др. Оценка линейности фармакокинетики фенольного антиоксиданта 4-метил-2,6-диизоборнилфенола при внутрижелудочном введении. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2014;77(2):31–4. Smol'yakova VI, Chernysheva GA, Yanovskaya EA, et al. Evaluation of the linearity of pharmacokinetics of the phenolic antioxidant 4-methyl-2,6-diisobornylphenol upon intragastric administration. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2014;77(2):31–4 (In Russ.). EDN: [SVVPPPT](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248579)
43. Кравцова ОЮ, Колыванов ГБ, Литвин АА и др. Оценка линейности фармакокинетики нейропротектора ГЗК-111. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2023;86(3):8–11. Kravtsova OYu, Kolyvanov GB, Litvin AA, et al. Evaluation of the linearity of neuroprotector GZK-111 pharmacokinetic. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2023;86(3):8–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2023-86-01-8-11>
44. Anizan S, Concheiro M, Lehner KR, et al. Linear pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV) and its metabolites in the rat: relationship to pharmacodynamic effects. *Addict Biol*. 2014;21(2):339–47. <https://doi.org/10.1111/adb.12201>
45. Shang H, Dai X, Li M, et al. Absolute bioavailability, dose proportionality, and tissue distribution of rotundic acid in rats based on validated LC-QqQ-MS/MS method. *J Pharm Anal*. 2022;12(2):278–86. <https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2021.03.008>
46. Колыванов ГБ, Литвин АА, Кравцова ОЮ и др. Фармакокинетика потенциального противоэпилептического средства ГИЖ-298 у крыс после различных режимов дозирования. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(2):57–61. Kolyvanov GB, Litvin AA, Kravtsova OYu, et al. Pharmacokinetics of a potential antiepileptic drug GiZh-298. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2024;(2):57–61 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-2-57-61>
47. Cook CS, Zhang L, Ames GB, et al. Single- and repeated-dose pharmacokinetics of eplerenone, a selective aldosterone receptor blocker, in rats. *Xenobiotica*. 2003;33(3):305–21. <https://doi.org/10.1080/0049825021000049277>
48. Bochner F, Hooper WD, Tyrer JH, Eadie MJ. Factors involved in an outbreak of phenytoin intoxication. *J Neurol Sci*. 1972;16(4):481–7. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(72\)90053-6](https://doi.org/10.1016/0022-510x(72)90053-6)
49. Silva DA, Löbenberg R, Davies N. Are excipients inert? Phenytoin pharmaceutical investigations with new incompatibility insights. *J Pharm Pharm Sci*. 2018;21(1s):29745. <https://doi.org/10.18433/jpps29745>
50. Thakur SK, Pal R, Pandey P, et al. Approaches of drug-excipient interaction in pharmaceutical drug product formulation. *World J Pharm Res*. 2023;12(2):347–66.
51. Gawari ShD, Kambale HV, Satpute VM, et al. A review: drug-excipient interactions study. *Int J Novel Res Devel*. 2023;8(2):b641–51.
52. Panakanti R, Narang AS. Impact of excipient interactions on drug bioavailability from solid dosage forms. *Pharm Res*. 2012;29(10):2639–59. <https://doi.org/10.1007/s11095-012-0767-8>
53. Ковальская ГН, Жукова ДЯ, Михалевич ЕН. Взаимодействие лекарственных средств для инъекционного и инфузионного применения. *Сибирское медицинское обозрение*. 2018;(6):12–21. Kovalskaya GN, Zhukova DY, Mikhalevich EN. Interaction of medicines for injections and infusions. *Siberian Medical Review*. 2018;(6):12–21 (In Russ.). <https://doi.org/10.20333/2500136-2018-6-12-21>
54. Логунова ИВ, Богомолова НС, Чистяков ВВ. Экспериментальное исследование биодоступности комбинированного препарата Диоксазид. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2012;(1):29–32. Logunova IV, Bogomolova NS, Chistyakov VV. Experimental study of bioavailability of the combination drug of Dioxazid. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2012;(1):29–32 (In Russ.). EDN: [RWVVCV](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.04.031)
55. Yu DA, You M, Ji WW, et al. Preclinical pharmacokinetics of a recombinant humanized rabbit anti-VEGF monoclonal antibody in rabbits and monkeys. *Toxicol Lett*. 2018;292:73–7. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.04.031>
56. Шерстобоев ЕЮ, Олейник ЛА, Жданов ВВ и др. Фармакокинетические параметры при пероральном введении пегилированного ИФН-11. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022;173(2):188–92. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-2-188-192> Sherstoboev EYu, Oleinik LA, Zhdanov VV, et al. Pharmacokinetic parameters of oral pegylated IFN-11. *Bull Exp Biol Med*. 2022;173(2):215–218 (In Russ.). <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05521-3>
57. Cai Y, Zhang Z, Fan K, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, excretion, and antiviral activity of pegylated recombinant human consensus interferon- $\alpha$  variant in monkeys, rats and guinea pigs. *Regulatory Peptides*. 2012;173(1–3):74–81. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2011.09.008>
58. Смирнов ВВ, Петухова ОА, Филатов АВ и др. Исследование фармакокинетики биотехнологических препаратов на примере моноклональных антител. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(2):173–80. Smirnov VV, Petukhova OA, Filatov AV, et al. Studying the pharmacokinetics of biotechnological medicinal products on the example of monoclonal antibodies. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(2):173–80 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-2-173-180>
59. Ryman JT, Meibohm V. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2017;6(9):576–88. <https://doi.org/10.1002/psp4.12224>
60. Деркаев АА, Рябова ЕИ, Есмагамбетов ИБ и др. Кандидатный препарат на основе модифицированных однодоменных антител для терапии ботулизма, вызванного ботулиническим токсином типа А. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):58–70. Derkaev AA, Ryabova EI, Esmagambetov IB, et al. A modified single-domain antibody candidate for the treatment of botulism caused by botulinum toxin type A. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):58–70 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591>
61. Астапова ОВ, Берчатова АА. Генотерапевтические препараты: аспекты доклинического изучения безопасности. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(1):73–96. Astarova OV, Berchatova AA. Gene therapy medicinal products: Non-clinical safety studies. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2023;11(1):73–96 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2512-7821-2023-11-1-329>
62. Копеин ДС, Порошин ГН, Хамитов РА. Реализация концепции Quality by Design для генотерапевтического

- лекарственного препарата на основе аденоассоциированного вирусного вектора. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(2):141–55. Kopein DS, Poroshin GN, Khamitov RA. Implementation of the quality-by-design concept for an adeno-associated viral vector-based gene therapy. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(2):141–55 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-580>
63. Аляутдин РН, Романов БК, Переверзев АП и др. Алипоген типарвовек: долгая дорога к оценке отношения пользы и риска генетических препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;(1):31–4. Alyautdin RN, Romanov BK, Pereverzev AP, et al. Alipogene tiparvovect: A long journey of risk-benefit ratio assessment of gene therapy products. *Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin*. 2015;(1):31–4 (In Russ.). EDN: [UBDTJH](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-580)
64. Рачинская ОА, Мельникова ЕВ, Меркулов ВА. Особенности производства и контроля качества соматотерапевтических лекарственных препаратов на основе мезенхимальных стволовых клеток. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025;70(1–2):58–75. Rachinskaya OA, Melnikova EV, Merkulov VA. The aspects of manufacturing and quality control of somatic medications based on mesenchymal stem cells. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2025;70(1–2):58–75 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-1-2-58-75>
65. Галицына ЕВ, Куликова ЕА, Павельев ЮА и др. Лекарственные препараты клеточной терапии: современное состояние исследований. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2024;24(4):428–42. Galitsyna EV, Kulikova EA, Pavelyev YuA, et al. Cell-based medicinal products: A review of current research. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2024;24(4):428–42 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-557>
66. Wang X, Guo J, Deng X, et al. Evaluation of pharmacokinetics and toxicology of biosimilar APZ001 antibody in *Macaca cynomolgus*. *Trop J Pharm Res*. 2018;17(9):1885–91. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v17i9.30>
67. Подолькина АИ, Дмитриева АА, Постникова ВА и др. Оценка фармакокинетики биоаналога пертузумаба в сравнении с оригинальным препаратом у яванских макак. *Российский онкологический журнал*. 2024;29(3):160–70. Podolyakina AI, Dmitrieva AA, Postnikova VA, et al. Pharmacokinetics of pertuzumab biosimilar compared with the original drug in cynomolgus monkeys. *Russian Journal of Oncology*. 2024;29(3):160–70 (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/onco636526>
68. Олефир ЮВ, Медуницын НВ, Авдеева ЖИ и др. Современные биологические/биотехнологические лекарственные препараты. Актуальные вопросы разработки и перспективы использования. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2016;16(2):67–77. Olefir YuV, Medunitsyn NV, Avdeeva Zhl, et al. Modern biological/biotechnological medicinal products. Topical issues and prospects for development. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2016;16(2):67–77 (In Russ.). EDN: [WAIVUX](https://doi.org/10.1002/9781119564690.ch8)
69. McLachlan AJ, Adiwidjaja J. Pharmacokinetics of biologics. In: Ramzan I, ed. *Biologics, biosimilars, and biobetters: An introduction for pharmacists, physicians and other health practitioners*. John Wiley & Sons; 2020. <https://doi.org/10.1002/9781119564690.ch8>
70. Максимкина ЕА, Кудрин А, Аладышева ЖИ и др. Государственное регулирование подобных биологических лекарственных препаратов для медицинского применения в Европейском Союзе. *Ремедиум*. 2013;(7–8):60–1. Maksimkina EA, Kudrin A, Aladysheva Zhl, et al. State regulation of similar biologic drugs for medical use in the European Union. *Remedium*. 2013;(7–8):60–1 (In Russ.). EDN: [OZIHKN](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2084)
71. Луговик ИА, Бабина АВ, Арутюнян СС и др. Первый дженерик тирзепатида GP30931: физико-химическое и биологическое сходство с референтным лекарственным средством. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):54–74. Lugovik IA, Babina AV, Arutyunyan SS, et al. The first generic tirzepatide GP30931: Physicochemical and biological similarity to the reference drug. *Drug Development & Registration*. 2025;14(2):54–74 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2084>
72. Бредер ВВ. Биоаналоги в онкологии: новые горизонты, старые проблемы. *Онкогематология*. 2007;2(4):78–83. Breder VV. Biopharmaceuticals in oncology: New horizons, but old problems. *Oncohematology*. 2007;(4):78–83 (In Russ.). EDN: [MSMSBN](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2084)

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *М.В. Карлина* – идея публикации, обработка и систематизация данных, подготовка рукописи; *В.М. Косман* – обсуждение результатов, доработка текста; *М.Н. Макарова, В.Г. Макаров* – критический пересмотр текста публикации и иллюстративного материала.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Marina V. Karlina* conceptualized the paper, processed and systematized the data, and prepared the manuscript. *Vera M. Kosman* discussed the results and revised the text. *Marina N. Makarova, Valery G. Makarov* critically revised the manuscript and illustrative material.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Карлина Марина Валерьевна**, канд. биол. наук / **Marina V. Karlina**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>

**Косман Вера Михайловна**, канд. фарм. наук / **Vera M. Kosman**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>

**Макарова Марина Николаевна**, д-р мед. наук / **Marina N. Makarova**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

**Макаров Валерий Геннадьевич**, д-р мед. наук / **Valery G. Makarov**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>

Поступила 19.12.2025

После доработки 12.01.2026






Принята к публикации 11.02.2026

Received December 19, 2025

Revised January 12, 2026

Accepted February 11, 2026



Н.Д. Дахма<sup>1</sup> ✉ ,  
Е.Т. Жиликова<sup>1</sup> ,  
Д.А. Фадеева<sup>1</sup> ,  
М.Д. Дахма<sup>2</sup> ,  
Р. Альрухаие<sup>3,4</sup> ,  
К.А. Никитин<sup>1</sup>

## Процедура биоэквивалентности на основе биофармацевтической классификационной системы: регуляторные основания и границы научной интерпретации (обзор)

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Островитянова, д. 1, Москва, 117997, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», ул. Миклухо-Маклая, д. 6, Москва, 117198, Российская Федерация

<sup>4</sup> Дамасский университет, Дамаск, 30621, Сирия

✉ Дахма Нермин Джозеф; [narmeendahma@gmail.com](mailto:narmeendahma@gmail.com)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Процедура биоэквивалентности на основе биофармацевтической классификационной системы (БКС) широко применяется в регуляторной практике при оценке биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов (ВЛП). Применение процедуры биоэквивалентности направлено на сокращение объема исследований *in vivo* при сохранении требований к качеству, безопасности и эффективности ВЛП. В последние годы в научной литературе активно обсуждаются дополнительные аналитические и модельные инструменты, используемые при оценке биоэквивалентности. Это требует четкого разграничения между регуляторными требованиями и исследовательскими подходами, включая корреляции *in vitro* / *in vivo* (IVIVC), физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование (PBPK), а также использование алгоритмов искусственного интеллекта.

**ЦЕЛЬ.** Сравнительный анализ современных нормативных подходов к применению процедуры биоэквивалентности на основе биофармацевтической классификационной системы, а также систематизация действующих требований, применяемых при оценке биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Во всех рассматриваемых регуляторных системах применение процедуры биоэквивалентности нормативно ограничено активными фармацевтическими ингредиентами классов I и III БКС при строгом соблюдении критериев растворимости и сопоставимости профилей растворения. Деление класса II на подклассы IIa и IIb не закреплено ни в одном из официальных регуляторных документов и используется исключительно в научной литературе в исследовательском контексте. Установлено, что такие модели, как IVIVC, PBPK и технологии искусственного интеллекта, рассматриваются регулирующими органами как вспомогательные научные инструменты и не имеют самостоятельного статуса доказательной базы для отказа от исследований *in vivo*.

**ВЫВОДЫ.** Результаты обзора подтверждают отсутствие принципиальных регуляторных расхождений между подходами к применению процедуры биоэквивалентности. Выявленные в литературе предложения по расширению ее применения






относятся к научной дискуссии и не отражают действующую регуляторную практику. Работа формирует методологически корректную основу для интерпретации регуляторных требований и дальнейших исследований в области биофармацевтической оценки ВЛП.

**Ключевые слова:** биовейвер; биофармацевтическая классификационная система; БКС; воспроизведенные лекарственные препараты; биоэквивалентность; растворимость; корреляция *in vitro* / *in vivo*; IVIVC; регуляторная гармонизация; искусственный интеллект

**Для цитирования:** Дахма Н.Д., Жилиякова Е.Т., Фадеева Д.А., Дахма М.Д., Альрухаие Р., Никитин К.А. Процедура биовейвер на основе биофармацевтической классификационной системы: регуляторные основания и границы научной интерпретации (обзор). *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):179–189. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-179-189>

**Финансирование.** Исследование выполнено без финансовой поддержки со стороны коммерческих или государственных структур.

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Nermin Joseph Dahma<sup>1</sup>   
Elena T. Zhilyakova<sup>1</sup>   
Dariya A. Fadeeva<sup>1</sup>   
Michel Joseph Dahma<sup>2</sup>   
Ranim Alrouhayyah<sup>3,4</sup>   
Konstantin A. Nikitin

## Biowaiver Based on the Biopharmaceutical Classification System: Regulatory Basis and Limits of Scientific Interpretation (Review)

<sup>1</sup> Belgorod State National Research University,  
85 Pobeda St., Belgorod 308015, Russian Federation

<sup>2</sup> N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,  
1 Ostrovityanov St., Moscow 117997, Russian Federation

<sup>3</sup> Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN),  
6 Miklukho-Maklay St., Moscow 117198, Russian Federation

<sup>4</sup> Damascus University,  
Damascus 30621, Syria

✉ Nermin Joseph Dahma; [narmeendahma@gmail.com](mailto:narmeendahma@gmail.com)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Biowaiver procedure based on the biopharmaceutics classification system (BCS) is widely used in regulatory practice when assessing the bioequivalence of generic medicinal products (GMPs). The use of the biowaiver is aimed at reducing the rate of *in vivo* studies while maintaining the requirements for GMP quality, safety, and efficacy. Over the recent years, additional analytical and modeling tools used in bioequivalence assessment have been actively discussed in the scientific literature. This requires a clear distinction between regulatory requirements and research approaches, including *in vitro* / *in vivo* correlations (IVIVC), physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling, and artificial intelligence (AI) algorithms.

**AIM.** This study aimed to compare the existing regulatory approaches to the application of the BCS-based biowaiver procedure, with an emphasis on current requirements used to assess GMP bioequivalence.

**DISCUSSION.** In all considered regulatory systems, the use of the biowaiver procedure is limited to active pharmaceutical ingredients (APIs), BCS classes I and III, with strict adherence to solubility criteria and comparability of dissolution profiles. The division of Class II into subclasses IIa and IIb is not stipulated in any official guidelines and is used exclusively in the scientific literature for the research purposes. It has been established that IVIVC, PBPK models, and AI technologies are considered by regulatory authorities as supporting scientific tools and do not have independent status as an evidence base used to renounce the use of *in vivo* studies.

**CONCLUSIONS.** The findings confirm the lack of fundamental regulatory differences between approaches to the biowaiver application. Proposals for expanding

biowaiver practice identified in the references relate to scientific controversy without reflecting current regulatory practice. The work forms a methodologically correct basis for the interpretation of regulatory requirements and further research in the area of biopharmaceutical GMPs evaluation.

**Keywords:** biowaiver; biopharmaceutical classification system; BCS; generic medicinal products; bioequivalence; solubility; *in vitro* / *in vivo* correlation; IVIVC; regulatory harmonization; artificial intelligence; AI

**For citation:** Dahma N.J., Zhilyakova E.T., Fadeeva D.A., Dahma M.J., Alrouhayyah R., Nikitin K.A. Biowaiver based on the biopharmaceutical classification system: Regulatory basis and limits of scientific interpretation (review). *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):179–189. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-179-189>

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из ключевых регуляторных вариантов применения процедуры биовейвер является биовейвер на основе биофармацевтической классификационной системы (БКС). БКС – научный подход, основанный на характеристиках растворимости и кишечной проницаемости активных фармацевтических ингредиентов (АФИ). В соответствии с БКС действующие вещества подразделяются на четыре класса (I–IV) в зависимости от сочетания степени растворимости (высокой или низкой) и проницаемости. Процедура биовейвер рассматривается в регуляторной практике как установленный механизм оценки биоэквивалентности, направленный на возможность сокращения объема исследований *in vivo* при соблюдении строго определенных условий и наличии предсказуемых биофармацевтических характеристик лекарственного препарата. Применение подходов, основанных на БКС, осуществляется национальными и региональными регуляторными органами в рамках действующих нормативных правовых актов.

Международные организации и экспертные структуры в области лекарственного регулирования разрабатывают методические и рекомендательные документы, которые используются государствами и регуляторными органами при формировании и гармонизации национальных и региональных нормативных требований; при этом указанные организации не наделены собственными регуляторными полномочиями [1–5]. В соответствии с положениями нормативных и методических документов международных и региональных регуляторных органов (включая Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA), Европейское агентство по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA),

Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ) и органы Евразийского экономического союза (ЕАЭС)) процедура биовейвер допускается исключительно для пероральных лекарственных форм немедленного высвобождения при одновременном выполнении двух обязательных условий. Первое условие заключается в том, что АФИ должны относиться к классу I или III БКС, то есть характеризоваться высокой растворимостью в физиологически релевантном диапазоне значений pH. Второе условие предполагает подтвержденную сопоставимость профилей растворения тестируемого и референтного лекарственного препарата в установленных средах растворения, как правило, при значении коэффициента подобия  $f_2$  не менее 50. Использование альтернативной логической конструкции («А» или «В») при оценке применимости процедуры биовейвер не соответствует действующим регуляторным требованиям, поскольку отказ от исследований *in vivo* возможен только при одновременном выполнении обоих условий [6–9].

Действующие нормативные и методические документы международных и региональных регуляторных органов не предусматривают применение процедуры биовейвер для АФИ, относящихся к классам II и IV БКС. Отдельные научные публикации, в которых рассматривается потенциальная применимость процедуры биовейвер для отдельных подклассов веществ класса II (например, IIa), отражают исследовательские и теоретические подходы и не используются в рамках официальной регуляторной оценки при рассмотрении материалов, представляемых для целей государственной регистрации лекарственных препаратов.

В ЕАЭС применение процедуры биовейвер регламентировано нормативными правовыми актами Евразийской экономической комиссии (ЕЭК).

В соответствии с действующими правилами процедура биовейвер допускается только для лекарственных форм немедленного высвобождения и только при использовании активных веществ классов I или III БКС при исключении препаратов с узким терапевтическим индексом. Таким образом, регуляторный подход ЕАЭС в целом согласуется с практикой FDA, ЕМА, ВОЗ и при этом реализуется в рамках собственных нормативных требований ЕАЭС.

Современные научные методы, включая корреляции *in vitro* / *in vivo* (IVIVC), физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование (Physiologically based pharmacokinetic modelling, PBPK), а также алгоритмы анализа данных, в том числе с применением программ на основе искусственного интеллекта, используются в качестве вспомогательных аналитических инструментов на этапах разработки лекарственных препаратов и интерпретации экспериментальных данных. Указанные методы в настоящее время не рассматриваются регуляторными органами в качестве самостоятельного основания, достаточного для отказа от проведения исследований биоэквивалентности *in vivo*<sup>1</sup> [10–12].

Цель работы – сравнительный анализ современных нормативных подходов к применению процедуры биовейвер на основе биофармацевтической классификационной системы, а также систематизация действующих требований, применяемых при оценке биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов.

Задачей исследования явился сопоставительный анализ международных, региональных и национальных регуляторных подходов к применению процедуры биовейвер на основе БКС в ключевых юрисдикциях (FDA, ЕМА, ВОЗ, ЕАЭС). В отличие от ранее опубликованных сводных материалов, включая сравнительные обзоры отдельных юрисдикций, в данной статье сопоставление выполнено по единому набору критериев (класс БКС, требования к лекарственной форме, ограничения для препаратов с узким терапевтическим индексом, параметры испытаний *in vitro* и условия их интерпретации), что позволяет систематизировать и уточнить особенности формулировок в современных регуляторных документах и возможности практического применения данных требований.

Материалами исследования послужили официальные нормативные и методические документы

FDA, ЕМА, рекомендации ВОЗ, а также нормативные правовые акты ЕАЭС, регулирующие проведение исследований биоэквивалентности. Дополнительно использованы рецензируемые научные публикации, индексированные в библиографических базах данных (Scopus, PubMed, eLIBRARY.RU). Методология исследования включала сравнительный и контент-анализ регуляторных требований, систематизацию критериев применимости процедуры биовейвер и аналитическое сопоставление международной и региональной практики.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Регуляторные основания и институциональные особенности применения процедуры биовейвер

Подходы, основанные на БКС, применяются в практике регулирования обращения лекарственных средств в качестве научно обоснованного инструмента оценки допустимости отказа от проведения исследований биоэквивалентности *in vivo* при регистрации воспроизведенных лекарственных препаратов (ВЛП) [13–15]. Процедура биовейвер осуществляется в рамках действующих нормативных и методических документов национальных и наднациональных систем регулирования обращения лекарственных средств, включая FDA, ЕМА, рекомендации ВОЗ, а также органов ЕАЭС. В указанных юрисдикциях критерии применимости процедуры биовейвер основаны на сопоставимых принципах научной оценки и направлены на обеспечение качества, безопасности и терапевтической эквивалентности ВЛП.

Нормативные документы FDA и ЕМА устанавливают обязательные требования, используемые при проведении экспертизы регистрационных материалов, тогда как документы ВОЗ носят рекомендательный характер и предназначены для методической поддержки национальных систем лекарственного регулирования [16–20]. В ЕАЭС применение процедуры биовейвер регламентировано правовыми актами ЕЭК и реализуется уполномоченными национальными органами государств-членов в рамках единой нормативной базы ЕАЭС. Таким образом, при институционально сопоставимой организации научной экспертизы различия касаются преимущественно формы нормативного закрепления и уровня детализации методических требований, не затрагивая базовые принципы применения процедуры биовейвер [21–27].

<sup>1</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 65 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».

### Применение процедуры биоэвивер для активных фармацевтических ингредиентов различных классов БКС

Критерии допустимости применения процедуры биоэвивер в регуляторной практике в целом согласованы между основными регуляторными системами. FDA допускает применение процедуры биоэвивер исключительно для АФИ классов I и III БКС при соблюдении установленных требований к растворимости, профилям растворения и составу лекарственной формы<sup>2</sup>. ЕМА придерживается аналогичного нормативного подхода, разрешая применение процедуры биоэвивер для АФИ классов I и III БКС при выполнении критериев быстрой растворимости (не менее 85% за 30 мин в трех буферных средах), подтверждении сопоставимости профилей растворения с использованием коэффициента подобия  $f_2 \geq 50$ , а также при контроле состава вспомогательных веществ<sup>3</sup>. ВОЗ в своих рекомендациях также допускает применение процедуры биоэвивер для лекарственных препаратов классов I и III БКС при строгом соблюдении условий растворения и взаимозаменяемости<sup>4</sup>. В нормативных актах ЕАЭС применение процедуры биоэвивер регламентировано правилами проведения исследований биоэвиверности лекарственных препаратов<sup>5</sup>, где, аналогично FDA, ЕМА и ВОЗ, процедура биоэвивер допускается исключительно для АФИ классов I и III БКС. В указанных правилах отсутствуют отдельные положения или формализованные критерии, касающиеся подклассов класса II БКС, включая подкласс IIa. Следует подчеркнуть, что такое отсутствие не является особенностью регулирования ЕАЭС, поскольку аналогичные подклассы (IIa, IIb) не используются и в официальных нормативных документах FDA, ЕМА и ВОЗ [28–31].

### Применение процедуры биоэвивер для активных фармацевтических ингредиентов подкласса IIa БКС

АФИ, относимые в научной литературе к подклассу IIa БКС, представляют интерес с точки зрения фармацевтической разработки и теоретической оценки биоэвиверности. В отличие от обобщенного класса II БКС, характеризующегося низкой растворимостью в широком диапазоне значений pH, вещества, описываемые как подкласс IIa, демонстрируют pH-зависимую

растворимость с ее увеличением при физиологически релевантных значениях pH тонкого кишечника, что потенциально снижает роль растворения как лимитирующей стадии абсорбции. Следует подчеркнуть, что деление класса II БКС на подклассы IIa и IIb не используется в официальных нормативных и методических документах FDA, ЕМА, ВОЗ, а также в рамках нормативно-правового регулирования ЕАЭС. Указанное подразделение применяется исключительно в научной литературе в исследовательских целях для более детального описания pH-зависимых механизмов растворения и абсорбции лекарственных веществ и не имеет нормативного статуса. В ряде экспериментальных и обзорных работ описаны примеры фармакокинетического моделирования, в которых показатели площади под кривой «концентрация–время» (AUC) и при максимальной концентрации ( $C_{max}$ ) прогнозировались на основании данных растворимости и абсорбции таких веществ, как кетопрофен, ибупрофен, напроксен, рифампицин и карбамазепин, с последующим сопоставлением с клиническими фармакокинетическими данными *in vivo*. Указанные исследования направлены на развитие методов прогнозирования и углубление понимания механизмов абсорбции и не рассматриваются регуляторными органами как основание для отказа от проведения исследований биоэвиверности *in vivo*.

В отдельных аналитических и методических документах ВОЗ, посвященных вопросам взаимозаменяемости и оценки биоэвиверности ВЛП, рассматриваются научные предпосылки оценки веществ класса II БКС на основе данных растворения *in vitro*<sup>6</sup>. При этом подчеркивается, что подобные подходы носят методологический и исследовательский характер и не устанавливают регуляторного допуска к применению процедуры биоэвивер для АФИ класса II БКС. ЕМА в своих регуляторных руководствах последовательно указывает, что для веществ класса II БКС данные растворения *in vitro* могут использоваться исключительно в качестве вспомогательной информации, тогда как принятие регуляторных решений требует проведения исследований биоэвиверности *in vivo*. Аналогичный подход отражен и в нормативных документах FDA и ВОЗ, где процедура БКС-биоэвивер нормативно

<sup>2</sup> Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. FDA; 2017.

<sup>3</sup> Guideline on the investigation of bioequivalence. EMA/CHMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr, 2010.

<sup>4</sup> WHO Technical Report Series № 1003. Annex 6. WHO; 2017.

<sup>5</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэвиверности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».

<sup>6</sup> WHO Technical Report Series № 937. Annex 7. WHO; 2006.

ограничена активными веществами классов I и III БКС. Таким образом, обсуждение возможности применения процедуры биоэвивер к АФИ, относимым в научной литературе к подклассу IIa БКС, следует рассматривать исключительно как предмет научного анализа и перспективных исследований.

В научных публикациях в качестве потенциально значимых факторов рассматриваются особенности профилей растворения в физиологически релевантных средах, сопоставимость данных *in vitro*, отсутствие критически значимых вспомогательных веществ и возможность построения валидированных фармакокинетических моделей. Однако указанные параметры не закреплены в виде нормативных критериев и не используются регуляторными органами при принятии решений об освобождении от проведения исследований биоэквивалентности *in vivo*. В этой связи перспективы обсуждения подкласса IIa БКС связаны не с расширением действующих регуляторных рамок, а с накоплением и систематизацией научных данных, которые в дальнейшем могут быть использованы для оценки целесообразности пересмотра или уточнения существующих подходов. В данном контексте гармонизация может рассматриваться не как внедрение отсутствующих нормативных положений, а как потенциальное сближение научных подходов и терминологии в рамках международного экспертного обсуждения [32–36]. Указанные исследования направлены на развитие методов прогнозирования и не рассматриваются как основание для отказа от исследований *in vivo* в регуляторной практике. Фармакокинетические особенности подклассов IIa и IIb БКС, выделяемых исключительно в научных целях, обобщены в таблице 1.

**Таблица 1.** Фармакокинетические особенности подклассов IIa и IIb биофармацевтической классификационной системы

**Table 1.** Pharmacokinetic features of subclasses IIa and IIb, Biopharmaceutics classification system

Подкласс Subclass	Растворимость Solubility	Абсорбция Absorption	Возможность применения процедуры биоэвивер Scientific assessment of the biowaiver possibility
IIa	Низкая при pH<5, повышается при pH>6,5 <i>Low at pH&lt;5, increased at pH&gt;6.5</i>	Относительно быстрая при щелочном значении pH <i>Relatively fast at alkaline pH</i>	Рассматривается в научных исследованиях при наличии обоснованных данных <i>in vitro</i> <i>Considered in scientific studies when valid in vitro data are available</i>
IIb	Высокая при pH 2–4, резко снижается при pH>6 <i>High at pH 2–4, sharply reduced at pH&gt;6</i>	Нестабильная, возможна преципитация <i>Unstable, precipitation possible</i>	Не рассматривается как перспективная <i>Not considered as promising</i>

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

### Метод корреляции *in vitro* / *in vivo* (IVIVC)

IVIVC представляет собой фармакокинетическую модель, описывающую связь между скоростью и степенью растворения *in vitro* и профилем концентрации АФИ *in vivo*<sup>7</sup> [37]. Исторически первые работы Л. Дж. Эдвардса (1951) и Э. Нельсона (1957) показали наличие связи между скоростью растворения аспирина и теофиллина и их фармакокинетикой, что положило начало применению IVIVC в фармацевтической разработке [38, 39]. В настоящее время IVIVC рассматривается как один из ключевых инструментов повышения предсказуемости и снижения затрат на проведение исследований биоэквивалентности *in vivo*.

Значимость IVIVC напрямую зависит от класса вещества по БКС. Для АФИ класса I (высокая растворимость и проницаемость) вклад скорости растворения может быть минимальным, если она выше скорости опорожнения желудка [40]. Для класса II (низкая растворимость и высокая проницаемость) именно растворение становится лимитирующим фактором абсорбции, поэтому IVIVC наиболее информативна и практически применима [41, 42]. Для класса III ограничивающим звеном служит проницаемость и предсказательная ценность IVIVC ограничена, а для класса IV практическая применимость крайне низкая [43, 44].

Официальные нормативные и методические документы предусматривают три уровня корреляции IVIVC (табл. 2). Уровень А является единственным уровнем IVIVC, который при условии валидации модели может рассматриваться в качестве основания для замены отдельных исследований биоэквивалентности *in vivo*, прежде всего для лекарственных форм с модифицированным высвобождением<sup>8</sup>.

<sup>7</sup> Шлыков В.С. Сравнительная оценка высвобождения *in vitro* / *in vivo* препаратов пролонгированного действия индапамид, триметазидина, ципрофлоксацина: дисс. ... канд. фарм. наук. М.; 2011.

<sup>8</sup> Extended-release oral dosage forms. IVIVC Guidance. FDA; 1997.

**Таблица 2.** Характеристики уровней корреляции *in vitro* / *in vivo* (IVIVC)

**Table 2.** *In vivo* / *in vitro* correlation levels

Уровень Level	Описание Description	Регуляторное значение Regulatory significance
A	Точечная (point-to-point) корреляция между профилями растворения <i>in vitro</i> и концентрации <i>in vivo</i> <i>Point-to-point correlation between in vitro dissolution and in vivo concentration profiles</i>	Допускается как полная замена <i>in vivo</i> исследований <i>Accepted as a complete replacement for in vivo studies</i>
B	Статистическая корреляция между усредненными параметрами (например, среднее время растворения и абсорбции) <i>Statistical correlation between averaged parameters (e.g. mean dissolution and absorption times)</i>	Может использоваться как подтверждение; допускается ЕМА и ВОЗ в отдельных случаях <i>Can be used as confirmation; accepted by EMA and WHO in individual cases</i>
C	Корреляция одного параметра <i>in vitro</i> с одним параметром <i>in vivo</i> <i>Correlation of one in vitro parameter with one in vivo parameter</i>	Недостаточен для биоэвивера <i>Not sufficient for biowaiver</i>

Таблица составлена авторами по данным нормативных документов: / The table was adapted by the authors from:

- 1) *Extended-release oral dosage forms: Development, evaluation, and application of in vitro / in vivo correlations.* FDA; 1997.
- 2) *Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified-release dosage forms (EMA/CHMP/EWP/280/96 Rev.1).* EMA; 2014.
- 3) *Guideline on the investigation of bioequivalence (EMA/CHMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr).* EMA; 2010. (Приложение по БКС-биоэвиверу, буферы pH 1.2/4.5/6.8, f<sub>2</sub>).
- 4) *WHO Technical Report Series № 1003. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. Annex 6.* WHO; 2017.

Уровни В и С допускается использовать исключительно в качестве вспомогательных научно-методических инструментов, в том числе для обоснования параметров фармакокинетических спецификаций, однако сами по себе они не признаются достаточным основанием для отказа от проведения исследований биоэквивалентности *in vivo* и не применяются в рамках процедуры биоэвивера. Для лекарственных форм немедленного высвобождения вопросы отказа от проведения исследований биоэквивалентности регулируются отдельно в рамках процедуры БКС-биоэвивера при условии высокой растворимости и проницаемости АФИ, а также сопоставимости профилей растворения ( $f_2 \geq 50$ ) в стандартных буферных средах, используемых в международной регуляторной практике<sup>9</sup>.

Наибольший научный интерес IVIVC представляет для веществ подкласса IIa БКС, характеризующихся выраженной рН-зависимой растворимостью и резким ее увеличением при физиологически релевантных значениях рН (например, кетопрофен, рифампицин, карбамазепин). В подобных случаях валидированный метод IVIVC уровня А может усиливать научно-методическое обоснование применимости процедуры биоэвивера, не подменяя собой обязательные регуляторные критерии [45–47].

Дополнительно в научных исследованиях могут использоваться биорелевантные среды (FaSSiF, FeSSiF, SGF) в качестве инструментов оценки

предсказуемости абсорбции, однако их применение не относится к обязательным требованиям, установленным в нормативных и методических документах FDA, ЕАЭС, ЕМА и ВОЗ [45–47].

### Применение искусственного интеллекта в процедурах биоэвивера

Традиционные подходы к построению моделей IVIVC, основанные на аппроксимации эмпирических зависимостей между характеристиками растворения АФИ *in vitro* и его абсорбцией *in vivo*, обладают рядом методологических ограничений. В частности, такие модели ограничено масштабируются при переносе между различными лекарственными формами, составами вспомогательных веществ и популяциями пациентов, не в полной мере учитывают межиндивидуальную фармакокинетическую вариабельность и демонстрируют низкую адаптивность к нетипичным или рН-зависимым профилям высвобождения, что снижает их применимость при научной оценке биоэквивалентности. Указанные ограничения особенно выражены для АФИ, относимых в научной литературе к подклассу IIa БКС, для которых растворимость существенно возрастает при физиологически релевантных значениях рН и оказывает определяющее влияние на профиль абсорбции.

В последние годы в научных исследованиях обсуждается использование методов искусственного интеллекта, включая алгоритмы машинного обучения и глубокого обучения.

<sup>9</sup> *Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified-release dosage forms.* EMA; 2014

<sup>9</sup> EMA; 2010.

Следует подчеркнуть, что методы искусственного интеллекта не рассматриваются как самостоятельные фармакокинетические модели и не подменяют собой IVIVC или физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование (physiologically based pharmacokinetic modeling, PBPK). Их роль заключается в выполнении вспомогательной вычислительной функции, направленной на анализ, аппроксимацию и интеграцию многомерных зависимостей между параметрами растворения *in vitro*, характеристиками лекарственной формы, физиологическими факторами и фармакокинетическими показателями *in vivo*, а также на калибровку и параметризацию существующих IVIVC и PBPK моделей. Таким образом, логика взаимодействия указанных подходов носит иерархический характер: IVIVC и PBPK представляют собой фармакокинетические модели с формализованной структурой и интерпретируемыми параметрами, тогда как методы искусственного интеллекта используются как вычислительный инструмент поддержки и уточнения моделирования, а не как отдельная модельная парадигма.

Подобное разграничение соответствует общепринятому пониманию роли методов машинного обучения в фармакокинетике. В ряде современных исследований показано, что нейросетевые модели способны прогнозировать ключевые фармакокинетические параметры системной экспозиции: максимальную концентрацию в плазме крови ( $C_{max}$ ) и площадь под кривой «концентрация–время» (AUC) – на основании данных растворения *in vitro* с точностью, сопоставимой с результатами экспериментов *in vivo* при условии корректной валидации и ограничения области применения моделей. Указанные результаты рассматриваются исключительно в научно-методическом контексте и направлены на повышение предсказательной способности существующих IVIVC и PBPK подходов. Интеграция методов искусственного интеллекта в физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование и научную оценку корреляции IVIVC расширяет аналитические возможности существующих моделей, в том числе при анализе сложных и переменных профилей высвобождения лекарственных веществ. Применение таких подходов допускается исключительно в рамках научно-методических исследований и требует учета факторов, имеющих клиническое значение для оценки биоэквивалентности, включая наличие узкого терапевтического

индекса, нелинейной фармакокинетики, статус пролекарства, а также особенности комбинированных лекарственных форм.

В целях практического использования указанных методов в научных исследованиях и в процессе обсуждения регуляторных вопросов рассматривается необходимость разработки формализованных подходов к валидации моделей, основанных на методах машинного обучения, с применением общепринятых количественных показателей точности, таких как среднеквадратическая ошибка и средняя абсолютная ошибка. Дополнительно предполагается использование структурированных наборов данных *in vitro* и *in vivo*, а также обеспечение анализа моделей в соответствии с концепцией интерпретируемого искусственного интеллекта. Указанные подходы отражают развитие методологии анализа данных и направлены на повышение предиктивной обоснованности научных моделей, однако не изменяют и не подменяют действующие регуляторные критерии оценки биоэквивалентности и не рассматриваются регуляторными органами в качестве самостоятельного основания для отказа от проведения исследований биоэквивалентности *in vivo*.

Подобные подходы находят отражение в международных регуляторных инициативах<sup>10</sup>. В документах ведущих регуляторных организаций роль методов искусственного интеллекта позиционируется как вспомогательный аналитический инструмент для научного сопровождения разработки лекарственных препаратов, при этом подчеркивается необходимость их использования в строгих методологических и нормативных границах [48–51].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение процедуры биовеивер на основе БКС в регуляторной практике базируется на единых нормативных принципах и формализованных критериях. В официальных документах FDA и EMA, рекомендациях ВОЗ, а также в нормативно-правовых актах ЕАЭС допустимость применения процедуры биовеивер нормативно ограничена АФИ классов I и III БКС при строгом соблюдении требований к растворимости, сопоставимости профилей растворения *in vitro* и учете факторов риска для обеспечения безопасности пациентов, включая ограничения, связанные с лекарственной формой и характеристиками препарата. Установлено, что деление веществ класса II БКС на подклассы IIa и IIb не закреплено

WHO TRS No. 1003; 2017.

<sup>10</sup> Reflection paper on the use of Artificial Intelligence in the medicinal product lifecycle. EMA/40926/2021. Artificial Intelligence/Machine learning in drug development. FDA; 2023.

в действующих нормативных и методических документах FDA, EMA, ВОЗ и ЕАЭС и используется исключительно в научной литературе в исследовательском и методологическом контекстах. В связи с этим обсуждение потенциальной применимости процедуры биоэвивер для веществ класса II БКС относится к сфере научной дискуссии и не может рассматриваться как часть действующего нормативного регулирования ни в одной из анализируемых регуляторных юрисдикций. Показано, что современные модельные и вычислительные подходы, включая корреляцию IVIVC, РВРК, а также методы анализа данных, применяются в регуляторной практике исключительно в качестве вспомогательных инструментов научного обоснования при принятии решений. Указанные подходы не обладают самостоятельным нормативным статусом

и не рассматриваются в качестве независимой доказательной базы для отказа от проведения исследований биоэвиверности *in vivo*.

Таким образом, результаты проведенного анализа подтверждают отсутствие принципиальных регуляторных расхождений между подходами к применению процедуры биоэвивер в анализируемых юрисдикциях и подчеркивают необходимость строгого разграничения нормативно закрепленных требований и научных интерпретаций при оценке возможности отказа от исследований биоэвиверности. Представленные выводы формируют методологически корректную основу для интерпретации регуляторных документов и использования данных научных публикаций в области биофармацевтической оценки ВЛП.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Singh N, Vayer P, Tanwar S, Poyet JL, Tsaïoun K, Villoutreix BO. Drug discovery and development: Introduction to the general public and patient groups. *Front Drug Discov*. 2023;3:1–11. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2023.1201419>
- Chakraborty C, Bhattacharya M, Lee SS. Artificial intelligence enabled ChatGPT and large language models in drug target discovery, drug discovery, and development. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2023;33:866–8. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.08.009>
- Patel K, Yasobant S, Charan J, et al. Acceptability and perceptions of generic drugs among patients, pharmacists, and physicians. *J Pharm Res Int*. 2020;32(33):40–7. <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i3330948>
- Chow SC. Bioavailability and bioequivalence in drug development. *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat*. 2014;6(4):304–12. <https://doi.org/10.1002/wics.1310>
- Arafat M, Faelelbom KM, Sarfraz MK, et al. Comparison between branded and generic furosemide 40 mg tablets using thermal gravimetric analysis and Fourier transform infrared spectroscopy. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(4):489–98. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_365\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_365_19)
- Moharram M, Kiang T. Pharmacokinetics of long-acting methylphenidate: formulation differences, bioequivalence, interchangeability. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2024;49:149–70. <https://doi.org/10.1007/s13318-023-00873-1>
- Stielow M, Witczynska A, Kubryn N, et al. The bioavailability of drugs: the current state of knowledge. *Molecules*. 2023;28(24):8038. <https://doi.org/10.3390/molecules28248038>
- Lenic I, Blake K, Garcia-Arieta A, et al. Overview of the European Medicines Agency's experience with bioequivalence in centralized applications. *Clin Transl Sci*. 2019;12(5):490–6. <https://doi.org/10.1111/cts.12642>
- Charoo NA. Converging generic drug product development: bioequivalence design and reference product selection. *Clin Pharmacokinet*. 2020;59(11):1335–55. <https://doi.org/10.1007/s40262-020-00912-z>
- Cotia A, Oliveira Junior HA, Matuoka JY, Boszczowski I. Clinical equivalence between generic versus branded antibiotics: systematic review and meta-analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(5):935. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050935>
- Amidon KS, Langguth P, Lennernäs H, et al. Bioequivalence of oral products and the biopharmaceutics classification system: science, regulation, and public policy. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;90(3):467–70. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.109>
- Shokhin IE, Ramenskaya GV, Vasilenko GF, Malashenko EA. Assessment of the possibility of using comparative *in vitro* dissolution kinetics (bioequivalence) instead of *in vivo* bioequivalence evaluation for establishing the interchangeability of generic drugs. *Pharm Chem J*. 2011;45(2):46–8. <https://doi.org/10.1007/s11094-011-0570-6>
- Mehta M, Polli JE, Seo P, et al. Drug permeability – best practices for biopharmaceutics classification system (BCS)-based bioequivalence: a workshop summary report. *J Pharm Sci*. 2023;112(7):1749–62. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2023.04.016>
- Oner ZG, Polli JE. Bioavailability and bioequivalence. In: Talevi A, Quiroga PA, eds. *ADME processes in pharmaceutical sciences*. Cham: Springer; 2024. P. 423–41. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-50419-8\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-031-50419-8_18)
- Martir J, Flanagan T, Mann J, Fotaki N. BCS-based bioequivalence: extension to paediatrics. *Eur J Pharm Sci*. 2020;155:105549. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105549>
- Abend A, Xiong L, Zhang X, et al. Bioequivalence applications in support of a polymorph during late-stage clinical development of verubecestat: current challenges and future opportunities for global regulatory alignment. *AAPS J*. 2019;22(1):17. <https://doi.org/10.1208/s12248-019-0396-9>
- Dhake PR, Kumbhar ST, Gaikwad VL. Bioequivalence based on biopharmaceutics classification system: considerations and requirements. *Pharm Sci Adv*. 2024;2:100020. <https://doi.org/10.1016/j.pscia.2023.100020>
- Gozzo L, Caraci F, Drago F. Bioequivalence, drugs with narrow therapeutic index and the phenomenon of biocriep: A critical analysis of the system for generic substitution. *Healthcare (Basel)*. 2022;10(8):1392. <https://doi.org/10.3390/healthcare10081392>
- Metry M, Polli JE. Evaluation of excipient risk in BCS class I and III bioequivalence. *AAPS J*. 2022;24(1):20. <https://doi.org/10.1208/s12248-021-00670-1>
- Gigante V, Pauletti GM, Kopp S, et al. Global testing of a consensus solubility assessment to enhance robustness of the WHO biopharmaceutics classification system. *ADMET DMPK*. 2020;9(1):23–39. <https://doi.org/10.5599/admet.850>
- Kumari J, Gadewar M, Kumar A, et al. An updated account of the biopharmaceutics classification system (BCS).

- NeuroQuantology*. 2022;20(15):3165–77. [https://www.neuroquantology.com/media/article\\_pdfs/3165-3177.pdf](https://www.neuroquantology.com/media/article_pdfs/3165-3177.pdf)
22. Khalid F, Hassan SMF, Mushtaque M, et al. Comparative analysis of biopharmaceutics classification system (BCS)-based biowaiver protocols to validate equivalence of a multi-source product. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2020;14(7):212–20. <https://doi.org/10.5897/AJPP2020.5130>
  23. Izutsu K, Abe Y, Yoshida H. Approaches to supply bioequivalent oral solid pharmaceutical formulations through the life cycles of products: four-media dissolution monitoring program in Japan. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020;56:101378. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101378>
  24. Ono A, Kurihara R, Terada K, Sugano K. Bioequivalence dissolution test criteria for formulation development of high solubility – low permeability drugs. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2023;71(3):213–9. <https://doi.org/10.1248/cpb.c22-00685>
  25. Abend AM, Hoffelder T, Cohen MJ, et al. Dissolution profile similarity assessment: best practices, decision trees and global harmonization. *AAPS J*. 2023;25(3):44. <https://doi.org/10.1208/s12248-023-00795-5>
  26. Flanagan T. Potential for pharmaceutical excipients to impact absorption: A mechanistic review for BCS class 1 and 3 drugs. *Eur J Pharm Biopharm*. 2019;141:130–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.05.020>
  27. Ruiz-Picazo A, Lozoya-Agullo I, Gonzalez-Alvarez I, et al. Effect of excipients on oral absorption process according to the different gastrointestinal segments. *Expert Opin Drug Deliv*. 2021;18(8):1005–24. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1813108>
  28. Sarkar A. Types of biowaivers: A discussion. *Int J Drug Regul Aff*. 2019;7(3):14–20. <https://doi.org/10.22270/ijdra.v7i3.329>
  29. Van Oudtshoorn JE, Garcia-Arieta A, Santos GML, et al. A survey of the regulatory requirements for BCS-based biowaivers for solid oral dosage forms by participating regulators and organisations of the International Generic Drug Regulators Programme. *J Pharm Pharm Sci*. 2018;21(1):27–37. <https://doi.org/10.18433/j3x93k>
  30. Волкова ЕА, Медведев ЮВ, Фишер ЕН, Шохин ИЕ. Биовеивер как вид исследования биоэквивалентности. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(1):42–52. Volkova EA, Medvedev YuV, Fisher EN, Shokhin IE. Biowaiver as a type of bioequivalence study. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(1):42–52 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-537>
  31. Patel J, Mehta P, Kothari V. Comparison of global regulatory guidelines for availability of different biowaiver provisions and application requirements of biopharmaceutics classification system (BCS)-based biowaiver. *Int J Drug Regul Aff*. 2018;3(3):8–20. <https://doi.org/10.22270/ijdra.v3i3.167>
  32. Горбунова ЕВ, Горячев ДВ, Горская ТЕ, Богданов АН. Современные подходы к подтверждению терапевтической эквивалентности лекарственных препаратов локального действия в желудочно-кишечном тракте. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(4):228–38. Gorbunova EV, Goryachev DV, Gorskaya TE, Bogdanov AN. Current approaches to demonstration of therapeutic equivalence of locally-acting gastrointestinal drugs. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(4):228–38 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-4-228-238>
  33. Ромодановский ДП, Хохлов АЛ, Горячев ДВ. Планирование исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в условиях пандемии COVID-19. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского при-*
  34. Ниязов РР, Рождественский ДА, Васильев АН и др. Регуляторные аспекты регистрации воспроизведенных и гибридных лекарственных препаратов в Евразийском экономическом союзе. *Ремедиум*. 2018;(7–8):6–19. Niyazov RR, Rozhdestvensky DA, Vasiliev AN, et al. Regulatory aspects of registration of generic and hybrid medicines in the Eurasian Economic Union. *Remedium*. 2018;(7–8):6–19 (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/1561-5936-2018-7-8-6-19>
  35. Davit BM, Kanfer I, Tsang YC, et al. BCS biowaivers: Similarities and differences among EMA, FDA, and WHO requirements. *AAPS J*. 2016;18(3):612–8. <https://doi.org/10.1208/s12248-016-9877-2>
  36. Sirisha S. A review on IVIVC in the development of oral drug formulation: data obtained from past two decades. *Res J Pharm Dosage Forms Technol*. 2020;12(3):198–204. <https://doi.org/10.5958/0975-4377.2020.00034.8>
  37. Rath S, Kanfer I. *In vitro* – *in vivo* correlations (IVIVC) for predicting the clinical performance of metronidazole topical creams intended for local action. *Pharmaceutics*. 2023;15(1):268. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010268>
  38. Kakuk M, Farkas D, Antal I, Kállai-Szabó N. Advances in drug release investigations: trends and developments for dissolution test media. *Acta Pharm Hung*. 2020;90(4):155–69. <https://doi.org/10.33892/aph.2020.90.155-169>
  39. Раменская ГВ, Шохин ИЕ, Давыдова КС, Савченко АЮ. *In vivo* – *in vitro* корреляция (IVIVC): современный инструмент для оценки поведения лекарственных форм в условиях *in vivo*. *Медицинский альманах*. 2011;(1):222–6. Ramenskaya GV, Shokhin IE, Davydova KS, Savchenko AYU. *In vivo*–*in vitro* correlation (IVIVC): a modern tool for assessing the behavior of dosage forms under *in vivo* conditions. *Medical Almanac*. 2011;(1):222–6 (In Russ.). EDN: [NEEPYJ](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.041)
  40. Charalabidis A, Sfouni M, Bergström C, Macheras P. The Biopharmaceutics Classification System (BCS) and the Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System (BDDCS): Beyond guidelines. *Int J Pharm*. 2019;566:264–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.041>
  41. Vrbancac H, Trontelj J, Berglez S, et al. The biorelevant simulation of gastric emptying and its impact on model drug dissolution and absorption kinetics. *Eur J Pharm Biopharm*. 2020;149:113–20. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.02.002>
  42. Luo L, Thakral NK, Schwabe R, et al. Using tiny-TIM dissolution and *in silico* simulation to accelerate oral product development of a BCS class II compound. *AAPS PharmSciTech*. 2022;23(6):185. <https://doi.org/10.1208/s12249-022-02343-4>
  43. Wu F, Cristofaletti R, Zhao L, Rostami-Hodjegan A. Scientific considerations to move towards biowaiver for biopharmaceutical classification system class III drugs: How modeling and simulation can help. *Biopharm Drug Dispos*. 2021;42(4):118–27. <https://doi.org/10.1002/bdd.2274>
  44. Gonzalez-Alvarez I, Ruiz-Picazo A, Selles-Talavera R, et al. *In vivo* predictive dissolution and biopharmaceutic-based *in silico* model to explain bioequivalence results of valsartan, a biopharmaceutics classification system class IV drug. *Pharmaceutics*. 2024;16(3):390. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030390>
  45. Kollipara S, Ahmed T, Chougule M, et al. Conventional vs mechanistic IVIVC: A comparative study in establishing dissolution safe space for extended release formulations. *AAPS PharmSciTech*. 2024;25(5):118. <https://doi.org/10.1208/s12249-024-02819-5>

46. Alimpertis N, Simitopoulos A, Tsekouras AA, Macheras P. IVIVC revised. *Pharm Res.* 2024;41(2):235–46. <https://doi.org/10.1007/s11095-024-03653-x>
47. Srebro J, Abend A, Dorozynski P, et al. Report on the virtual workshop: a quest for biowaiver, including next generation dissolution characterization and modeling. *Dissolut Technol.* 2023;30(2):100–8. <https://doi.org/10.14227/DT300223P100>
48. Shohin IE, Kulinich II, Ramenskaya GV, et al. Biowaiver monographs for immediate-release solid oral dosage forms: ketoprofen. *J Pharm Sci.* 2012;101(10):3593–603. <https://doi.org/10.1002/jps.23233>
49. Potthast H, Dressman JB, Junginger HE, et al. Biowaiver monographs for immediate-release solid oral dosage forms: Ibuprofen. *J Pharm Sci.* 2005;94(10):2121–31. <https://doi.org/10.1002/jps.20444>
50. Loiosio-Konstantinidis I, Cristofaletti R, Fotaki N, et al. Establishing virtual bioequivalence and clinically relevant specifications using *in vitro* biorelevant dissolution testing and physiologically based population pharmacokinetic modeling. Case example naproxen. *Eur J Pharm Sci.* 2020;143:105170. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105170>
51. Papadopoulos D, Karalis VD. Introducing an artificial neural network for virtually increasing the sample size of bioequivalence studies. *Appl Sci (Basel).* 2024;14(7):2970. <https://doi.org/10.3390/app14072970>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Н.Д. Дахма* – идея исследования, разработка концепции и дизайна работы, проведение систематического анализа литературы, разработка матричной модели регуляторной применимости процедуры биовейвер, написание основного текста рукописи; *Е.Т. Жилиякова* – участие в разработке концепции исследования, критический пересмотр содержания рукописи; *Д.А. Фадеева* – интерпретация полученных результатов, редактирование текста рукописи на русском и английском языках; *М.Д. Дахма* – сбор и систематизация нормативных документов, проведение первичного анализа данных, подготовка раздела «Материалы и методы»; *Р. Альрухаие* – интерпретация результатов в контексте международных регуляторных требований, внесение предложений по уточнению формулировок и терминологии, подготовка раздела «Обсуждение»; *К.А. Никитин* – анализ публикаций на русском языке, внесение предложений в структуру рукописи, формулирование выводов.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Nermin J. Dahma* conceptualized and designed the study, conducted the systematic literature review, developed the regulatory applicability matrix for the biowaiver procedure, and drafted the initial version of the manuscript. *Elena T. Zhilyakova* contributed to the study concept and design, interpreted the results, provided substantial revisions to the text, and performed a critical review of the manuscript. *Dariya A. Fadeeva* participated in the interpretation of the obtained results and made edits to the text of the article in Russian and English. *Michel J. Dahma* participated in the collection and systematization of regulatory documents, carried out the preliminary analysis of data, and contributed to drafting the Materials and Methods section. *Ranim Alrouhayyah* contributed to the interpretation of results in the context of international regulatory requirements, suggested clarifications of terminology, and participated in preparing the Discussion section. *Konstantin A. Nikitin* participated in the analysis of Russian-language publications, contributed to the article structure, and the formulation of conclusions.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Дахма Нермин Джозеф / Nermin Joseph Dahma**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6421-6052>

**Жилиякова Елена Теодоровна**, д-р фарм. наук, профессор / **Elena T. Zhilyakova**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8685-1601>

**Фадеева Дарья Александровна**, канд. фарм. наук, доцент / **Dariya A. Fadeeva**, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5539-1390>

**Дахма Мишель Джозеф / Michel Joseph Dahma**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0838-6657>

**Альрухаие Раним / Ranim Alrouhayyah**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9651-2913>

**Никитин Константин Андреевич / Konstantin A. Nikitin**

Поступила 05.11.2025

После доработки 30.01.2026






Принята к публикации 21.04.2026

Received November 5, 2025

Revised January 30, 2026

Accepted April 21, 2026



С.И. Кулешова ✉   
Г.Ю. Романюк   
Д.А. Шахова   
С.А. Лисунова   
С.А. Процак 

## Определение активности ванкомицина микробиологическими методами

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

✉ Кулешова Светлана Ивановна; [Kuleshova@expmed.ru](mailto:Kuleshova@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Ванкомицин – трициклический гликопептидный антибиотик, продуцируемый *Amycolatopsis orientalis*. Для определения активности антибиотиков, получаемых путем биосинтеза, в частности ванкомицина, для которых не предусмотрены химические или физико-химические методы определения активного соединения, применяют два фармакопейных метода: метод диффузии в агар (МДА) и турбидиметрический метод (ТМ). Оба метода основаны на угнетении роста тест-микроорганизма в соответствующих условиях эксперимента. Для оценки активности парентеральных препаратов, применяемых в виде растворов, турбидиметрический метод имеет ряд преимуществ по сравнению с методом диффузии в агар как более чувствительный к низким концентрациям, более экономичный и не требующий длительного периода времени для получения результатов. Государственной фармакопеей Российской Федерации предусмотрен один метод определения активности антибиотиков – метод диффузии в агар. Ранее была разработана методика определения активности ванкомицина турбидиметрическим методом.

**ЦЕЛЬ.** Оценка результатов определения активности ванкомицина, полученных турбидиметрическим методом, с целью использования его в качестве альтернативного методу диффузии в агар.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Условия проведения испытания методики с использованием МДА соответствовали условиям, приведенным в Государственной фармакопее Российской Федерации: тест-микроорганизм, посевная доза: *Bacillus subtilis* NCTC 10400/ATCC 6633 – Becton Dickinson France S.A.S., 20 млн спор на 1 мл среды, для приготовления основных растворов – стерильная вода очищенная, растворитель для рабочих растворов – стерильный буфер № 4. Методика ТМ теста – микроорганизм *Staphylococcus aureus* NCTC 7447/ATCC 6538P – Becton Dickinson France S.A.S., растворитель для приготовления – стерильная вода очищенная, растворитель для приготовления рабочих растворов – стерильный буферный раствор с рН 8,0 (заимствовано из Европейской фармакопеи). Использовали питательную среду, разработанную в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России для определения активности аминогликозидов. Определение активности проводили сравнением со стандартным образцом ванкомицина гидрохлорида EP CRS banth 4 для микробиологических анализов. Для испытания по каждому методу (МДА и ТМ) отбирали по 5 навесок с точностью до 0,0001 г испытуемого образца, каждую навеску анализировали в трех повторностях.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Расчет основных параметров дисперсионного анализа «непараллельность» и «регрессия» результатов испытуемых и стандартных растворов подтвердил равноценность данных, полученных обоими методами. Сравнение выборочных дисперсий анализа двух методик (ТМ и МДА) по критерию Фишера и по критерию Бартлетта, значению  $\chi^2$  при уровне вероятности  $P=95\%$  и  $f=1$  и сравнение средних результатов по t-критерию Стьюдента подтвердили принадлежность обеих выборок к одной генеральной совокупности. Систематическая ошибка ( $\epsilon$ ) и неопределенность ( $\delta$ ) методики ТМ существенно выше, чем при применении методики МДА:  $\epsilon=1,5$  и  $0,77\%$ ;  $\delta=4,7$  и  $0,97\%$  соответственно.





**ВЫВОДЫ.** Турбидиметрический метод может рассматриваться в качестве альтернативного метода определения активности ванкомицина. Однако для минимизации влияния человеческого фактора и внешних условий испытания необходимо предварительно разработать стандартные операционные процедуры выполнения работ по методике ТМ и контролировать их соблюдение.

**Ключевые слова:** ванкомицин; метод диффузии в агар; турбидиметрический метод; активность антибиотиков

**Для цитирования:** Кулешова С.И., Романюк Г.Ю., Шахова Д.А., Лисунова С.А., Процак С.А. Определение активности ванкомицина микробиологическими методами. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2026;16(2):190–197. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-190-197>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Svetlana I. Kuleshova ✉   
Galina Yu. Romanyuk   
Daria A. Shakhova   
Svetlana A. Lisunova   
Svetlana A. Protsak 

## Vancomycin Activity Assay Using Microbiological Methods

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

✉ Svetlana I. Kuleshova; [Kuleshova@expmed.ru](mailto:Kuleshova@expmed.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Vancomycin is a tricyclic glycopeptide antibiotic produced by *Amycolatopsis orientalis*. To determine the activity of antibiotics obtained by biosynthesis, in particular vancomycin, chemical or physicochemical identification of the active compound is not available; instead, two pharmacopoeial methods are used: the agar diffusion and the turbidimetric method. Both methods are based on inhibiting the growth of the test microorganism under the appropriate experimental conditions. Turbidimetric method has several advantages over the agar diffusion method for parenteral preparations used in the form of solutions, as it is more sensitive to low concentrations, more cost-effective and takes less time to obtain the results. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF) provides one method for determining the activity of antibiotics – the agar diffusion method. Previously, turbidimetric method was developed to determine vancomycin activity. **AIM.** This study aimed to evaluate the determination results of vancomycin activity obtained using turbidimetric method in order to use it as an alternative to the agar diffusion method.

**MATERIALS AND METHODS.** The test conditions for the method using agar diffusion corresponded to SP RF: test-microorganism, seed dose: *Bacillus subtilis* NCTC 10400/ ATCC 6633 (Becton Dickinson France S.A.S.),  $20 \times 10^7$  spores per ml medium; purified sterile water for the preparation of basic solutions, sterile buffer No. 4 for process solutions. The turbidimetric method included *Staphylococcus aureus* NCTC 7447/ ATCC 6538P (Becton Dickinson France S.A.S), purified sterile water, and solvent for process solutions – sterile buffer solution, pH 8.0 (adapted from the European Pharmacopoeia). A culture medium developed at the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products was used to determine the activity of aminoglycosides. The activity was determined by comparing with a reference standard of vancomycin hydrochloride EP CRS bath 4 for microbiological analyses. For each test (agar diffusion and turbidimetry), five accurately weighed samples were taken with an accuracy of 0.0001 g of the test sample; each sample was analyzed in three replicates.

**RESULTS.** The calculated main parameters of the analysis of variance, Non-parametrisms and Regression of the results of the test and reference solutions, confirmed the adequacy of the data obtained using both methods. Comparison of the sample variances of the two methods (turbidimetry and agar diffusion) according to Fisher's test and Bartlett's test, the calculated value  $\chi^2$  ( $P=95\%$ ,  $f=1$ ), and comparison of the mean values according to the Student's t-test confirmed that both samples belonged to the same general sample. The systematic error and uncertainty for

the turbidimetric method was significantly higher than the agar diffusion:  $\epsilon$  1.5% and  $\epsilon$  0.77%,  $\delta$ =4.7% and  $\delta$ =0.97%, respectively.

**CONCLUSIONS.** The turbidimetric method can be deemed as an alternative for determining vancomycin activity. However, in order to minimize the influence of the human factor and the external study conditions, a preliminary standardization of conditions, with a subsequent implementation control is warranted for the turbidimetric method.

**Keywords:** vancomycin; agar diffusion method; turbidimetric method; antibiotic activity

**For citation:** Kuleshova S.I., Romanyuk G.Yu., Shakhova D.A., Lisunova S.A., Protsak S.A. Vancomycin activity assay using microbiological methods. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):190–197. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-190-197>

**Funding.** The study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00061-26-00 (R&D Registry No. 124022300127-0).

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Ванкомицин – трициклический гликопептидный антибиотик, продуцируемый *Amycolatopsis orientalis*, выделен в 1953 г. Э. Корнфельдом, является первым антибиотиком класса гликопептидов [1]. Ванкомицин активен в отношении грамположительных аэробных и анаэробных микроорганизмов, включая метицил-резистентный золотистый стафилококк и метицил-резистентный эпидермальный стафилококк, механизм его действия основан на нарушении синтеза клеточной стенки бактерий<sup>1</sup>.

В Российской Федерации зарегистрировано 10 препаратов ванкомицина различных производителей<sup>2</sup>. Ванкомицин применяется в форме порошка или лиофилизата для приготовления раствора для инфузий и приема внутрь. Пероральные препараты ванкомицина назначают для лечения псевдомембранозного колита, вызванного *Clostridium difficile*<sup>3</sup>. Эффективность препаратов антибиотиков определяется антимикробной активностью действующего вещества.

Ванкомицин относится к антибиотикам, получаемым путем биосинтеза, которые не стандартизируются по активности химическими или физико-химическими методами. Для таких соединений предусмотрено два фармакопейных биологических испытания: метод диффузии в агар (МДА) и турбидиметрический метод (ТМ)<sup>4</sup>. МДА основан на диффузии антибиотика в чашке Петри через слой агаризованной питательной среды, которая предварительно засеяна тест-культурой микроорганизма, чувствительной к исследуемому антибиотику; ТМ – на угнетении роста

тест-микроорганизма в растворе антибиотика, помещенного в жидкую питательную среду. Основой обоих методов является линейная зависимость степени угнетения роста тест-микроорганизма от логарифма концентрации антибиотика в установленном экспериментально диапазоне концентраций растворов антибиотиков. При определении активности антибиотика микробиологическими методами используется принцип сравнения со стандартным образцом (международные стандартные образцы (МСО) либо аттестованные по отношению к МСО), т.е. предполагается, что исследуемое количество испытуемого антибиотика вызывает такой же биологический эффект, как и определенное количество стандартного образца [2].

При анализе парентеральных препаратов, применяемых в виде растворов, ТМ имеет ряд преимуществ по сравнению с МДА как более чувствительный к низким концентрациям, более экономичный и не требующий длительного времени для получения результатов (результаты эксперимента по методу МДА могут быть получены не ранее 18 ч после постановки опыта). Методики с использованием ТМ как более эффективные и экономичные активно разрабатываются и внедряются в фармацевтическую практику не только для анализа природных антимикробных соединений, но и для полусинтетических и синтетических антибиотиков различной химической природы [3–9].

В Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV изд. для оценки антимикробной активности антибиотиков рекомендован

<sup>1</sup> Страчунский ЛС, Белоусов ЮБ, Козлова СН. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Смоленск; 2000–2007.

<sup>2</sup> <https://grls.rosminzdrav.ru>

<sup>3</sup> Ванкомицин. Справочник лекарственных препаратов Видаль. <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1108>

<sup>4</sup> 2.7.2 Microbiological assay of antibiotics. European Pharmacopoeia. 11.8 ed. Strasbourg: EDQM; 2025.  
<81> Antibiotics – Microbial assays. United States Pharmacopeia. USP-NF/PF. Rockville; 2024.

один метод — МДА<sup>5</sup>. В ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России были отработаны условия определения (методика) активности ванкомицина с использованием ТМ, для подтверждения достоверности полученных результатов необходимо провести сравнительный анализ с результатами метода МДА.

Цель работы — оценка результатов определения активности ванкомицина, полученных турбидиметрическим методом, с целью использования его в качестве альтернативного методу диффузии в агар.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве **объекта исследований** был выбран образец лекарственного препарата ванкомицина: порошок для приготовления раствора для инфузий и приема внутрь, дозировка 1000 мг. Данная лекарственная форма представляет собой распылку стерильной субстанции ванкомицина гидрохлорида. В качестве стандартного образца (СО) использовали СО ванкомицина гидрохлорида EP CRS banth 4 для микробиологических анализов с активностью 109620 ЕД на виалу.

Условия проведения испытания с использованием **метода диффузии в агар** соответствовали ГФ РФ<sup>6</sup>: тест-микроорганизм, посевная доза: *Bacillus subtilis* NCTC 10400/ATCC 6633 — Becton Dickinson France S.A.S., 20 млн спор на 1 мл среды; питательная среда для нижнего слоя в чашке Петри — 15 мл, питательная среда для верхнего слоя — 7 мл, тест-культура вносится только в верхний слой, растворитель для приготовления основных растворов — вода очищенная стерильная, полученная на установке Milli-Q (Merk, Германия), растворитель для рабочих растворов — стерильный буфер № 4. Основные растворы СО и испытуемого готовили с концентрацией 1000 ЕД/мл, рабочие растворы:  $S_1, U_1$  — 50,  $S_2, U_2$  — 100 и  $S_3, U_3$  — 200 ЕД/мл. Рабочие растворы СО обозначены как  $S_1, S_2$  и  $S_3$ , рабочие растворы испытуемого —  $U_1, U_2, U_3$ . На одну повторность использовали 6 чашек Петри с питательной средой, инкубированной тест-микроорганизмом. В сформированные с помощью стерильного стального сверла в толще агара 6 лунок дозатором Biohit вносили по 100 мкл рабочих растворов таким образом, чтобы растворы с максимальными

концентрациями не соприкасались между собой:  $S_1, U_3, S_2, U_1, S_3, U_2$ . Подготовленные чашки Петри с антибиотиком помещали в термостат Инкубатор BD-400 (Binder GmbH, Германия) на 18 ч и инкубировали при температуре  $36 \pm 1$  °С. Через 18 ч измеряли диаметры зон угнетения на специальном приборе Readbiotic (PBI International S.p.A., Италия) с точностью до 0,1 мм. Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с ГФ РФ<sup>7</sup>.

Для испытания по методике с использованием **турбидиметрического метода** перечень растворителей и тест-микроорганизм использовали в соответствии с рекомендациями Европейской фармакопеи<sup>8</sup>: тест-микроорганизм — *Staphylococcus aureus* NCTC 7447/ATCC 6538P (Becton Dickinson France S.A.S.), растворитель для приготовления — стерильная вода очищенная, растворитель для приготовления рабочих растворов — стерильный буферный раствор с pH 8,0. Основные растворы стандартного и испытуемого образцов готовили так же, как и при испытании методом диффузии в агар. Эмпирически были подобраны рабочие концентрации растворов антибиотика 4, 6, 9 ЕД/мл (условия подбора — минимизация времени инкубирования и линейная зависимость «доза–эффект»). Для анализа использовали жидкую питательную среду для турбидиметрии следующего состава: панкреатический гидролизат казеина 6,0 г; гидролизат мяса ферментативный 1,5 г; дрожжевой экстракт 1,5 г; хлорид натрия 3,5 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 3,68 г; калий фосфорнокислый однозамещенный 1,32 г; вода очищенная до 1 л, pH после стерилизации 7,2. Дополнительно в состав питательной среды для турбидиметрии введена глюкоза (стерильный 40% раствор) в соотношении 1:400 [10].

В пробирки объемом 20 мл помещали 9 мл питательной среды, инокулированной тест-микроорганизмом, мутность микробной суспензии которого первоначально устанавливали по шкале МакФарланда (2,7) с помощью денситометра DEN-1 McFarland Densitometer (BioSan SIA, Латвия), затем разводили до концентрации микроорганизмов  $\sim 10^6$  КОЕ/мл стерильным буферным раствором с pH 8,0. В пробирки вносили по 1 мл растворов исследуемого образца и растворов СО каждой концентрации в трех

<sup>5</sup> ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>6</sup> Там же.

<sup>7</sup> ОФС.1.1.0014.15 Статистическая обработка результатов определения фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами, вып. 1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>8</sup> 2.7.2 Microbiological assay of antibiotics. European Pharmacopoeia. 11.8 ed. Strasbourg: EDQM; 2025.

повторностях (одна пробирка, одна концентрация). В качестве контрольных использовали растворы с питательной средой и буфером (рН 8,0). Образцы инкубировали при температуре  $36 \pm 1$  °С в течение 5 ч в условиях постоянной аэрации при перемешивании в термошейкере Excella E-24/24R (NEW Brunswick Scientific Co., США). Для прекращения роста микроорганизмов после завершения инкубации в каждую пробирку с исследуемым образцом вводили раствор формальдегида 12% (PanReas AppliChem, Испания) по 0,5 мл. Через 30 мин измеряли оптическую плотность всех исследуемых растворов на спектрофотометре Agilent 8453 при длине волны 530 нм.

**Статистическую обработку результатов** проводили в соответствии с ГФ РФ<sup>9</sup>. Способ статистической обработки данных, полученных по методикам МДА и ТМ, основан на модели параллельных линий, требующей соблюдения ряда условий<sup>10</sup>: постоянное отношение двух последовательных доз, линейная зависимость отклика (диаметр зоны угнетения в случае МДА и оптическая плотность в случае ТМ) и логарифма концентрации антибиотика (доза). При этом линии откликов для испытуемых растворов и растворов СО должны быть параллельны. В обоих экспериментах анализы растворов СО и рабочих растворов ванкомицина выполняли одновременно и при идентичных условиях. Для испытания (МДА и ТМ) отбирали по 5 навесок с точностью до 0,0001 г испытуемого образца, каждую навеску анализировали в трех повторностях. Каждый полученный результат проверяли на пригодность методом дисперсионного анализа на платформе программы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методами ДМА и ТМ получено по пять результатов активности ванкомицина. Подтверждение модели параллельных линий проведено путем оценки показателей «непараллельность» и «регрессия». На основании полученных данных рассчитаны дисперсии с использованием суммы квадратов источников вариации (постановка опыта, непараллельность, дозозависимость). Значимость различий дисперсии оценивалась по критерию Фишера. Для оценки

непараллельности должна быть подтверждена незначимость (значение критерия Фишера должно быть меньше критического) при уровне значимости  $p=0,05$ , для оценки регрессии подтверждается значимость (значение критерия Фишера должно быть больше критического) при  $p=0,01$ . Результаты дисперсионного анализа для параметров «непараллельность» и «регрессия» приведены в *таблице 1*.

Расчет основных показателей дисперсионного анализа «непараллельность» и «регрессия» результатов, полученных для испытуемых и стандартных растворов, подтвердил равноценность полученных данных («логарифм дозы» – «эффект» – линейная зависимость, линии регрессии, полученной для испытуемых рабочих растворов и стандартных рабочих растворов, параллельны). Незначимость различий средних значений оценивали по критерию Стьюдента в соответствии с ГФ РФ<sup>11</sup>. Предварительно проверяли наличие статистически значимого различия между дисперсиями обеих выборок (*табл. 2*).

Расхождение между средними значениями статистически незначимо, полученные результаты можно рассматривать как принадлежащие к одной генеральной совокупности. Дополнительно по критерию Бартлетта было подтверждено, что дисперсии двух выборок принадлежат к одной генеральной совокупности (рассчитанное значение  $\chi^2 1,17 < 3,84$  (табличное значение) при  $P=95\%$ , степень свободы  $f=1$ ). Следовательно, результаты испытаний могут использоваться равнозначно. Относительная неопределенность средних результатов  $\varepsilon_{(ТМ)}$  в случае результатов, полученных по методу ТМ, составляет 1,5%, что больше, чем  $\varepsilon_{(МДА)} 0,77\%$ . Систематическая погрешность методик, рассчитанная на основе опорного значения 1000 ЕД/мг, в случае ТМ  $\delta=4,7\%$ , в случае МДА  $\delta=0,97\%$ . Результаты статистической оценки двух методик представлены в *таблице 3*.

Согласно статистическим расчетам прецизионность методики МДА значительно выше, чем методики ТМ. Такие результаты свидетельствуют о более высокой вариабельности методики ТМ, что может быть связано с недостаточной обработкой стандартных операций выполнения испытания, например разброс количества пробы

<sup>9</sup> ОФС.1.1.0014.15 Статистическая обработка результатов определения фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами, вып. 1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>10</sup> ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

2.7.2 Microbiological assay of antibiotics. European Pharmacopoeia. 11.8 ed. Strasbourg: EDQM; 2025. <81> Antibiotics – Microbial assays. United States Pharmacopoeia. USP-NF/PF. Rockville; 2024.

<sup>11</sup> ОФС.1.1.0013 Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний, вып. 1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

**Таблица 1.** Результаты дисперсионного анализа данных по оценке активности ванкомицина, полученных методами турбидиметрии и диффузии в агар

**Table 1.** Analysis of variance for vancomycin activity evaluation obtained by turbidimetry and agar diffusion methods

Повторности <i>Replicates</i>	Турбидиметрический метод <i>Turbidimetric method</i>				Метод диффузии в агар <i>Agar diffusion method</i>			
	Значение критерия Фишера <i>Fisher's t-test</i>							
	Непараллельность <i>Non-parallelism</i> ( $p=0,05$ )		Регрессия <i>Regression</i> ( $p=0,01$ )		Непараллельность <i>Non-parallelism</i> ( $p=0,05$ )		Регрессия <i>Regression</i> ( $p=0,01$ )	
	Расчетное, $F_{\text{выч}}$ <i>Estimated,</i> $F_{\text{est}}$	Табличное, $F_{\text{табл}}$ <i>Reference,</i> $F_{\text{ref}}$	Расчетное, $F_{\text{выч}}$ <i>Estimated,</i> $F_{\text{est}}$	Табличное, $F_{\text{табл}}$ <i>Reference,</i> $F_{\text{ref}}$	Расчетное, $F_{\text{выч}}$ <i>Estimated,</i> $F_{\text{est}}$	Табличное, $F_{\text{табл}}$ <i>Reference,</i> $F_{\text{ref}}$	Расчетное, $F_{\text{выч}}$ <i>Estimated,</i> $F_{\text{est}}$	Табличное, $F_{\text{табл}}$ <i>Reference,</i> $F_{\text{ref}}$
1	0,32	4,35	446,4	8,1	10,47	4,35	554,1	8,1
2	0,09	4,35	93,7	8,1	0	4,35	582,3	8,1
3	0,62	4,35	241,2	8,1	0,05	4,35	324,8	8,1
4	1,71	4,35	1081,7	8,1	0,05	4,35	344,4	8,1
5	1,08	4,35	584,4	8,1	0,49	4,35	3235,9	8,1

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.**  $p$  – уровень значимости.

**Note.**  $p$ , significance value.

**Таблица 2.** Результаты определения активности ванкомицина, полученные методами турбидиметрии и диффузии в агар

**Table 2.** Results of vancomycin activity determination obtained by turbidimetry and agar diffusion methods

Повторности <i>Replicates</i>	Турбидиметрический метод <i>Turbidimetric method</i>			Метод диффузии в агар <i>Agar diffusion method</i>		
	Активность ванкомицина, ЕД/мг <i>Activity of vancomycin, IU/mg</i>	Среднее значение активности, $X$ , ЕД/мг <i>Mean activity value, IU/mg (mean RSD, %)</i>	Дисперсия <i>Variance</i> $S^2$	Активность ванкомицина, ЕД/мг <i>Activity of vancomycin, IU/mg</i>	Среднее значение активности, $X_1$ , ЕД/мг <i>Average activity value, IU/mg (mean RSD, %)</i>	Дисперсия <i>Variance,</i> $S^2$
1	1043,2	1047,4 (1,26%)	173,4	1020,1	1009,7 (0,63%)	39,8
2	1029,6			1006,8		
3	1046,6			1003,2		
4	1051,5			1009,0		
5	1065,0			1009,5		

Проверка однородности дисперсий по критерию Фишера / *Homogeneity of variance test using Fisher's test* ( $F$ ),  $P=0,95$   
 $S^2=173,4$ ;  $f=4$   $S_1^2=39,8$ ;  $f=4$   $F-S^2/S_1^2=4,34 < F_{\text{табл/ref}}$  (9,12)

Дисперсии статистически однородны / *The variances are statistically homogenous*

Проверка достоверности средних значений по t-критерию Стьюдента / *Significance test of mean values using Student's t-test*,  $P=0,95$   
 $0,55 < t_{\text{табл/ref}}$  (2,31)

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.** RSD – относительное стандартное отклонение,  $P$  – уровень достоверности,  $X$  – среднее значение,  $n$  – объем выборки,  $s$  – стандартное отклонение. Отсутствие индекса – данные, полученные по методу турбидиметрии, индекс 1 – данные, полученные методом диффузии в агар.

**Note.** RSD, relative standard deviation;  $P$ , significance value;  $X$ , mean value;  $n$ , sample size;  $s$ , standard deviation. Index not available, data obtained using turbidimetric method; index 1, data obtained using agar diffusion method.

при внесении инокулята в питательную среду. Незначительные отклонения могут существенным образом повлиять на конечные результаты экспе-

римента. Минимизация отклонений может быть достигнута путем разработки стандартных операционных процедур и контроля их выполнения.

**Таблица 3.** Статистический анализ данных, полученных при анализе активности ванкомицина методами турбидиметрии и диффузии в агар

**Table 3.** Statistical analysis of data obtained during the analysis of vancomycin activity by agar diffusion and turbidimetric methods

Методика Method	$\mu$	f	$X_{cp/mean}$	s	P, %	$t_{табл/ref}$	$\Delta X_{cp/mean}$	$\epsilon_{cp/mean}$	$t_{выч/est}$	$F_{табл/ref}$	$F_{выч/est}$	$\delta$
Турбидиметрия Turbidimetry	$10^3$	4	1047,36	13,17	95	2,78	13,17	1,5	8,99	9,12	4,34	4,7
Метод диффузии в агар Agar diffusion	$10^3$	4	1009,72	6,31	95	2,78	7,85	0,77	3,47	9,12	4,34	0,97

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

**Примечание.**  $\mu$  – истинное значение измеряемой величины, f – число степеней свободы,  $X_{cp}$  – среднее значение выборки, s – стандартное отклонение, P – вероятность,  $t_{табл}$  – табличное значение критерия Стьюдента,  $\Delta X_{cp}$  – полуширина доверительного интервала среднего значения,  $\epsilon_{cp}$  – относительная неопределенность среднего результата,  $t_{выч}$  – вычисленное значение критерия Стьюдента,  $F_{табл}$  – табличное значение критерия Фишера,  $F_{выч}$  – расчетное значение критерия Фишера,  $\delta$  – относительная величина систематической погрешности.

**Note.**  $\mu$ , actual measured value; f, number of degrees of freedom;  $X_{mean}$ , sample mean; s, standard deviation; P, probability;  $t_{ref}$ , reference value of the Student's t-test;  $\Delta X_{mean}$ , half-width of the confidence interval of the mean value;  $\epsilon_{mean}$ , relative uncertainty of the mean value;  $t_{est}$ , estimated value of the Student's t-test;  $F_{ref}$ , reference value of the Fisher's test;  $F_{est}$ , estimated value of the Fisher's test;  $\delta$ , relative error.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Турбидиметрический метод может рассматриваться в качестве альтернативного метода определения активности ванкомицина. Однако для минимизации влияния человеческого

фактора и внешних условий испытания необходимо предварительно разработать стандартные операционные процедуры выполнения работ по методике ТМ и контролировать их соблюдение.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Levin DP. Vancomycin: A history. *Clin Infect Dis.* 2006;42 Suppl. 1:S5–12. <https://doi.org/10.1086/491709>
- Diaz JA, Silva E, Arias MJ, Garzon M. Comparative *in vitro* study of the antimicrobial activities of different commercial antibiotic products of vancomycin. *BMC Clin Pharmacol.* 2011;11:9. <https://doi.org/10.1186/1472-6904-11-9>
- Семенова ЕН, Кулешова СИ, Саканян ЕИ. Разработка турбидиметрической методики количественного определения антибиотиков группы аминогликозидов в лекарственных препаратах для медицинского применения. *Антибиотики и химиотерапия.* 2020;65(7–8):37–41. Semenova EN, Kuleshova SI, Sakanyan EI. The development of a turbidimetric method for the quantitative determination of antibiotics of the aminoglycoside group in medications. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2020;65(7–8):37–41 (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-37-41>
- Vieira DCM, Fiuza TFM, Nunes Salgado HR. Development and validation of a rapid turbidimetric assay to determine the potency of cefuroxime sodium in powder for injection. *Pathogens.* 2014;3(3):656–66. <https://doi.org/10.3390/pathogens3030656>
- Tótolí EG, Nunes Salgado HR. Rapid turbidimetric assay to determine the potency of daptomycin in lyophilized powder. *Pharmaceutics.* 2015;7(3):106–21. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics7030106>
- Chiarentin L, Nunes Salgado HR. Development and validation of a rapid turbidimetric assay to determine the potency of norfloxacin in tablets. *Braz J Pharm Sci.* 2015;51(3):629–35. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000300014>
- Motta Correa CB, Kogawa AC, Chorilli M, Nunes Salgado HR. Miniaturized microbiological method to determine the potency of rifaximin in tablets. *JAOAC Int.* 2021;104(4):1049–54. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsab017>
- Aleixa do Nascimento P, Kogawa AC, Nunes Salgado HR. Turbidimetric method: A new, ecological, and fast way to evaluate of vancomycin potency. *JAOAC Int.* 2020;103(6):1582–7. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa068>
- Шахова ДА, Каночкина МС. Перспективы и особенности применения метода турбидиметрического анализа для определения антимикробной активности пептидов и антибиотиков гликопептидного ряда (систематический обзор предметного поля). *Health, Food & Biotechnology.* 2024;6(4):73–94. Shakhova DA, Kanochkina MS. Prospects and features of the turbidimetric analysis method for determining the antimicrobial activity of peptides and antibiotics of the glycopeptide series (systematic scoping review). *Health, Food & Biotechnology.* 2024;6(4):73–94 (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i4.s242>
- Саканян ЕИ, Семенова ЕН, Кулешова СИ и др. Разработка и оценка качества новой питательной среды для количественного определения антибиотиков турбидиметрическим методом. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств.* 2018;(2):21–6. Sakanyan EI, Semenova EN, Kuleshova SI, et al. Development and quality evaluation of the new culture medium for assay of antibiotics by the turbidimetric method. *Journal of Pharmaceutical Quality Assurance.* 2018;(2):21–6 (In Russ.). EDN: XRODGX

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: С.И. Кулешова – концепция, анализ данных, написание текста рукописи, подбор литературы; Г.Ю. Романюк – выполнение испытаний, анализ данных; Д.А. Шахова – выполнение испытаний, работа с питательной средой, анализ данных; С.А. Лисунова – работа с тест-микроорганизмами, выполнение испытаний; С.А. Процак – анализ данных, сбор литературы.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Svetlana I. Kuleshova* conceptualized the study, analyzed the data, drafted the manuscript and selected the references. *Galina Yu. Romanyuk* performed the tests and analyzed the data. *Daria A. Shakhova* performed the tests, processed culture medium and analyzed the data. *Svetlana A. Lisunova* worked with test microorganisms and performed the tests. *Svetlana A. Protsak* analyzed the data and collected the references.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кулешова Светлана Ивановна, канд. биол. наук / **Svetlana I. Kuleshova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9103-9239>

Романюк Галина Юрьевна / **Galina Yu. Romanyuk**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8336-6125>

Шахова Дарья Алексеевна / **Daria A. Shakhova**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-4940-3760>

Лисунова Светлана Анатольевна / **Svetlana A. Lisunova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7164-7598>

Процак Светлана Александровна / **Svetlana A. Protsak**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2153-4223>

Поступила 24.10.2025

После доработки 13.02.2026





Принята к публикации 21.04.2026

Received October 24, 2025

Revised February 13, 2026

Accepted April 21, 2026



С.Д. Рюмин<sup>1</sup>    
Р.Ш. Хазиев<sup>1</sup>   
А.В. Немтарев<sup>2</sup> 

## Спектрофотометрическое определение карвона в плодах и эфирном масле тмина обыкновенного: разработка и валидация методики

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Бутлерова, д. 49, г. Казань, 420012, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, д. 18, корп. 1, г. Казань, 420008, Российская Федерация

✉ Рюмин Сергей Денисович; [ryumin-2000@list.ru](mailto:ryumin-2000@list.ru),  
[sergey.ryumin@kazanmu.ru](mailto:sergey.ryumin@kazanmu.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Плоды тмина обыкновенного применяются для лечения синдрома раздраженного кишечника и диспептических расстройств благодаря их выраженному спазмолитическому, противомикробному и ветрогонному действию. Спазмолитическая активность плодов тмина обусловлена преимущественно содержанием эфирного масла, преобладающим компонентом которого является карвон. Европейской фармакопеей 11 изд. регламентируется содержание карвона в эфирном масле, тогда как в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. стандартизация плодов тмина по содержанию карвона не предусмотрена.

**ЦЕЛЬ.** Разработка и валидация спектрофотометрической методики определения карвона в эфирном масле плодов тмина обыкновенного; проверка результатов спектрофотометрического определения методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В работе использовали плоды тмина обыкновенного (*Carum carvi* L.) производства ООО «Фирма Здоровье» серия 031224, срок годности до 11.2027, стандартный образец карвона с содержанием основного вещества 98,5% (Fluka), спектрофотометр UNICO 2802 (United Products & Instruments, Inc.), весы аналитические АДВ-200М (ГОСМЕТР), газовый хроматограф GC-MS QP2010 Ultra (Shimadzu), совмещенный с масс-селективным детектором. При спектрофотометрическом определении навески эфирного масла и стандартного образца карвона растворяли в 95% спирте и снимали оптические плотности растворов при длине волны 236 нм в кюветках с толщиной слоя 10 мм. Результаты спектрофотометрической методики подтверждали с помощью газовой хроматографии.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Валидация спектрофотометрической методики количественного определения карвона, проведенная в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопее Российской Федерации XV изд., показала ее специфичность, линейность, прецизионность и правильность. Результаты не отягощены систематической погрешностью. Относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 2,0%. Результаты спектрофотометрического определения карвона ( $75,7 \pm 0,9\%$ ) коррелируют с результатами анализа методом газожидкостной хроматографии ( $75,2 \pm 0,8\%$ ).

**ВЫВОДЫ.** Разработанная методика количественного определения карвона может быть использована для стандартизации как самих плодов тмина обыкновенного




венного путем введения дополнительного критерия оценки качества его эфирного масла в раздел «Количественное определение», так и эфирного масла тмина обыкновенного, используемого в качестве субстанции для изготовления лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** карвон; тмин обыкновенный; *Carum carvi*; лимонен; эфирное масло; валидация методики; количественное определение; спектрофотометрия; газожидкостная хроматография

**Для цитирования:** Рюмин С.Д., Хазиев Р.Ш., Немтарев А.В. Спектрофотометрическое определение карвона в плодах и эфирном масле тмина обыкновенного: разработка и валидация методики. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):198–205. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-198-205>

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Sergey D. Ryumin<sup>1</sup> ✉   
Ramil' Sh. Khaziev<sup>1</sup>   
Andrey V. Nemtarev<sup>2</sup> 

## Spectrophotometric Determination of Carvone in Caraway Fruits and Essential Oil: Development and Validation of an Analytical Procedure

<sup>1</sup> Kazan State Medical University,  
49 Butlerov St., Kazan 420012, Russian Federation

<sup>2</sup> Kazan (Volga Region) Federal University,  
18/1 Kremlevskaya St., Kazan 420008, Russian Federation

✉ **Sergey D. Ryumin;** [ryumin-2000@list.ru](mailto:ryumin-2000@list.ru), [sergey.ryumin@kazangmu.ru](mailto:sergey.ryumin@kazangmu.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Caraway fruits are used in the treatment of irritable bowel syndrome and dyspeptic disorders due to their pronounced antispasmodic, antimicrobial, and carminative effects. The antispasmodic activity of caraway seeds is primarily due to their essential oil content, with carvone being the predominant component. The European Pharmacopoeia 11th edition regulates the carvone content in essential oils, while the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition does not standardize caraway fruits based on their carvone content.

**AIM.** To develop and validate a spectrophotometric method for the quantification of carvone in the essential oil of caraway fruits and to verify the results of the spectrophotometric determination using gas chromatography – mass spectrometry.

**MATERIALS AND METHODS.** The study utilized caraway fruits (*Carum carvi* L.) manufactured by Firma Zdorovie LLC (batch 031224; expiry November, 2027), a carvone reference standard with a purity of 98.5% (Fluka), a UNICO 2802 spectrophotometer (United Products & Instruments, Inc.), ADV-200M analytical balance (GOSMETR), and a GC-MS QP2010 Ultra gas chromatograph (Shimadzu) coupled with a mass-selective detector. For spectrophotometric analysis, aliquots of the essential oil and the carvone reference standard were dissolved in ethanol, 95% (v/v). The absorbance of the solutions was measured at a wavelength of 236 nm in 10 mm path length cells. The results obtained by the spectrophotometric method were confirmed using gas chromatography.

**RESULTS.** Validation of the spectrophotometric method for the quantitative determination of carvone, carried out in accordance with the requirements of OFS.1.1.0012 “Validation of analytical methods” of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XV ed., showed its specificity, linearity, precision, and accuracy. The results are not affected by systematic error. The relative standard deviation (RSD) value does not exceed 2.0%. The results of the spectrophotometric determination of carvone (75.7±0.9%) correlate with the results of the gas-liquid chromatography analysis (75.2±0.8%).

**CONCLUSIONS.** The developed analytical procedure for the quantitative determination of carvone can be employed for the standardization of caraway fruits by introducing an additional quality parameter for their essential oil in the "Assay" section. It is also suitable for the standardization of caraway essential oil when used as a substance for the manufacture of medicinal products.

**Keywords:** carvone; common caraway; *Carum carvi*; limonene; essential oil; method validation; quantitative determination; spectrophotometry; gas chromatography – mass spectrometry

**For citation:** Ryumin S.D., Khaziev R.Sh., Nemtarev A.V. Spectrophotometric determination of carvone in caraway fruits and essential oil: Development and validation of an analytical procedure. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):198–205. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-198-205>

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Тмин обыкновенный (*Carum carvi* L.) – эфиромасличное растение семейства сельдерейные (*Apiaceae*). Плоды тмина обыкновенного широко применяются в медицине для лечения синдрома раздраженного кишечника и диспептических расстройств благодаря их выраженным спазмолитическим, противомикробным и ветрогонным свойствам [1–3]. Спазмолитические свойства главным образом определяет эфирное масло плодов тмина, которое непосредственно влияет на клетки гладкой мускулатуры кишечника, расслабляя и уменьшая частоту их сокращений [4, 5]. Эти свойства обусловлены моноциклическими монотерпенами – карвоном (I) [6] и лимоненом (II) [7], суммарное содержание которых в эфирном масле тмина может превышать 90% [8, 9]. Спазмолитическая активность карвона выше, чем у лимонена [7]. Карвон действует подобно классическим блокаторам кальциевых каналов, вызывая расслабление мышц путем уменьшения поступления кальция внутрь клеток [7, 10].

Содержание карвона в эфирном масле регламентируется Европейской фармакопеей (Ph. Eur.) на уровне 50–65%, а лимонена – 30–45%<sup>1</sup>. При этом в ряде публикаций было показано, что соотношение карвона и лимонена в эфирном масле плодов тмина может варьировать в широком диапазоне [11]. По мере созревания плодов содержание карвона возрастает на ~12%, а лимонена – снижается [11, 12]. Сортная принадлежность также влияет на компонентный состав эфирного масла тмина. Так, сорт Кергон содержит на ~9% больше карвона и на ~9% меньше лимонена, чем сорт Prochan [13]. Также большое влияние на накопление эфирного масла и его компонентный состав имеет географический

фактор. Содержание карвона в эфирном масле плодов тмина, заготовленных в разных странах, варьирует от 32,6 до 95,9%, а лимонена – от 1,5 до 51,3%, при этом только 5 образцов из 20 изученных по этим параметрам соответствовали требованиям Ph. Eur. [14]. Аналогичные результаты были получены и в других работах [14–16]: состав эфирного масла плодов тмина обыкновенного часто не соответствовал требованиям Ph. Eur.

Отметим, что продолжительность хранения плодов тмина не влияла на состав эфирного масла. Однако при хранении самого эфирного масла в ненадлежащих условиях наблюдалось окисление лимонена, а также полимеризация карвона, приводящая к пожелтению эфирного масла. Данные изменения в эфирном масле можно предотвратить путем хранения плодов и эфирного масла тмина в прохладном, защищенном от солнца и кислорода месте [9].

В Ph. Eur. включены как плоды тмина обыкновенного<sup>2</sup>, так и его эфирное масло<sup>3</sup>. Плоды стандартизуют по содержанию эфирного масла (не менее 3%) с детектированием карвона методом тонкослойной хроматографии. Стандартизацию эфирного масла тмина проводят методом газовой хроматографии, количественно определяя его основные компоненты (карвон, лимонен, β-мирцен, *транс*-дигидрокарвон, *транс*-карвеол)<sup>4</sup>.

Идентификация плодов тмина, согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIV изд., проводится путем детектирования карвона и лимонена методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с масс-спектрометрическим детектором,

<sup>1</sup> 01/2021:1080. Caraway fruit. European Pharmacopeia. 11.8 ed. Strasbourg: EDQM; 2015.

<sup>2</sup> Там же.

<sup>3</sup> 01/2008:1817. Caraway oil. European Pharmacopeia. 11.8 ed. Strasbourg: EDQM; 2015.

<sup>4</sup> Там же.

количественную стандартизацию проводят только по содержанию эфирного масла (не менее 2%)<sup>5</sup>. Таким образом, карвон выступает в роли маркерного соединения в качественном анализе плодов и эфирного масла тмина [17, 18]. На сайте Института фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России размещен проект фармакопейной статьи «Тмина обыкновенного плодов масло эфирное», согласно которому определение хроматографического профиля проводится методом ГЖХ с количественным определением основных компонентов эфирного масла, в том числе карвона.

С учетом изложенных обстоятельств представляется актуальным дополнить стандартизацию плодов тмина обыкновенного по содержанию карвона. За счет сопряженной структуры карвон способен поглощать ультрафиолетовый свет в диапазоне длин волн от 230 до 240 нм, максимум поглощения приходится на 236 нм. При этом лимонен, не имеющий в своей структуре сопряженных двойных связей, не поглощает электромагнитное излучение при данных длинах волн [19]. Это дает возможность использовать спектрофотометрический метод для селективного определения карвона в эфирном масле тмина обыкновенного. Определение карвона в плодах тмина обыкновенного методом прямой спектрофотометрии перспективно для включения в фармакопейную статью «Тмина обыкновенного плоды», а также может использоваться как альтернативный метод стандартизации эфирного масла плодов тмина обыкновенного.

Цель работы – разработка и валидация спектрофотометрической методики определения карвона в эфирном масле плодов тмина обыкновенного; проверка результатов спектрофотометрического определения методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объект исследования

Эфирное масло из плодов тмина обыкновенного получали методом гидродистилляции с использованием прибора Гинзберга, навеска сырья – 10,0 г, время перегонки – 2 ч. Плоды тмина обыкновенного (*Carum carvi* L.) (ООО «Фирма Здоровье», серия 031224, срок годности до 11.2027). Стандартный образец карвона с содержанием основного вещества 98,5% (Fluka) использовали для приготовления стандартных растворов и в методе добавок.

### Оборудование

Спектрофотометр UNICO 2802 (United Products & Instruments, Inc.), весы аналитические АДВ-200М (ГОСМЕТР), газовый хроматограф GC-MS QP2010 Ultra (Shimadzu).

### Методики пробоподготовки и анализа

**Методика приготовления раствора эфирного масла:** 0,025 г (точная навеска) эфирного масла плодов тмина обыкновенного помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 95% этиловом спирте и доводили до метки тем же растворителем (раствор А). Переносили 0,25 мл раствора А в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор В).

**Методика приготовления раствора карвона:** 0,02 г (точная навеска) карвона помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 95% этиловом спирте и доводили до метки тем же растворителем (раствор С). Переносили 0,2 мл раствора С в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор D).

**Методика приготовления 7 растворов карвона для оценки линейности:** 0,02 г (точная навеска) карвона помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 95% этиловом спирте и доводили до метки тем же растворителем (раствор С). В 7 мерных колб вместимостью 25 мл вносили аликвоты по 0,16, 0,18, 0,20, 0,22, 0,24, 0,26 и 0,28 мл раствора С и доводили объемы растворов до метки тем же растворителем (раствор D).

**Оптическую плотность растворов В и D** измеряли при длине волны 236 нм в кюветках с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 96% этиловый спирт.

**Содержание карвона в эфирном масле (мг/г)** рассчитывали по формуле (1). Открываемость (%) рассчитывали из отношения «найденно : введено» по формуле (2).

$$m_{\text{нд}} = \frac{A_x \times a_{\text{ст}} \times b_x \times P \times 1000}{A_{\text{ст}} \times a_x \times b_{\text{ст}} \times 100}, \quad (1)$$

$$R = \frac{m_{\text{нд}} \times 100}{m_{\text{вв}}}, \quad (2)$$

где  $A_x$  и  $A_{\text{ст}}$  – оптическая плотность исследуемого и стандартного растворов соответственно;  $a_{\text{ст}}$  – навеска карвона для приготовления стандартного раствора, г;  $a_x$  – навеска эфирного

<sup>5</sup> ФС.2.5.0098.18 Тмина обыкновенного плоды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

масла для приготовления раствора,  $g$ ;  $b_x$  – разведение эфирного масла;  $b_{ст}$  – разведение карвона, где  $b = \frac{V_{\text{колбы}}}{V_{\text{пипетки}}}$ ,  $R$  – чистота карвона, где

$m_{\text{вв}}$  – содержание карвона в эфирном масле плодов тмина обыкновенного, мкг.

**Методика приготовления растворов карвона для построения калибровочной зависимости с использованием метода газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС):** 0,25 г (точная навеска) карвона помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в хлороформе и доводили до метки тем же растворителем (раствор Е). В 7 мерных колб вместимостью 5 мл вносили аликвоты по 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 1,75 и 2,00 мл раствора Е, 0,50 мл стандартного раствора нонана в хлороформе ( $C=15$  мг/мл) и доводили объемы растворов до метки тем же растворителем (раствор F).

**Методика приготовления образцов масла тмина для метода ГХ-МС:** в мерные колбы объемом 5 мл вносили по 0,0175 г (точная навеска) масла тмина, 0,5 мл стандартного раствора нонана в хлороформе ( $C=15$  мг/мл) и доводили до метки хлороформом (раствор G).

**ГХ-МС** проводили с помощью газового хроматографа GC-MS QP2010 Ultra (Shimadzu), совмещенного с масс-селективным (МС) детектором, при следующих условиях: капиллярная колонка BP-1 (длина 60 м, диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,5 мкм) с запрограммированной температурой термостата от 70 °С в течение 2 мин, затем повышена до 200 °С со скоростью 10 °С/мин, выдерживалась при конечной температуре 15 мин. Общее время работы – 30 мин; давление – 355,7 кПа; температура инжектора – 200 °С; режим введения – 0,2 с делением потока 1:50; объем образца – 1 мкл; температура детектора – 220 °С; газ-носитель – гелий. Условия МС детектирования: температура ионного источника – 210 °С; ионизация электронами – 70 эВ; режим сбора данных – сканирование ( $m/z$  45–500). Пики на хроматограммах идентифицировали с использованием программы GC-MS Solution real time analysis, а также путем сравнения экспериментальных значений индексов Ковача с указанными в литературе [20–24]. Индексы Ковача рассчитывали относительно времени удерживания стандартной серии алканов C8–C17 в экспериментальных условиях хроматографического разделения компонентов эфирного масла тмина.

**Калибровочную зависимость для определения количественного содержания карвона в эфирном масле тмина обыкновенного методом ГХ-МС** строили в координатах отношения интегральной интенсивности сигнала (площади под сигналом) карвона к интегральной интенсивности сигнала нонана от концентрации карвона:  $(A_{\text{карвон}}/A_{\text{нонан}})=f(C_{\text{нонан}})$ . В выбранном диапазоне концентраций карвона (1–4 мг/мл) калибровочная зависимость носила линейный характер ( $R^2=0,998$ ).

**Статистическую обработку** результатов эксперимента проводили в соответствии с ГФ РФ<sup>6</sup>, используя программу Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Валидационную оценку методики количественного определения содержания карвона в эфирном масле тмина проводили по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, прецизионность и правильность в соответствии с требованиями ГФ РФ<sup>7</sup>.

Специфичность методики определяли, регистрируя спектры поглощения электромагнитного излучения спиртовых растворов карвона в концентрации 6,4 мкг/мл и спиртового раствора эфирного масла, полученного из плодов тмина обыкновенного с содержанием карвона 7,6 мкг/мл (рис. 1). Максимум поглощения карвона и эфирного масла наблюдается при длине волны 236 нм. Таким образом, предлагаемая методика количественного определения карвона в эфирном масле плодов тмина обыкновенного валидна по показателю «специфичность».

Линейность и аналитическую область методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате количественного определения 7 модельных проб (растворы D) на 7 уровнях концентрации в диапазоне 70–130% от количества карвона, принятого за 100% (7,24 мкг в 1 мл раствора). Определение проводили в трех повторностях. Зависимость «оптическая плотность : концентрация карвона, мкг/мл» имеет линейный характер и описывается уравнением:  $y=a_x+b$ , где  $a=0,0607$ ,  $b=0,0058$ . Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции  $r$  составляет 0,9995, что отвечает условию  $r \geq 0,99$  и позволяет сделать заключение о валидности по показателям линейность и аналитическая область методики в диапазоне концентраций карвона от 5,26 до 9,21 мкг/мл.

<sup>6</sup> ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>7</sup> ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

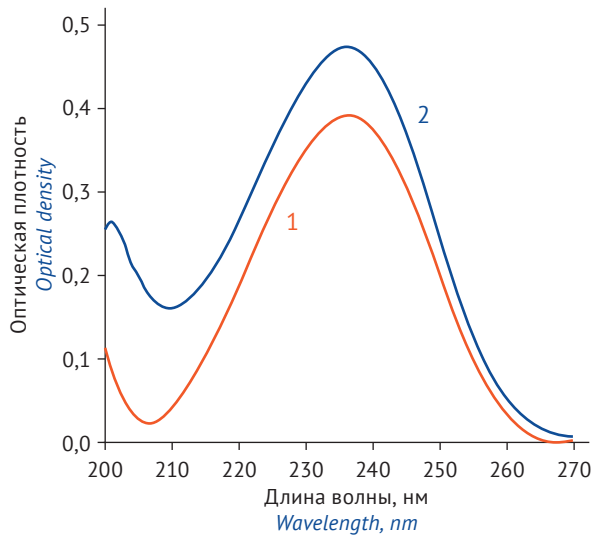


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 1.** УФ-спектры спиртовых растворов карвона (1) и эфирного масла из плодов тмина обыкновенного (2)

**Fig. 1.** UV spectra of alcohol solutions of carvone (1), essential oil from the fruits of caraway (2)

Прецизионность предложенной методики оценивали по повторяемости (сходимости) на 9 пробах на трех уровнях концентраций, входящих в диапазон построенной линейности. Однородность выборки проверяли с помощью Q-критерия<sup>8</sup>. Содержание карвона в образцах находилось на уровне  $757,4 \pm 8,5\%$ . Рассчитанные

значения  $Q_i$  меньше табличного  $Q_{\text{табл}} = 0,46$  ( $n=9$ ,  $P=95\%$ ), стандартное относительное отклонение составило 1,5%, относительная ошибка среднего – 1,1%, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Правильность предложенной методики проверяли методом добавок. Для этого к аликвоте раствора эфирного масла с содержанием карвона 4,84 мкг/мл, принятого за 100%, добавляли точно известное количество карвона в количестве 25, 50 и 75% от найденного значения карвона в эфирном масле тмина обыкновенного. Определение проводили в трех повторностях для каждой концентрации. Рассчитанные и найденные значения карвона в эфирном масле с добавками карвона близки, открываемость составила  $99,82 \pm 0,38\%$ , стандартное относительное отклонение – 0,5%, относительная ошибка среднего – 0,4%, что позволяет считать предлагаемую методику валидной по показателю «правильность».

В ходе ГЖХ-анализа в образцах эфирного масла плодов тмина обыкновенного было обнаружено 5 компонентов (табл. 1, рис. 2). Основными компонентами эфирного масла являются карвон ( $75,2 \pm 0,8\%$ ) и лимонен (около  $23,6 \pm 0,8\%$ ). Результаты спектрофотометрического определения карвона ( $75,7 \pm 0,9\%$ ) коррелируют с результатами ГЖХ-анализа.

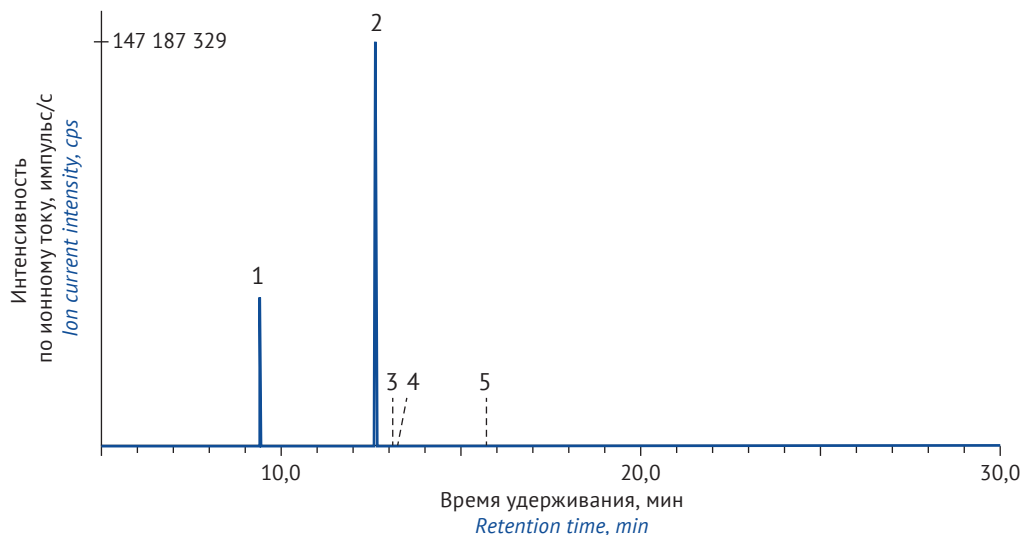


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 2.** Хроматограмма эфирного масла тмина (метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием). 1 – лимонен; 2 – карвон; 3 – перилловый альдегид; 4 – анетол; 5 – кариофиллен

**Fig. 2.** Chromatogram of caraway essential oil obtained using gas chromatography method with mass spectrometric detection. 1, limonene; 2, carvone; 3, perillaldehyde; 4, anetole; 5, caryophyllene

<sup>8</sup> ОФС.1.1.0013 Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

**Таблица 1.** Компонентный состав эфирного масла тмина по данным газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС)

**Table 1.** Composition of caraway essential oil identified by gas chromatography with mass spectrometric detection (GH-MS)

Номер пика <i>Peak number</i>	Время удерживания, мин <i>Retention time, min</i>	Название соединения <i>Name</i>	Индекс Ковача <i>Kovacs index</i>		C, масс%* <i>C, mass%*</i>	C, масс%** <i>C, mass%**</i>
1	9,403	Лимонен <i>Limonene</i>	1030	[20]	23,6±0,8	–
			1030	Эксперимент <i>Experiment</i>		
2	12,635	Карвон <i>Carvone</i>	1230	[21]	75,5±0,9	75,2±0,8
			1230	Эксперимент <i>Experiment</i>		
3	13,115	Перилловый альдегид <i>Perillaldehyde</i>	1262	Эксперимент <i>Experiment</i>	0,27±0,04	–
			1263	[22]		
4	13,246	Анетол <i>Anetole</i>	1271	Эксперимент <i>Experiment</i>	0,52±0,06	–
			1270	[23]		
5	15,685	Кариофиллен <i>Caryophyllene</i>	1442	[24]	0,15±0,02	–
			1442	Эксперимент <i>Experiment</i>		

Таблица составлена авторами по собственным данным и данным литературы / The table was prepared by the authors using their own data and literature data

**Примечание.** C, масс%\* – значения массовых концентраций рассчитаны по данным ГХ-МС по полному ионному току (метод внутренней нормализации); C, масс%\*\* – значения массовых концентраций определены по данным ГХ-МС по калибровочной зависимости для стандартных образцов (метод абсолютной калибровки).

«–» – отсутствие значений.

**Note.** C, mass%\*, mass concentration values calculated according to the GC-MS data (internal normalization method); C, mass%\*\*, mass concentration values determined according to the GC-MS data (absolute calibration method).

"–", missing values.

## ВЫВОДЫ

1. Разработана спектрофотометрическая методика определения карвона в эфирном масле плодов тмина обыкновенного.
2. Проведена валидационная оценка методики спектрофотометрического определения карвона в эфирном масле плодов тмина обыкновенного. Систематическая ошибка отсутствует, предложенная методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, прецизионность и правильность.

3. Результаты спектрофотометрического определения карвона (75,7±0,9%) коррелируют с результатами ГЖХ-анализа (75,2±0,8%).
4. Определение карвона в плодах тмина обыкновенного методом прямой спектрофотометрии в дальнейшем можно включить в фармакопейную статью «Тмина обыкновенного плоды», а также использовать как альтернативный метод стандартизации эфирного масла плодов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Madisch A, Frieling T, Zimmermann A, et al. Menthacarin, a proprietary peppermint oil and caraway oil combination, improves multiple complaints in patients with functional gastrointestinal disorders: A systematic review and meta-analysis. *Dig Dis.* 2023;41(3):522–32. <https://doi.org/10.1159/000528553>
2. Vranova V. Comprehensive therapy of upper functional dyspepsia: The potential of herbal medicines. *Ceska Slov Farm.* 2024;73(2):105–9. <https://doi.org/10.36290/csf.2024.012>
3. Al-Essa MK, Shafagoj YA, Mohammed FI, Afifi FU. Relaxant effect of ethanol extract of *Carum carvi* on dispersed intestinal smooth muscle cells of the guinea pig. *Pharm Biol.* 2010;48(1):76–80. <https://doi.org/10.3109/13880200903046161>
4. Krueger D, Schäuuffele S, Zeller F, et al. Peppermint and caraway oils have muscle inhibitory and pro-secretory activity in the human intestine *in vitro*. *Neurogastroenterol Motil.* 2020;32(2):e13748. <https://doi.org/10.1111/nmo.13748>
5. Micklefield GH, Greving I, May B. Effects of peppermint oil and caraway oil on gastroduodenal motility. *Phytother Res.* 2000;14(1):20–3. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1573\(200002\)14:1<20::aid-ptr542>3.0.co;2-z](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1573(200002)14:1<20::aid-ptr542>3.0.co;2-z)
6. Silva CMS, Wanderley CWS, Lima-Junior FJB, et al. Carvone (R)-(-) and (S)-(+)-enantiomers inhibits upper gastrointes-

- tinal motility in mice. *Flavour Fragr J.* 2015;30(6):439–44. <https://doi.org/10.1002/ffj.3267>
7. De Sousa DP, Mesquita RF, de Araújo Ribeiro LA, de Lima JT. Spasmolytic activity of carvone and limonene enantiomers. *Nat Prod Commun.* 2015;10(11):1893–6. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501001120>
  8. Mahboubi M. Caraway as important medicinal plants in management of diseases. *Nat Prod Bioprospect.* 2019;9(1):1–11. <https://doi.org/10.1007/s13659-018-0190-x>
  9. Bitterling H, Lorenz P, Vetter W, et al. Storage-related changes of terpene constituents in caraway (*Carum carvi* L.) under real-time storage conditions. *Ind Crops Prod.* 2021;170:113782. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113782>
  10. Pina LTS, Serafini MR, Oliveira MA, et al. Carvone and its pharmacological activities: A systematic review. *Phytochemistry.* 2022;196:113080. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.113080>
  11. Bouwmeester HJ, Davies JAR, Smid HG, Welten RSA. Physiological limitations to carvone yield in caraway (*Carum carvi* L.). *Ind Crops Prod.* 1995;4(1):39–51. [https://doi.org/10.1016/0926-6690\(95\)00009-2](https://doi.org/10.1016/0926-6690(95)00009-2)
  12. Fojtová J, Kocourková B, Lojková L, Kubáň V. The essential oil content in caraway species (*Carum carvi* L.). *Hort Sci (Prague).* 2003;30(2):73–9. <https://doi.org/10.17221/3818-HORTSCI>
  13. Raal A, Arak E, Orav A. The content and composition of the essential oil found in *Carum carvi* L. commercial fruits obtained from different countries. *J Essent Oil Res.* 2012;24(1):53–9. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.646016>
  14. Вагабова ФА, Мусаев АМ, Алиев АМ, Раджабов ГК. Дагестанские природные образцы тмина обыкновенного (*Carum carvi* L.) как источники терпеноидов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2019;22(12):44–50. Vagabova FA, Musaev AM, Aliev AM, Radjabov GK. Dagestan natural samples of common caraway (*Carum carvi* L.) as sources of terpenoids. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2019;22(12):44–50 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-12-07>
  15. Acimovic M, Oljaca S, Tešević V, et al. Evaluation of caraway essential oil from different production areas of Serbia. *Hort Sci (Prague).* 2014;41(3):122–30. <https://doi.org/10.17221/248/2013-HORTSCI>
  16. Bosko R, Vagnerova I, Pluhackova H, et al. The variability of Caraway (*Carum carvi* L.) essential oils. *MendelNet.* 2016;23:30–4.
  17. Самылина ИА, Баева ЕА, Кузнецов РМ. Совершенствование требований к качеству плодов тмина. *Фармация.* 2017;66(5):37–40. Samylina IA, Baeva EA, Kuznetsov RM. Improving the quality requirements of cumint fruits. *Pharmasy.* 2017;66(5):37–40 (In Russ.). EDN: [ZBNEJR](https://doi.org/10.1002/ffj.3267)
  18. Самылина ИА, Баева ВМ, Кузнецов РМ. Совершенствование требований к качеству лекарственного растительного сырья плоды тмина, фенхеля и аниса обыкновенного. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2017;(3):134–43. Samylina IA, Baeva VM, Kuznetsov RM. Improvement of quality requirements for crude herbal drugs of Fructus carvi, Fructus foeniculi and Fructus anisi vulgaris. *Drug Development & Registration.* 2017;(3):134–43 (In Russ.). EDN: [ZRODRB](https://doi.org/10.1002/ffj.3267)
  19. Berger S, Sicker D. *Classics in spectroscopy: Isolation and structure elucidation of natural products.* Weinheim: Wiley-VCH; 2009. <https://doi.org/10.1002/anie.200904430>
  20. Hoskovec M, Grygarová D, Cvaeka J, et al. Determining the vapour pressures of plant volatiles from gas chromatographic retention data. *J Chromatogr A.* 2005;1083(1–2):161–72. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.06.006>
  21. Engewald W, Knobloch T, Haufe G, et al. A novel method for terpene pattern determination of essential oils by selectivity tuning in GC. *Fresenius J Anal Chem.* 1991;341(10):641–3. <https://doi.org/10.1007/BF00322279>
  22. Hnawia E, Cabalion P, Raunicher I, et al. The leaf essential oil of *Murraya crenulata* (Turcz.) Oliver from New Caledonia. *Flavour Fragr J.* 2007;22(1):32–4. <https://doi.org/10.1002/ffj.1745>
  23. Stashenko EE, Martinez CR, Martinez JR, Shibamoto T. Catalytic transformation of anise (*Pimpinella anisum* L.) oil over zeolite Y. *J Hi Res Chromatogr.* 1995;18(8):501–3. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240180810>
  24. Shibamoto T, Kamiya Y, Mihara S. Isolation and identification of volatile compounds in cooked meat: Sukiyaki. *J Agric Food Chem.* 1981;29(1):57–63. <https://doi.org/10.1021/jf00103a015>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: С.Д. Рюмин – проведение эксперимента, анализ и интерпретация результатов, анализ литературы, написание текста рукописи; Р.Ш. Хазиев – идея и концепция исследования, интерпретация результатов; А.В. Немтарев – проведение эксперимента (газохроматографический анализ), анализ и интерпретация результатов.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Sergey D. Ryumin* conducted the experiment, analyzed and interpreted the data, analyzed the literature, drafted the manuscript. *Ramil' Sh. Khaziev* conceived the idea, conceptualized the study, interpreted the results. *Andrey V. Nemtarev* conducted an experiment (gas chromatographic analysis), analyzed and interpretation the data.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Рюмин Сергей Денисович / Sergey D. Ryumin**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6226-291X>

**Хазиев Рамиль Шамилович**, канд. биол. наук, доцент / **Ramil' Sh. Khaziev**, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-7200-6929>

**Немтарев Андрей Владимирович**, канд. хим. наук, доцент / **Andrey V. Nemtarev**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8478-2705>

Поступила 02.02.2026

После доработки 05.03.2026




Принята к публикации 21.04.2026

Received February 2, 2026

Revised March 5, 2026

Accepted April 21, 2026



М.А. Александров    
О.Ю. Стрелова 

## Определение гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье: разработка селективной хроматографической методики

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный  
химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
ул. Проф. Попова, д. 14, Санкт-Петербург, 197022, Российская Федерация*

✉ Александров Марк Антонович; [mark.aleksandrov@spcpcu.ru](mailto:mark.aleksandrov@spcpcu.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Содержание пестицидов в лекарственном растительном сырье по российскому законодательству регламентируется ОФС.1.5.3.0011 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» Государственной фармакопеи Российской Федерации XV изд. (ГФ РФ). Остаточные количества пестицидов – один из показателей безопасности лекарственного растительного сырья. В ГФ РФ даны нормы по содержанию 65 подобных соединений, однако рынок ядохимикатов активно расширяется (рост составляет не менее 10% в год), и не все используемые соединения подлежат контролю при установлении качества продукции. Особый интерес представляют ядохимикаты, которые интенсивно применяются в сельском хозяйстве для уничтожения сорной растительности, – гербициды, содержащие, в частности, производное хлорбензойной кислоты дикамбу (3,6-дихлор-2-метоксибензойную кислоту). Дикамба используется в составе препаратов для борьбы с сорной растительностью «Линтур» и «Диален Супер».

**ЦЕЛЬ.** Разработка селективной методики определения гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье эхинацеи пурпурной для последующего введения в фармакопейные нормы.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Стандартный образец дикамбы (Kit-54, pesticide 4-4600, PolyScience Corporation), растительный объект – эхинацея пурпурная сорта «Ливадия», выращенная из семян (срок годности до 06.2028, ООО «Аэлита»), гербицидная смесь – «Линтур», содержащая дикамбу – 659 г/кг, триасульфурона – 41 г/кг (ООО «Зеленая Аптека Садовода»). Исследования методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) проводили на модульном жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity, детектор – тандемный масс-спектрометр Agilent Technologies 6420 Triple Quad LS/MS, исследования методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС) проводили на газовом хроматографе, детектор – моноквадрольный масс-спектрометр QP-2020 (Shimadzu). Хроматограммы и масс-спектры, полученные в ВЭЖХ-МС/МС исследованиях, анализировали в базах данных Agilent MassHunter Quantitative Analysis B.06.00, хроматограммы ГХ-МС исследования анализировали в программе Agilent G1710 MSD Data Analysis ChemStation. Масс-спектры, полученные методом ГХ-МС, анализировали по библиотекам NIST MS Search Program 17.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Разработана методика количественного определения гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье методом ВЭЖХ-МС/МС, проведена оценка валидационных параметров (пригодность хроматографической системы, специфичность, линейность, правильность, прецизионность), изучена возможность применения метода ГХ-МС без/с дериватизацией силилированием. Рассчитано предельно допустимое значение содержания гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье, сделан вывод о несоответствии сырья

эхинацеи пурпурной, выращенной с применением данного гербицида, фармакопейным требованиям.

**Выводы.** Показана пригодность методики ВЭЖХ-МС/МС и непригодность метода ГХ-МС для количественного определения дикамбы в лекарственном растительном сырье. Разработанная методика может быть предложена в качестве основной для определения дикамбы в лекарственном растительном сырье «трава» для включения в фармакопейные требования.

**Ключевые слова:** гербициды; дикамба; производные хлорбензойной кислоты; примеси; лекарственное растительное сырье; высокоэффективная жидкостная хроматография; масс-спектрометрия; ВЭЖХ-МС/МС; газовая хроматография; ГХ-МС; хроматографические методы; эхинацея пурпурная; контроль качества; фармакопея

**Для цитирования:** Александров М.А., Стрелова О.Ю. Определение гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье: разработка селективной хроматографической методики. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):206–214. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-206-214>

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Mark A. Aleksandrov    
Olga Yu. Strelova  

## Quantitation of Dicamba Herbicide in Pharmaceutical Raw Materials: Developing a Selective Chromatographic Method

*Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,  
14 Prof. Popov St., St. Petersburg 197022, Russian Federation*

✉ **Mark A. Aleksandrov;** [mark.aleksandrov@spcpu.ru](mailto:mark.aleksandrov@spcpu.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** The content of pesticides in pharmaceutical raw materials is regulated by the Russian legislation, namely General pharmacopoeial monograph, OFS.1.5.3.0011 Determination of Residual Pesticides in Pharmaceutical Raw Materials and Medicinal Plant Preparations of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XV edition (SP RF). Residual pesticides are one of safety parameters for medicinal plant raw materials. SP RF stipulates the content of 65 compounds; however, the pesticide market is actively expanding (at least 10% per year), while not all compounds used are subject to quality control. Pesticides widely used in agriculture to control weeds, such as dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid), a derivative of chlorobenzoic acid, are of particular interest. Dicamba is used to produce Lintur and Dialen Super, formulations for weed eradication.

**AIM.** This study aimed to develop a selective identification method for dicamba herbicide in the pharmaceutical raw materials of *Echinacea purpurea* for its subsequent introduction into pharmacopoeial standards.

**MATERIALS AND METHODS.** The study used a reference standard of dicamba (Kit-54, pesticide 4-4600, Polycience Corporation); the pharmaceutical raw material *Echinacea purpurea*, Livadia strain, cultivated from the seeds (seed manufacturer Aelita, Russia, best before 06/2028); and herbicide mixture Lintur, active substance dicamba 659 g/kg and triasulfuron 41 g/kg, (Gardener's Green Pharmacy Co. Ltd.). High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was performed on Agilent Technologies 1260 Infinity modular liquid chromatograph with Agilent Technologies 6420 Triple Quad LS/MS tandem mass spectrometer; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was performed on a gas chromatograph connected to QP-2020 monoquadrupole mass spectrometer (Shimadzu). Chromatograms and mass spectra obtained using HPLC-MS/MS were analyzed in Agilent MassHunter Quantitative Analysis B.06.00 databases, GC-MS chromatograms – in Agilent G1710 MSD Data Analysis ChemStation. NIST MS Search Program 17 Mass Spectral Library was used to analyze mass spectra obtained by GC-MS.

**RESULTS.** We developed an assay method of dicamba herbicide in pharmaceutical raw materials using HPLC-MS/MS and evaluated the validation parameters (chromatographic system suitability, specificity, linearity, accuracy, and precision). The possibility of using GC-MS method with/without silylation was examined. The maximum permissible value of dicamba herbicide in pharmaceutical raw materials was calculated, and it was concluded that *Echinacea purpurea* raw materials cultivated using this herbicide do not meet the compendial requirements.

**CONCLUSIONS.** The findings demonstrate suitability of the HPLC-MS/MS method and the inadequacy of the GC-MS method, both with and without derivatization, for dicamba quantitation in the pharmaceutical raw materials. The developed procedure can be offered as the main method used to quantify dicamba in the pharmaceutical raw materials to be included in the compendial requirements.

**Keywords:** herbicides; dicamba; chlorobenzoic acid derivatives; pharmaceutical raw materials; high-performance liquid chromatography; mass spectrometry; HPLC-MS/MS; gas chromatography-mass spectrometry; GC-MS; chromatographic methods; *Echinacea purpurea*; quality control; pharmacopoeia

**For citation:** Aleksandrov M.A., Strelova O.Yu. Quantitation of dicamba herbicide in pharmaceutical raw materials: Developing a selective chromatographic method. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):206–214. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-206-214>

**Funding.** The study was performed without external funding.

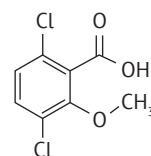
**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Содержание пестицидов в лекарственном растительном сырье (ЛРС), согласно российскому законодательству, регламентируется ОФС.1.5.3.0011 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» Государственной фармакопеи Российской Федерации XV изд. (ГФ РФ). Остаточные количества пестицидов – один из показателей безопасности лекарственного растительного сырья, в ГФ РФ даны нормы по содержанию 65 подобных соединений.

Рынок ядохимикатов активно расширяется, по статистическим данным, в 2024 г. российскими предприятиями было выпущено 135 247 тонн гербицидов, что более чем на 10% превышает показатели 2022 г.<sup>1</sup> Однако стандарты качества ЛРС обновляются с задержкой, и в ГФ РФ включены нормы содержания и методы исследования не на все ядохимикаты, которые используются в сельском хозяйстве.

Особый интерес представляют ядохимикаты, которые повсеместно применяют при выращивании растений, в частности, содержащие производное хлорбензойной кислоты дикамбу (3,6-дихлор-2-метоксибензойную кислоту, (I)). Дикамба входит в состав препаратов для борьбы с сорной растительностью «Линтур» и «Диален Супер».



(I)

Ряд исследователей указывают на потенциальную опасность дикамбы как вещества, повышающего риск возникновения онкологических заболеваний [1–3]. Нельзя не отметить, что возможность определения остаточных количеств дикамбы в сельскохозяйственных продуктах активно изучается за рубежом в последние годы [см., например, 4, 5].

Как было показано ранее, разработанная еще в 1971 г. спектрофотометрическая методика количественного определения дикамбы в лекарственном растительном сырье не удовлетворяет современным требованиям ГФ РФ по показателям специфичности (длина волны определения 280 нм не является селективной в силу того, что в этой области электромагнитного спектра поглощаются молекулы многих ароматических соединений а также соединения, содержащие карбонильную группу) и линейности (коэффициент корреляции, равный 0,83, меньше критерия приемлемости – от 0,99 до 1,00) [6].

Цель работы – разработка селективной методики определения гербицида дикамба в лекарственном растительном сырье для последующего введения в фармакопейные нормы.

<sup>1</sup> Инсектициды и пестициды (рынок России). [https://www.tadviser.ru/index.php/Статья:Инсектициды\\_и\\_пестициды\\_%28рынок\\_России%29](https://www.tadviser.ru/index.php/Статья:Инсектициды_и_пестициды_%28рынок_России%29)

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась гербицидная смесь «Линтур», содержащая дикамбу — 659 г/кг, триасульфурон — 41 г/кг (ООО «Зеленая Аптека Садовода»). Для построения градуировочных графиков использовался стандартный образец дикамбы (Kit-54, pesticide 4-4600, PolyScience Corporation, lot № 53449).

Гербицидную смесь применяли при выращивании эхинацеи пурпурной сорта «Ливадия» из семян (ООО «Аэлита», срок годности до 06.2028) на двух участках в Выборгском районе Ленинградской области площадью по 10 м<sup>2</sup> каждый со слабощелочными почвами и достаточным освещением. На участке № 1 культивирование проводили с применением гербицида, на участке № 2, расположенном от первого на расстоянии 5 м, — без его применения. Для борьбы с сорняками на участке № 2 применяли регулярную ручную прополку.

Жидкостную хроматографию проводили с помощью прибора с автоматическим дозированием Agilent Technologies 1260 Infinity с tandemным масс-спектрометром Agilent Technologies 6420 Triple Quad LS/MS, предколонка — UHPLC Guard 3PK InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 2,1 мм 1.9 Micron, колонка — Desc: Kinetex® 2,6 мкм C18 100 Å, Size: LC Column 100×2,1 мм, температура колонки — 40 °С, подвижная фаза — А: 5% ацетонитрил, В: 95% Н<sub>2</sub>О с 0,1% муравьиной кислотой, объем пробы — 5 мкл.

Газохроматографический анализ проводили с помощью хроматографа с автоматическим дозированием, снабженного моноквадрольным масс-спектрометром QP-2020 (Shimadzu), капиллярной колонкой неполярной длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной слоя неподвижной фазы ((5%-фенил)-метилполисилоксан) 0,25 мкм, газ-носитель — гелий, объем пробы — 1 мкл, скорость потока 0,8 мл/мин, постоянный поток; температура инжектора 70 °С. Силилирование образцов при проведении анализа ГХ-МС: в вials с 1 мл анализируемых стандартных образцов добавляли избыток силилирующего агента — 0,2 мл смеси, состоящей из 99% N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамида и 1% триметилхлорсилана [5]. Масс-спектры, полученные методом ГХ-МС, анализировали по имеющимся библиотекам NIST MS Search Program 17.

Градуировочные графики для количественного определения дикамбы методами ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС строили с использованием растворов стандартного образца, полученных путем

растворения точной навески в 100 мл этилового спирта 96%. Для исследования методом ВЭЖХ-МС/МС были получены растворы с концентрациями: 0,15; 0,10; 0,08; 0,05; 0,04; 0,02 мг/мл; для исследований ГХ-МС использовались растворы: 0,040; 0,020; 0,010; 0,008; 0,005; 0,004 мг/мл.

Подготовку образцов ЛРС эхинацеи пурпурной, выращенной с применением дикамбы, проводили по следующей методике: около 5 г (точная навеска) ЛРС помещали в стакан емкостью 200 мл, добавляли 50 мл воды очищенной, подщелачивали раствором натрия гидроксида 30% до pH=8 (pH определяли по универсальной индикаторной бумаге). Дважды настаивали по 1 ч при периодическом перемешивании. Объединенную водную вытяжку подкисляли раствором хлористоводородной кислоты 10% до pH=6 и экстрагировали трижды порциями хлороформа по 25 мл. Объединенные хлороформные извлечения высушивали, сухой остаток растворяли в 10 мл 96% этилового спирта. Основным критерием качества пробоподготовки являлся максимальный выход целевой молекулы гербицида.

Расчет пределов допустимого содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье (ПДСОП<sub>ЛРС</sub>) эхинацеи пурпурной проводили по формуле (1):

$$\text{ПДСОП}_{\text{ЛРС}} = \frac{\text{ДСП} \times \text{М}}{\text{МСД} \times 100}, \quad (1)$$

где ПДСОП<sub>ЛРС</sub> — предел допустимого содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье; ДСП — допустимое суточное потребление вещества, мг/кг; М — масса тела человека, кг (60 кг); МСД — суточная доза лекарственного растительного сырья, кг; 100 — фактор потребления.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На хроматограммах растворов стандартного образца дикамбы, полученных методом ГХ-МС, пик, соответствующий нативной молекуле, не идентифицирован (рис. 1). Согласно библиотеке масс-спектров пик со временем удерживания 4,6 мин соответствует 2,5-дихлорфенолу, 5,2 мин — 2,5-дихлорметоксибензолу, 7,0 мин — метиловому эфиру дикамбы. Все эти соединения образуются в результате термической деградации дикамбы в инжекторе хроматографа. Определение гербицида по нативной молекуле в данном случае невозможно из-за отсутствия стандартных образцов продуктов деградации.

ОФС.1.5.3.0011 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» рекомендует для оценки содержания ядохимикатов использовать методику газовой хроматографии, при которой начальная температура колонки составляет 70 °С. В процессе выполнения данного исследования установлено, что при этой температуре происходит термическая деструкция молекулы дикамбы, что не позволяет определить 3,6-дихлор-2-метоксибензойную кислоту, являющуюся компонентом гербицидной смеси «Линтур», по исходной молекуле, а следовательно, выполнить количественное определение его остаточных количеств в ЛРС.

По полученным хроматографическим данным установлено, что происходит декарбоксилирование нативной молекулы, поэтому была использована методика дериватизации (силилирования) [7, 8]. Образование эфиров с тет-

раметилсианом стабилизирует молекулы дикамбы в температурном диапазоне 70–300 °С, реализуемом при хроматографировании<sup>2</sup>, на хроматограмме регистрируется пик со временем удерживания 8,3 мин, соответствующий силилированному производному дикамбы (рис. 2). Однако зависимость площади пика от концентрации раствора дикамба (рис. 2С) нелинейна ( $R$  (коэффициент корреляции)  $< 0,99$ ), что может быть объяснено нестехиометричностью протекания реакции дериватизации за счет возможного присоединения силилирующего агента как по карбоксильной группе, так и по свободному гидроксигруппе, образуемому в процессе термической деструкции молекулы, и не позволяет использовать данный метод для проведения количественного анализа.

Одним из возможных фармакопейных методов обнаружения целевых аналитов, характеризующимся высокой специфичностью, селективностью, чувствительностью

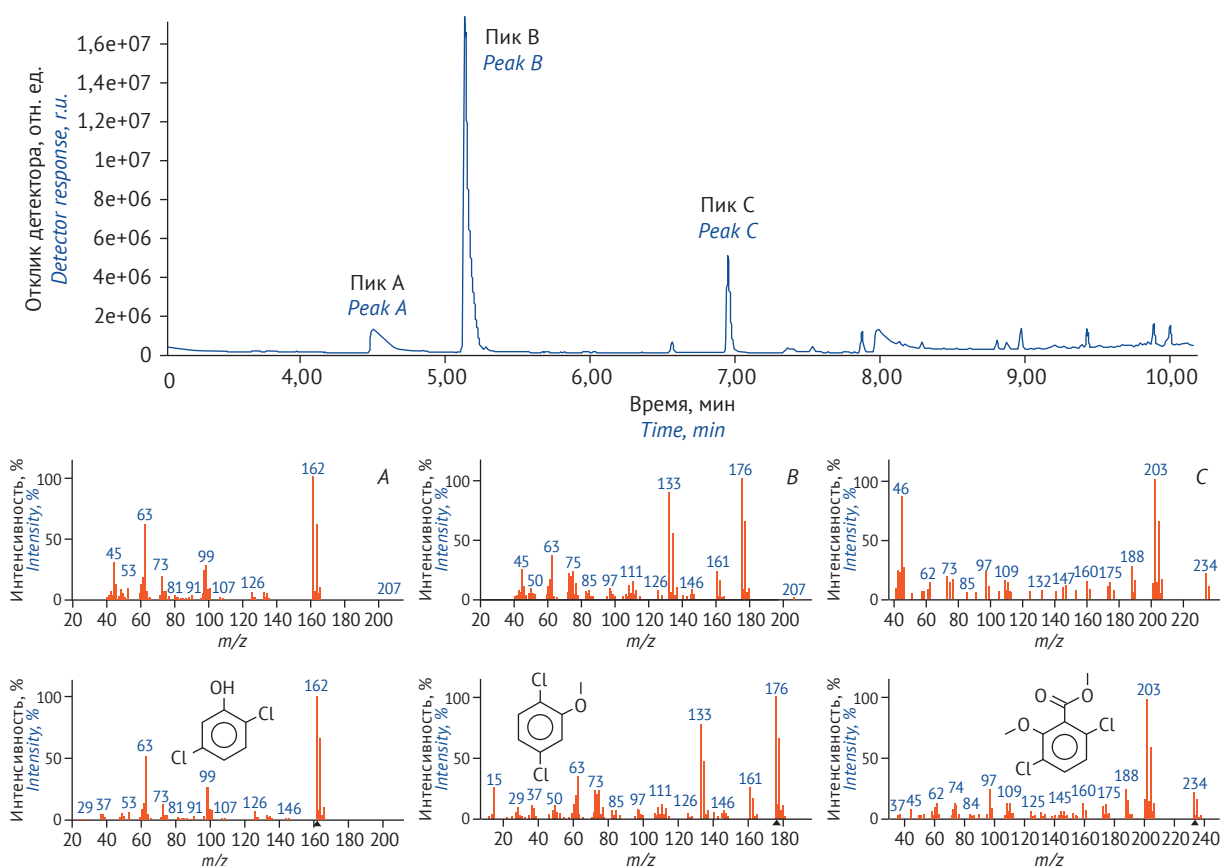


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 1.** Хроматограмма раствора стандартного образца дикамбы, полученная методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

**Fig. 1.** Chromatogram of dicamba reference standard obtained by gas chromatography-mass spectrometry

<sup>2</sup> ОФС.1.5.3.0011 Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

и воспроизводимостью, является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС)<sup>3</sup>. На хроматограммах, полученных при анализе растворов стандартного образца дикамбы методом ВЭЖХ-МС/МС (рис. 3), отмечается один пик нативной молекулы дикамбы со временем удерживания ~6,2 мин, которому соответствует спектрограмма с ионным распределением (обусловлено 2 атомами хлора) с 221–219–218 m/z и реперный ион с 174,9 m/z. Ион-продукт (174,9 m/z) является фрагментом 3,6-дихлор-2-метоксибензойной кислоты, так как при фрагментации других производных 2-метоксибензойной кислоты также выявляется ион-продукт с таким же значением m/z. Данные соответствуют имеющимся в базах данных Agilent MassHunter Quantitative Analysis B.06.00. Зависимость площади пика от концентрации раствора линейна (рис. 3С).

Высокая специфичность масс-спектрометрического анализа заключается в селективном обнаружении целевых соединений в сложных матрицах. Это достигается за счет нацеленного мониторинга переходов между ионами-предшественниками и ионами-продуктами (MRM-переходы). В данном случае удалось избежать воздействия изначальной матрицы извлечения на результаты определения.

Результаты валидации методики ВЭЖХ-МС/МС определения дикамбы представлены в таблице 1. Исследовали по 6 независимых образцов. Показана сходимость результатов, получаемых одним химиком на одном и том же оборудовании в течение одного дня, а также разными химиками в разные дни на разном оборудовании в пределах одной лаборатории. Установлено, что по показателям пригодности хроматографической системы, специфичности, линейности, правильности, прецизионности разработанная методика удовлетворяет критериям приемлемости в соответствии с фармакопейными требованиями<sup>4</sup>.

На хроматограммах извлечений из ЛРС эхинацеи пурпурной, выращенной с использованием дикамбы (рис. 4), наблюдается один пик со временем удерживания около 6,16 мин и масс-спектром, соответствующим дикамбе. Содержание гербицида в образце эхинацеи пурпурной составило 0,24±0,06 мг/г.

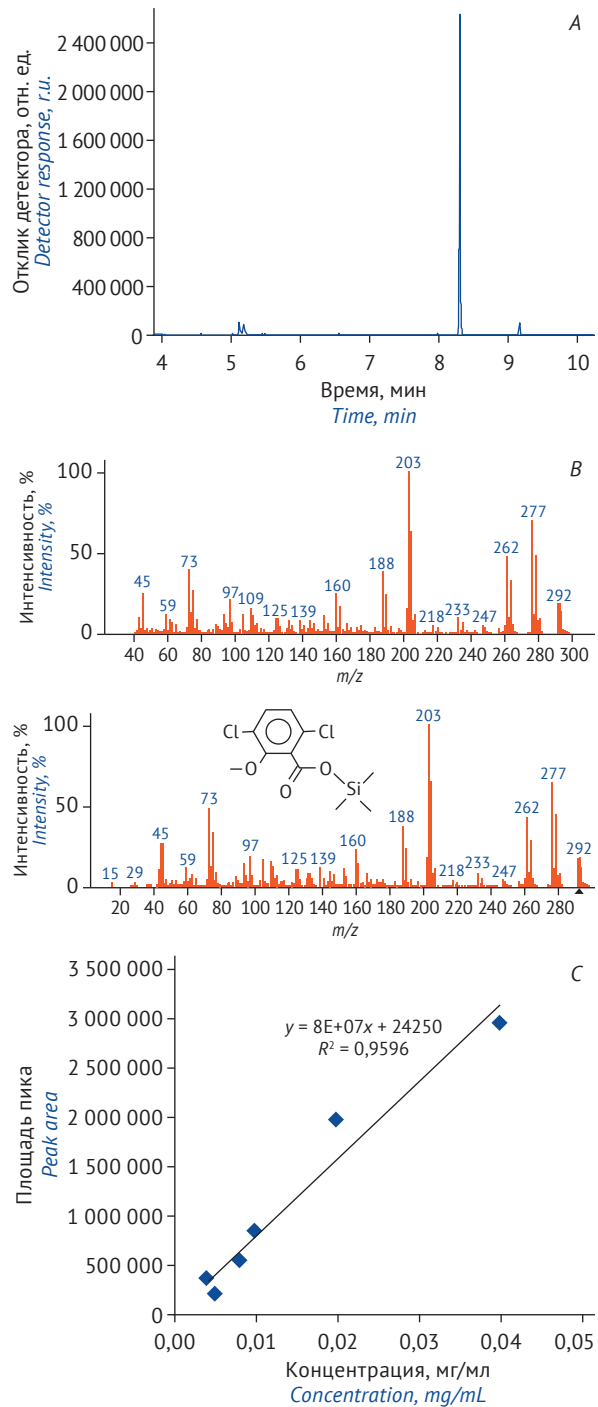


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 2.** Хроматограмма (А), масс-спектр (В) и градуировочный график (С), полученные в результате анализа предварительно силилированных растворов дикамбы методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

**Fig. 2.** Chromatogram (A), mass spectrum (B), and calibration curve (C) obtained by analyzing pre-silylated dicamba solutions using gas chromatography-mass spectrometry

<sup>3</sup> ОФС.1.2.1.2.0005 Высокоэффективная жидкостная хроматография. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>4</sup> ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

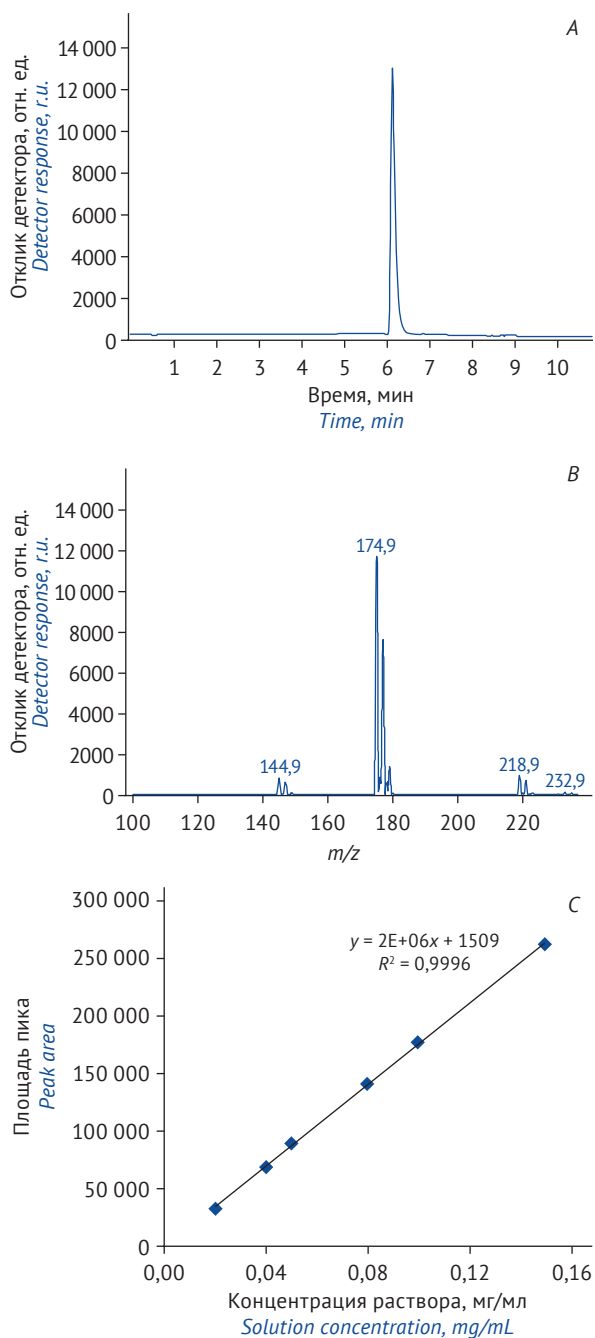


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 3.** Хроматограмма (А), масс-спектр (В) и градуировочный график (С), полученные в результате анализа растворов дикамбы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием тандемной масс-спектрометрией

**Fig. 3.** Chromatogram (A), mass spectrum (B), and calibration curve (C) obtained by analyzing dicamba solutions using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Расчет пределов допустимого содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье (ПДСОП<sub>ЛРС</sub>) для сырья эхинацеи пурпурной проводили по формуле (1). Допустимое суточное потребление (ДСП) для дикамбы составляет 0,3 мг/кг<sup>5</sup>. Массу человека (М), согласно фармакопейной статье, принимают за 60 кг<sup>6</sup>. Максимальную суточную дозу (МСД) лекарственного растительного сырья высчитывали исходя из максимальной суточной дозы приема препарата экстракта эхинацеи (1200 мг)<sup>7</sup> и данных по извлечению этого экстракта из ЛРС (2,4 г экстракта из 100 г ЛРС) [9]. Значение ПДСОП<sub>ЛРС</sub>, рассчитанное указанным способом, составляет 0,036 мг/г. Таким образом, количество гербицида, содержащегося в ЛРС, превышает ПДСОП<sub>ЛРС</sub>, что говорит о потенциальной возможности перехода соединения в изготовленные из сырья ЛП и БАДы. Следует ужесточить контроль за применением гербицида дикамба на землях, используемых для выращивания ЛРС, внести соединение в перечень контролируемых в фармакопейной статье.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение дикамбы методом ГХ-МС в условиях, регламентируемых ОФС.1.5.3.0011, не позволяет получить точный результат, поскольку не является специфичным (происходит термодеструкция исходной молекулы в инжекторе хроматографа). Стабилизация молекулы путем дериватизации методом силилирования позволяет качественно определять дикамбу, однако количественный анализ не рекомендуется в связи с нелинейностью концентрационной зависимости отклика.

Методика, основанная на определении ВЭЖХ-МС/МС, позволяет проводить селективное определение дикамбы в ЛРС. Методика валидирована в соответствии с требованиями ГФ РФ. Следовательно, разработанная методика может быть предложена в качестве основной для определения дикамбы в лекарственном растительном сырье «трава» для включения в фармакопейные требования.

В дальнейшем планируется апробировать разработанную методику на нескольких растительных объектах, включая другие морфологические части растений.

<sup>5</sup> The WHO Recommended Classification of pesticides by hazard and guidelines to classification, 2019. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240005662>

<sup>6</sup> ОФС.1.5.3.0011 Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>7</sup> Эхинацеи пурпурной травы экстракт 200 мг, инструкция по медицинскому применению. [https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=129dc551-218b-431a-9921-5b78e9758737](https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=129dc551-218b-431a-9921-5b78e9758737)

**Таблица 1.** Оценка валидационных характеристик методики определения дикамбы методом ВЭЖХ-МС/МС**Table 1.** Validation parameters for HPLC-MS/MS dicamba quantitation method

Оцениваемый параметр <i>Estimated parameter</i>	Рекомендуемые значения <i>Recommended values</i>	Полученные значения <i>Actual values</i>
Пригодность хроматографической системы <i>Suitability of chromatographic system</i>	$N_{t.p.} \geq 5000$ $N_{t.p.} \geq 5,000$	Мин. знач. $N_{t.p.}$ – 13 701 <i>Minimum <math>N_{t.p.}</math> – 13,701</i>
	$As \in [0,8; 1,5]$	Мин. знач. / <i>Min. value</i> – 0,85 Макс. знач. / <i>Max. value</i> – 1,07
	$RSD_{tr} \leq 2\%$	0,20%
	$RSD_{S_{пика}} \leq 2\%$ $RSD_{S_{peak}} \leq 2\%$	1,72%
Специфичность <i>Specificity</i>	$tR_{станд} = tR_{испыт}$ $tR_{stand} = tR_{test}$	
Линейность <i>Linearity</i>	$R \in [0,99; 1]$	0,9996
	$a < \Delta a$	$a = 1,509$ $\Delta a = 29,76$
Правильность <i>Accuracy</i>	$\bar{Z}, \% \in [98; 102]$	99,76
	$ 100 - \bar{Z}  < 2,0\%$	0,24%
	$RSD_z < 2,0\%$	1,84%
Прецизионность <i>Precision</i>	$RSD_{хим.№1} / RSD_{chem1} \leq 3\%$	0,82%
	$RSD_{хим.№2} / RSD_{chem2} \leq 3\%$	0,90%
	$F < 5,05$	4,21
	$t < 2,23$	1,23

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

**Примечание.**  $N_{t.p.}$  – количество теоретических тарелок,  $As$  – асимметричность пика,  $RSD_{tr}$  – относительное стандартное отклонение времени удерживания,  $RSD_{S_{пика}}$  – относительное стандартное отклонение площади пика,  $R$  – коэффициент корреляции,  $a$  – свободный член уравнения прямой,  $\Delta a$  – стандартное отклонение члена  $a$  от уравнения прямой,  $\bar{Z}$  – значение средней открываемости методики,  $RSD_z$  – относительное стандартное отклонение открываемости методики,  $RSD_{хим.№1}$  – относительное стандартное отклонение результатов количественного определения вещества химиком 1,  $RSD_{хим.№2}$  – относительное стандартное отклонение результатов количественного определения вещества химиком 2,  $F$  – критерий Фишера,  $t$  – критерий Стьюдента. ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием тандемной масс-спектрометрией.

**Note.**  $N_{t.p.}$ , number of theoretical plates;  $As$ , peak asymmetry;  $RSD_{tr}$ , relative standard deviation of retention time;  $RSD_{S_{peak}}$ , relative standard deviation of the peak area;  $R$ , correlation coefficient;  $a$ , absolute term of the equation of a straight line;  $\Delta a$ , standard deviation of the term  $a$  from the equation of a straight line;  $\bar{Z}$ , average recovery of the method;  $RSD_z$ , relative standard deviation of the method recovery;  $RSD_{chem1}$ , relative standard deviation of the quantitation results, chemist No.1,  $RSD_{chem2}$ , relative standard deviation of the quantitation results, chemist No. 2;  $F$ , Fisher's test;  $t$ , Student's  $t$ -test. HPLC-MS/MS, high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

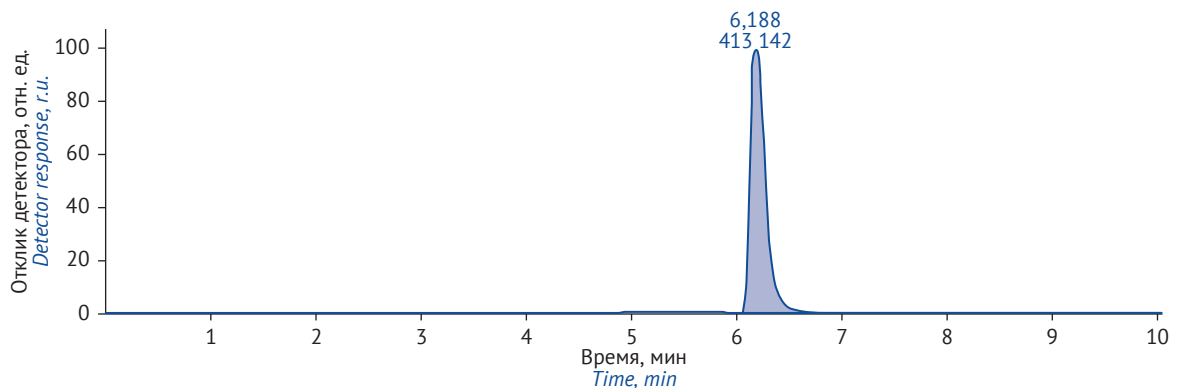


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 4.** Хроматограмма извлечения из лекарственного растительного сырья эхинацеи пурпурной, выращенной с использованием дикамбы**Fig. 4.** Extraction chromatogram from *Echinacea purpurea* pharmaceutical raw materials cultivated using dicamba

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lerro CC, Hofmann JN, Andreotti G, et al. Dicamba use and cancer incidence in the agricultural health study: An updated analysis. *Int J Epidemiol.* 2020;49(4):1326–37. <https://doi.org/10.1093/ije/dyaa066>
2. Attademo AM, Lajmanovich RC, Peltzer PM, et al. Effects of the emulsifiable herbicide Dicamba on amphibian tadpoles: an underestimated toxicity risk? *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021;28(24):31962–74. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13000-x>
3. Lerro C, Hofmann J, Andreotti G, et al. Dicamba use and cancer incidence in the agricultural health study: An updated analysis. *Int J Epidemiol.* 2020;49(4):1326–37. <https://doi.org/10.1093/ije/dyaa066>
4. Kowalska G. Pesticide residues in some polish herbs. *Agriculture.* 2020;10(5):154. <https://doi.org/10.3390/agriculture10050154>
5. Pandey S, Pant P, Dall'Acqua S. Advances in sample preparation methods for pesticide residue analysis in medicinal plants: A focus on Nepal. *Arch Pharm (Weinheim).* 2024;357(5):e2300652. <https://doi.org/10.1002/ardp.202300652>
6. Александров МА, Стрелова ОЮ, Гребенюк АН. Обзор литературных данных по токсическим свойствам гербицида дикамба. *Джanelидзевские чтения – 2025. Сборник научных трудов научно-практической конференции.* СПб; 2025. С. 50–2. Alexandrov MA, Strelova OYu, Grebenyuk AN. Review of literature data on the toxic properties of the herbicide dicamb. *Dzhanelidzevskie Chteniya – 2025. Collection of scientific papers of the scientific and practical conference.* St. Petersburg; 2025. P. 50–2 (In Russ.). EDN: [YMGFJU](https://doi.org/10.3390/molecules29245884)
7. Vargas Mena E, Herrera Giraldo ER, Gómez Castaño JA. Insights into the silylation of benzodiazepines using *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA): In search of optimal conditions for forensic analysis by GC-MS. *Molecules.* 2024;29(24):5884. <https://doi.org/10.3390/molecules29245884>
8. Liu Y, Hou X, Li X, et al. Simultaneous determination of 19 bromophenols by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) after derivatization. *Talanta.* 2024;274:126015. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126015>
9. Вайнштейн ВА, Каухова ИЕ, Амелина ПС и др. Полиэкстракция травы эхинацеи системами экстрагентов с возрастающей полярностью. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2018;(3):54–63. Vainshtein VA, Kauhova IE, Amelina PS, et al. Polyextraction of herbs of *Echinacea* by systems of extragents with rising polarity. *Drug Development & Registration.* 2018;(3):54–63 (In Russ.). EDN: [UYJXVL](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126015)

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: О.Ю. Стрелова – разработка методики эксперимента по установлению количественного содержания и извлечению соединения из лекарственного растительного сырья; М.А. Александров – выращивание эхинацеи пурпурной с применением гербицидной смеси, изучение полученных образцов методами ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС, проведение статистической обработки данных.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Olga Yu. Strelova* developed experimental methods in order to establish the quantitative content and extraction of compounds from medicinal plant raw materials. *Mark A. Aleksandrov* cultivated *Echinacea purpurea* using a herbicide mixture, studied the obtained samples using GC-MS and HPLC-MS/MS methods, and processed statistical data.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Александров Марк Антонович / Mark A. Aleksandrov**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-8560-2664>

**Стрелова Ольга Юрьевна**, д-р фарм. наук, профессор / **Olga Yu. Strelova**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6737-1023>

Поступила 21.06.2025

После доработки 10.02.2026

Принята к публикации 11.02.2026

Received June 21, 2025

Revised February 10, 2026

Accepted February 11, 2026



А.В. Попкова  

## Пептидное картирование: современные подходы к разработке методик (обзор)

Акционерное общество «Биокад»,  
ул. Связи, д. 38, стр. 1, вн. тер. г. поселок Стрельна, Санкт-Петербург,  
198515, Российская Федерация

✉ Попкова Александра Владимировна; [aleks.popkova@yandex.ru](mailto:aleks.popkova@yandex.ru),  
[popkova@biocad.ru](mailto:popkova@biocad.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Лекарственные средства, получаемые с использованием технологии рекомбинантной ДНК, широко применяются в терапии онкологических, иммуно-воспалительных и инфекционных заболеваний. Объем исследований по разработке новых белковых препаратов, в том числе моноклональных антител, а также методик контроля качества таких препаратов увеличивается. Пептидное картирование позволяет подтвердить подлинность, первичную структуру белка, генетическую стабильность и идентифицировать изменения в структуре.

**ЦЕЛЬ.** Систематизация современных методологических подходов к разработке методик пептидного картирования.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Одним из главных методов подтверждения подлинности белков является пептидное картирование, основанное на ферментативном гидролизе белка, с получением уникального набора пептидных фрагментов. Несмотря на уникальность каждой конкретной методики, все они базируются на общих принципах пробоподготовки и анализа, а также регуляторных требованиях. Разработка метода – сложный многостадийный процесс. В настоящее время для расщепления белка используются различные ферменты, однако «золотым стандартом» является трипсин. Все большее распространение имеют готовые решения для проведения реакции расщепления белков: высокоспецифичные и воспроизводимые наборы; способы пробоподготовки на основе иммобилизации ферментов на магнитных частицах, а также автоматизированные процедуры. Это позволяет минимизировать ошибки ручной пробоподготовки, повысить воспроизводимость результатов и сократить время анализа.

**ВЫВОДЫ.** Современная методология пептидного картирования эволюционирует в сторону повышения воспроизводимости и эффективности за счет внедрения стандартизированных и автоматизированных решений для пробоподготовки при сохранении трипсина в качестве основного гидролитического агента. Информация об используемых подходах позволит исследователям ориентироваться в многообразии доступных аналитических решений, ускорить разработку методов и обеспечить надежный контроль качества белковых препаратов.

**Ключевые слова:** пептидное картирование; подлинность белков; трипсин; Lys-C; ферментативное расщепление белков; ВЭЖХ; масс-спектрометрия; протеомика; регуляторные требования

**Для цитирования:** Попкова А.В. Пептидное картирование: современные подходы к разработке методик (обзор). *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):215–228. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-215-228>

**Финансирование.** Работа выполнялась без спонсорской поддержки.

**Потенциальный конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов. При написании рукописи автор руководствовалась соображениями научной ценности полученного материала и заявляет о беспристрастности оценки полученных данных. Упоминание в тексте конкретных торговых марок ферментных препаратов, готовых наборов, хроматографических колонок и их производителей приведено исключительно в информационных и научно-практических целях для иллюстрации текущего ассортимента продуктов и не является рекламной рекомендацией.

Aleksandra V. Popkova ✉ 

## Review of Current Approaches to the Development of Peptide Mapping Methods

Joint-stock company "BIOCAD",  
38/1 Svyazi St., Intracity Municipality the Settlement of Strelina,  
Saint Petersburg 198515, Russian Federation

✉ Aleksandra V. Popkova; [aleks.popkova@yandex.ru](mailto:aleks.popkova@yandex.ru), [popkova@biocad.ru](mailto:popkova@biocad.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Medicines, based on recombinant DNA technology, are widely used in the treatment of cancer, immune-inflammatory, and infectious diseases. Research on the development of new protein-derived drugs, including monoclonal antibodies, as well as methods for quality control of such drugs, is ever increasing. Peptide mapping allows it to verify the primary protein structure, genetic stability, and identify structural changes.

**AIM.** Systematization of current methodological approaches to the development of peptide mapping methods.

**DISCUSSION.** One of the main methods for confirming protein authenticity is peptide mapping based on enzymatic hydrolysis of protein to produce a unique set of peptide fragments. Despite the uniqueness of each method, they all share common principles of sample preparation and analysis, as well as regulatory requirements. Method development is a complex, multi-step process. Currently, various enzymes are used for protein cleavage, but trypsin remains the "gold standard". Ready-made solutions for protein cleavage reactions are becoming increasingly common such as highly specific and reproducible kits, sample preparation approaches based on immobilized enzymes on magnetic particles, and automated procedures. These options minimize errors in manual sample preparation, improve the reproducibility of results, and reduce analysis time.

**CONCLUSIONS.** Current peptide mapping methodology is evolving towards increased reproducibility and efficiency through the introduction of standardized and automated sample preparation solutions while maintaining trypsin as the primary enzyme for protein cleavage. Information on approaches used will enable researchers to navigate the diversity of available analytical solutions, accelerate method development, and ensure reliable quality control of protein-based medicines.

**Keywords:** peptide mapping; protein identity; trypsin; Lys-C; enzymatic protein cleavage; HPLC; mass spectrometry; proteomics; regulatory requirements

**For citation:** Popkova A.V. Review of current approaches to the development of peptide mapping methods. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):215–228. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-215-228>

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Disclosure.** Author declare no conflict of interest. The author was guided by considerations of the scientific value of the obtained material and declare the impartiality of the assessment of the obtained data. The mention in the text of specific brands of enzyme preparations, ready-made kits, chromatographic columns and their manufacturers is provided for informational as well as scientific and practical purposes to illustrate the current state of product range only and does not provide an advertising recommendation.

### ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные средства (ЛС), получаемые с использованием технологии рекомбинантной ДНК, занимают особое место в биологической терапии. Они находят широкое применение в терапии онкологических, иммуновоспалительных и инфекционных заболеваний, включая COVID-19 [1]. Объем исследований по разра-

ботке новых белковых препаратов, в том числе моноклональных антител (МАТ), а также методик контроля качества таких препаратов увеличивается [2]. Нормативные требования к производству и контролю качества ЛС, получаемых с использованием технологии рекомбинантной ДНК, установлены в Государственной фармакопее Российской Федерации<sup>1</sup>. Описаны методы

<sup>1</sup> ОФС.1.7.1.0007 Лекарственные средства, получаемые с использованием технологии рекомбинантной ДНК. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2025.

ОФС.1.7.1.0014 Моноклональные антитела для медицинского применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2025.

анализа и идентификации, которые позволяют установить подлинность лекарственного препарата (ЛП), его чистоту, определить количественное содержание действующего вещества и вспомогательных компонентов, входящих в состав лекарственной формы. Для подтверждения подлинности белков, в том числе и МАТ, используют принцип ортогонального подхода, который предполагает применение комплекса физико-химических и биологических методов анализа.

Пептидное картирование является единственным методом подтверждения подлинности белков без необходимости идентификации дополнительными методами (специфической активности и иных физико-химических методов), поскольку позволяет подтвердить первичную структуру белка и выявить наличие изменений в сравнении со стандартным образцом<sup>2</sup>. Метод основан на том, что белок при ферментативном гидролизе распадается на пептиды, и для каждого белка характерен уникальный набор пептидов, отличающихся последовательностью и молекулярной массой. Метод пептидного картирования должен быть включен в спецификацию активной фармацевтической субстанции и в спецификацию на ЛП в случае отсутствия высокоспецифичных методов идентификации<sup>3</sup>.

Множество работ посвящено разработке методик пептидного картирования. Несмотря на высокую точность современных методов, разработка методик пептидного картирования остается трудоемким процессом, часто основанным на эмпирическом подборе условий. По мнению автора, стремительное расширение аналитического рынка — появление широкого спектра альтернативных специфичных протеаз и технологий ускоренной пробоподготовки — открывает новые возможности для получения высокоспецифичных пептидных карт белков и сокращения времени анализа. Однако отсутствие системного сравнительного анализа этих инструментов затрудняет их рациональное внедрение в практику. Систематизированные данные позволяют оптимизировать процесс разработки методик пептидного картирования, сократить количество итераций при подборе условий протеолиза и минимизировать риски возникновения артефактов при характеристике биофармацевтических препаратов.

Цель работы — систематизация современных методологических подходов к разработке методик пептидного картирования.

Информация о подходах позволит исследователям ориентироваться в многообразии доступных аналитических решений, ускорить разработку методов и обеспечить надежный контроль качества сложных биомолекул.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Метод пептидного картирования не является общим методом анализа и идентификации разных классов белков, так как ферментативный гидролиз каждого отдельного белка имеет свои характерные особенности. Любая методика идентификации белка включает четыре основных этапа: подготовку белка (обессоливание и денатурация целевого белка); специфичное расщепление пептидных связей; хроматографическое разделение полученной смеси пептидных фрагментов и идентификацию пептидов.

Перед проведением ферментативного гидролиза целевой белок должен быть выделен из смеси, в противном случае возможно образование пересекающихся «отпечатков пальцев», т.е. принадлежащих разным белкам пептидов с одинаковой или близкой аминокислотной последовательностью, что приводит к невозможности однозначной идентификации индивидуальных белков<sup>4</sup>.

### Подготовка образца

**Обессоливание.** Подготовку образца белка путем очистки от компонентов матрицы, например солей, стабилизаторов и эмульгаторов, выполняют посредством диализа с использованием диализных мешков (например, ReadyLyzers, Serva или GebaFlex, Gene Bio-Application) на основе ультрачистой низкосвязывающей регенерированной целлюлозы или центрифугирования в ультрафильтрах (например, Amicon, Merck или Vivaspin, Sartorius) с отсекаемой массой от 10 до 50 кДа. Также возможно использование гравитационных обессоливающих колонок, наполненных, например, поперечно-сшитым декстраном или полиакриламидным гелем (например, Zeba Spin, Thermo Fisher Scientific или Econo-Pac 10DG Desalting Columns, BioRad) [3].

**Денатурация белка.** Нативный белок находится в свернутом состоянии третичной структуры, стабилизированной дисульфидными связями

<sup>2</sup> ОФС.1.7.2.0035.18 Пептидное картирование. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>3</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

<sup>4</sup> ОФС.1.7.2.0035.18 Пептидное картирование. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

(S-S) [4]. Для обеспечения доступа протеолитического агента к пептидным связям необходимо развернуть глобулярную структуру белка, разрушив имеющиеся дисульфидные связи, а затем восстановив их для предотвращения ренатурации. Денатурацию белка выполняют с помощью хаотропных агентов, например гуанидина гидрохлорида [4, 5] или мочевины [6]. Денатурацию и восстановление можно проводить одновременно с помощью комбинации нагревания и химических реагентов, таких как 1,4-дителиотритол (ДТТ) [3], меркаптоэтанол, диоксихлорат натрия [7], трис(2-карбок시에тил)фосфин гидрохлорид (ТСЕР) [6]. Чаще всего используется ДТТ, так как он является сильным восстановителем, уменьшает количество дисульфидных связей и предотвращает образование меж- и внутримолекулярных дисульфидных мостиков между молекулами Cys в белке. J.T. Fang с соавт. [8] изучили восстанавливающий эффект цистеина в процессе определения аминокислотной последовательности МАТ при различных концентрациях цистеина (10–40 мМ) и значениях pH (pH 7,0–11,0) реакционной смеси. Установлено, что цистеин проявляет свойства восстановителя, сравнимые с таковыми у ДТТ, и обладает такими полезными характеристиками, как отсутствие токсичности и запаха, что делает его потенциальной альтернативой для восстановления дисульфидных связей при пептидном картировании белков и МАТ [8].

Современным решением для денатурации белков и увеличения скорости ферментативного расщепления являются готовые смеси детергентов, такие как запатентованные анионные сурфактанты RapiGest SF<sup>5</sup> и ProteaseMAX<sup>6</sup>, которые повышают растворимость гидрофобных и мембранных белков, часто агрегирующих в обычных буферных растворах, и переводят белки в раствор в течение 1 ч при комнатной температуре. За счет мягкой денатурации сурфактанты разворачивают структуру белка, открывая доступ протеазам к сайтам расщепления. Это позволяет сократить время инкубации от нескольких часов до нескольких минут (например, полный гидролиз миоглобина лошади происходит за 15–60 мин вместо 9 ч)<sup>7</sup>. В отличие от мочевины или додецилсульфата натрия, RapiGest не подавляет ферментативную активность, а ProteaseMAX даже повышает

активность основных протеаз (трипсин, химо трипсин и эндопротеаза Lys-C), что позволяет использовать дорогостоящие ферменты в меньших количествах. Они снижают адсорбцию пептидов на пластиковых поверхностях пробирок, что является частой причиной потерь образца, особенно при работе с белками в малых концентрациях. Благодаря более полному расщеплению белка повышается доля покрытия аминокислотной последовательности. Эти реагенты разлагаются в кислотной среде; их можно использовать одновременно с масс-спектрометрическим анализом (МС-анализ). После завершения гидролиза достаточно добавить кислоту, например трифторуксусную (TFA) или муравьиную, чтобы сурфактант распался на нетоксичные побочные продукты, которые выпадают в осадок и удаляются из области реакции либо остаются в растворе, не мешая ионизации при МС-анализе [9].

После денатурации и восстановления сульфгидрильных групп выполняют алкилирование Cys для дальнейшего снижения потенциальной ренатурации. Наиболее часто используемыми агентами для алкилирования белковых образцов являются 10–50 мМ йодоацетамид [5, 10], 10–50 мМ йодоуксусная кислота [6], 10–20 мМ N-этилмалеимид [7].

### Расщепление пептидных связей для хроматографического разделения

Следующей стадией подготовки образца является протеолиз. Все протеолитические агенты подразделяются на химические и ферментативные<sup>8</sup>. К химическим протеолитикам относятся цианобромид (отщепление C-концевого метионина), 2-нитро-5-тио-цианобензойная кислота (отщепление N-концевого цистеина), *o*-йодозобензойная кислота (отщепление C-концевых триптофана и тирозина), BNPS-скатол (отщепление триптофана) и разбавленные кислоты. Ферментативное расщепление более распространено в связи с высокой специфичностью и мягкими условиями пробоподготовки. Среди ферментов, используемых в картировании, известны трипсин, химо трипсин, пепсин, лизилэндопептидаза (Lys-C), глутамилэндопептидаза (Glu-C), пептидил-аспарагил-металлоэндопептидаза (Asp-N), клострипаин и др.

<sup>5</sup> <https://www.waters.com/nextgen/us/en/products/standards-and-reagents/rapigest-sf-surfactant.html?srsltid=AfmBOooAz5SyNRjseIxFlqWTE6HksmYkbr7sMIF60CPvggrdnpl7An>

<sup>6</sup> [https://worldwide.promega.com/products/mass-spectrometry/protases-and-surfactants/protasemax-surfactant\\_-trypsin-enhancer/?catNum=V2071](https://worldwide.promega.com/products/mass-spectrometry/protases-and-surfactants/protasemax-surfactant_-trypsin-enhancer/?catNum=V2071)

<sup>7</sup> <https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2003/rapigest-sf-accelerated-tryptic-digestion-of-proteins.html>

<sup>8</sup> <1055> Biotechnology-derived articles – Peptide mapping. USP 43–NF 38. Rockville; 2024.

**Выбор расщепляющего агента.** Благодаря высокой специфичности и эффективности чаще всего в пептидном картировании используется трипсин [3]. Он относится к сериновым протеазам и расщепляет пептидную связь с С-концевой стороны аминокислотных остатков (а.к.о) Lys и Arg за исключением случая, когда остаток Pro находится с карбоксильной стороны сайта расщепления. Образуются пептиды с длиной от 6 до 30 остатков, что является оптимальной для МС-анализа длиной цепи молекулы [6].

Существует множество коммерчески доступных источников этого фермента. Все трипсины можно классифицировать по происхождению (животного происхождения и рекомбинантные) и способу стабилизации. Трипсины животного происхождения (например, Roche Diagnostics, кат. № RTRYP-RO, или Trypsin Gold, Promega) высокоспецифичны, но они, как правило, загрязнены другими протеолитическими ферментами, например химоотрипсином.

Рекомбинантные трипсины для пептидного картирования (например, Trypsin Platinum, Promega, или SOLu-Trypsin, Sigma-Aldrich) представляют собой высокоочищенные ферменты, полученные методом геной инженерии, как правило, в экспрессионных системах *E. coli* или *Pichia pastoris*, не содержащие примеси контаминирующих белков. Использование рекомбинантного трипсина [5] значительно улучшает качество пептидного картирования благодаря высокой специфичности расщепления и сниженной аутопротеолитической активности.

Для трипсина может быть характерен аутолиз, который приводит к снижению активности фермента и вызывает образование аутопротеолитических триптических пептидов, которые могут мешать анализу интересующих пептидов. Для подавления аутолиза трипсин подвергают химической модификации. Наиболее часто применяется метилирование свободных аминогрупп в остатках лизина трипсина (например, Trypsin Gold, Promega Corporation, или SG-Trypsin, G-Biosciences), тем самым фермент перестает распознавать себя как субстрат. При восстановительном алкилировании свободные остатки Lys химически модифицируют. Такой модифицированный трипсин (например, New England Biolabs, кат. № P8101, или Trp-MS-RS, Molecta, Россия) можно инкубировать при 37 °С более 16–24 ч без потери активности и появления продуктов распада. Модифицированные трипсины являются универсальными реагентами для проведения быстрого, в том числе высокотемпературного

протеолиза и получения чистого (без продуктов неспецифического расщепления) и полного покрытия аминокислотной последовательности [3]. Добавление ионов кальция в состав реагентов для гидролиза белков способствует увеличению термостабильности трипсина и предотвращению аутолиза трипсина [3]. Ионы кальция связываются с Ca<sup>2+</sup>-связывающей петлей трипсина.

Для получения максимально точных и интерпретируемых МС-данных используют трипсины категории «для МС-анализа», содержащие ингибитор химоотрипсина N-*n*-тозил-L-фенилаланин хлорметилкетон (например, Trypsin, TPCK Treated, Worthington Biochemical Corporation, или Trypsin, TPCK Treated, Thermo Scientific), что позволяет снизить или исключить вероятность протекания побочных реакций, а также повысить стабильность и селективность используемых ферментов [3].

Неполный гидролиз происходит в случае, когда протеаза не разрушает связь между аминокислотами специфического сайта узнавания. Такие фрагменты полипептидной цепи называются протеолитически устойчивыми участками. Причин неполного гидролиза несколько. Доступ протеазы к своему сайту связывания может быть затруднен ввиду стерических факторов. Примерами могут быть плотная вторичная структура или ситуация, когда сайт связывания находится внутри гидрофобного ядра белка. Наличие остатка Pro с циклической структурой вблизи сайта связывания создает «излом» цепи, что затрудняет позиционирование протеазы. Например, гидролиз связи Lys-Pro или Arg-Pro трипсином практически невозможен. Близкое расположение сильно поляризованных или вторично модифицированных (фосфорилированных или гликозилированных) а.к.о. «экранирует» полипептидную цепь.

Для осуществления полного расщепления белков трипсин используют в комбинации с другими протеазами. Например, трипсин в сочетании с Lys-C (например, Trypsin/Lys-C, Promega, или EasyPerf MS Sample Prep Kits, Thermo Scientific) позволяет эффективно расщеплять белки или белковые домены, которые недоступны для трипсина из-за особенностей структуры белка [5]. Lys-C сохраняет ферментативную активность в 8 М мочеvine, которая позволяет денатурировать конформационно защищенные участки, что повышает эффективность картирования [11].

Химоотрипсин (например, Promega, кат. № V1062, или Pierce Chymotrypsin Protease, Thermo Scientific) используется для гидролиза

пептидных связей, но чаще в комбинации с трипсином в различных соотношениях [7, 10, 12]. В.С. Jakes и соавт. [13] показали, что полное покрытие последовательности достигается при использовании смесей протеаз, содержащих  $\geq 50\%$  химотрипсина. С наибольшей скоростью химотрипсин гидролизует пептидные связи при ароматических аминокислотах (Phe, Tyr и Trp), отщепляет С-концевые остатки гидрофобных аминокислот (Leu, Met и Ala).

Белки, обогащенные ароматическими и гидрофобными остатками (Phe, Tyr, Trp и Leu), часто плохо растворимы в водных средах и устойчивы к трипсину. Для расщепления таких белков используется пепсин (например, Promega, кат. № V1959, или Pepsin from Porcine Stomach, Thermo Scientific), обладающий высокой активностью в кислой среде (pH 1–3) и при низкой температуре (4 °C), а также специфичностью в отношении участков полипептидной цепи с низкой полярностью. Одним из недостатков пробоподготовки белков с использованием трипсина в щелочной среде (pH 7,5–8,5) является возникновение новых дисульфидных связей, отличных от таковых в нативном белке. Механизм возникновения таких связей заключается в дегидратации сульфгидрильных групп в щелочной среде, что приводит к образованию «ложных» дисульфидных связей. При pH 1–2 тиоловые группы протонируются полностью, что исключает их взаимодействие и фиксирует нативную локализацию дисульфидных мостиков. Процедура пробоподготовки белков предполагает первичную обработку белка пепсином для получения крупных полипептидов, после чего обработка трипсином позволяет получить пептиды, длина которых оптимальна для идентификации [14]. E.G. Toole и соавт. показали, что пепсин был пригоден для пробоподготовки при идентификации белков вирусных капсидов, которые содержат большое количество гидрофобных аминокислот [15].

Сериновая протеаза Glu-C, также известная как V8 протеаза (например, Promega, кат. № PRV1651, или New England Biolabs, кат. № P8100S), широко используется для расщепления больших белков [7] и получения пептидной карты полипептидов [16]. Glu-C специфически отщепляет остатки Asp или Glu с С-конца, при этом специфичность гидролиза зависит от pH среды и состава буфера. При pH 4,0 фермент преимущественно отщепляет С-концевой Glu, тогда как при pH 8,0 дополнительно отщепляет остатки Asp. Комбинация Glu-C и трипсина

позволяет получить перекрывающиеся пептиды в тех зонах, где сайты трипсина расположены слишком редко или недоступны.

Asp-N (например, New England Biolabs, кат. № P8104S, или Endoproteinase Asp-N from *Pseudomonas quercus*, Roche) — это высокоспецифичная цинк-зависимая металлоэндопептидаза (флавастаин) [7]. Она высокоспецифично гидролизует пептидные связи остатков Asp и Cys на N-конце и неспецифично отщепляет остатки Glu. В присутствии ионов цинка Asp-N проявляет оптимальную активность в диапазоне pH от 4 до 9. Чаще всего Asp-N комбинируют с трипсином или эндопептидазой Glu-C.

Последовательная обработка белка трипсином и Asp-N повышает количество идентифицированных пептидов в  $\geq 2$  раза и позволяет более эффективно гидролизовать сложные глобулярные белки [17]. Комбинация Asp-N и Glu-C подходит для анализа белков, богатых остатками Asp и Glu, например казеина. Комбинация этих двух ферментов позволяет получать уникальные наборы пептидов, которые не перекрываются с продуктами трипсинолиза, что повышает общее покрытие белка на 24%<sup>9</sup>.

Для повышения качества идентификации пептидов и определения сайтов конъюгации в препаратах типа «конъюгат антитело — лекарственное средство» в качестве протеолитического фермента применяют папаин. Фрагментация и ионизация пептидов, конъюгированных с токсинами, чаще всего затруднена. Папаин (например, Papain from *papaya latex*, Merck, или Pierce Papain, Thermo Scientific) полностью отщепляет токсин от линкера. Такая обработка белка превращает конъюгаты гидрофобных пептидов с токсином в пептиды, содержащие лишь остаток линкера. Отщепление папаином гидрофобного токсина, например монометилауристатина E (ММАЕ), привело к значительному улучшению идентификации пептидов при проведении МС-анализа и позволило точно определить сайты конъюгации и рассчитать степень их заполняемости с высокой точностью, исключив погрешности ионизации, вызванные токсином [18].

При гидролизе белков также можно использовать металлоэндопептидазу Lys-N, эластазу, термоллизин, эндопротеиназу Arg-C, Lysarginase и др [7, 10].

Эластаза — это сериновая протеаза, гидролизующая пептидные связи Ala, Val, Ser, Gly,

<sup>9</sup> <https://at.promega.com/resources/pubhub/using-endoproteinases-asp-n-and-glu-c-to-improve-protein-characterization/#:~:text=Conclusion,sequence%20coverage%20and%20PTM%20mapping>

Leu и Ile на С-конце белка. Продуктами такого расщепления являются многокомпонентные пептидные смеси, в которых многие пептиды имеют перекрывающиеся последовательности. T. Dau и соавт. [19] для протеомного анализа трансмембранных доменов с многочисленными кросс-сшивками и посттрансляционными модификациями использовали последовательное расщепление трипсином и эластазой. Такой подход позволил идентифицировать участки аминокислотной последовательности, где сайты узнавания трипсином отсутствуют.

Термолизин – бактериальная металлоэндопептидаза, получаемая из *Bacillus thermoproteolyticus*, которую возможно использовать для пептидного картирования из-за специфичности по отношению к пептидным связям гидрофобных аминокислот, например Leu, Phe, Ile и Val [7]. Он сохраняет ферментативную активность в широком диапазоне pH (pH 5,0–9,5).

Для пептидного картирования сложных O-гликозилированных биофармацевтических препаратов применяют высокоспецифичную эндопроотеазу, впервые выделенную из *Akkermansia muciniphila*. Например, эндопроотеаза OpeRATOR® (Genovis, Швеция) отщепляет Ser и Thr на N-конце O-гликанов; при этом фермент не гидролизует N-гликозилированные гликопротеины [10].

Протеаза Arg-C (например, Promega, кат. № V188A, или Endoproteinase Arg-C, Takara Bio) используется для количественного определения пептидоформ гистонов [20] и секвенирования белков, обладает высокой специфичностью по отношению к С-концевым остаткам Arg, что приводит к образованию ограниченного количества пептидных фрагментов.

Лизаргиназа, или LysargiNase (например, Sigma-Aldrich, кат. № EMS0008, или Promega, кат. № V1731), – «зеркальная» трипсину металлопротеиназа, обнаруженная в *Methanosarcina acetivorans*. Лизаргиназа специфически гидролизует белки по остаткам Lys и Arg. В результате образуются пептиды с молекулярной массой, аналогичной триптическим пептидам, но с остатками Lys и Arg на N-конце. Обработка лизаргиназой позволяет улучшать идентификацию С-концевых пептидов белков и определение богатых Arg фосфорилированных участков. H. Yang и соавт. [21] использовали комбинацию лизаргиназы и трипсина. Поскольку трипсин расщепляет полипептидную цепь после остатков Lys и Arg, а лизаргиназа – перед таковыми, в результате одна

из полипептидных цепей гидролизуется до пептидов, которые при MS-анализе образуют взаимодополняющие наборы ионов. Такой подход позволяет идентифицировать аминокислотную последовательность белка с высокой точностью. В лизиновых конъюгатах, таких как трастузумаб эмтанзин, молекула ЛС связана с Lys, таким образом гидролиз связей на участках полипептидной цепи вблизи линкерного фрагмента трипсином часто пространственно затруднен. E. Watts и соавт. [22] описали, что использование лизаргиназы позволяет преодолеть пространственные ограничения, поскольку лизаргиназа гидролизует пептидные связи лизина с N-конца, и получить пептид с сохранным сайтом конъюгации.

Применение ферментов, иммобилизованных на магнитных частицах, позволяет значительно ускорить пробоподготовку и повысить воспроизводимость результатов пептидного картирования. При использовании избытка термостабильного фермента (например, Mag-Trypsin, Takara Bio, или Smart Digest kits, Thermo Scientific) при повышенных температурах время гидролиза сокращается с 16–18 до 0,5–2 ч. Магнитная сепарация позволяет полностью удалить фермент из реакционной смеси, избежать аутолиза и остановить реакцию в точно заданный момент [13, 23]. Автоматизированный метод получения пептидных фрагментов показал высокую специфичность: содержание неспецифических пептидов в продукте реакции составило ≤1,3%; время пробоподготовки – 30–60 мин; риск ошибок оператора и возникновения артефактов (образования продуктов окисления или дезаминирования), характерных для более длительной процедуры ручного гидролиза, был снижен [13].

Иммобилизация фермента термолизина на силикатных дендримерах (полиамидамин и карбосилан) [24] позволяет получить стабильный биокатализатор, пригодный для многократного промышленного применения. В исследованиях было показано, что после трех каталитических циклов не наблюдалось потери ферментативной активности в процессе гидролиза белков.

Известен набор<sup>10</sup>, состоящий из оптимизированных ферментов – рекомбинантной Lys-C и модифицированного трипсина, которые сохраняют высокую каталитическую активность в буферном растворе (pH 5,4) с добавлением антиоксиданта и трис(2-карбоксиил)фосфина гидрохлорида (ТСЕФ). Пробоподготовка занимает 4,5–5 ч. Слабокислая среда предотвращает

<sup>10</sup> <https://www.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/500/accumap-low-ph-protein-digestion-kits-protocol.pdf>

химическую модификацию а.к.о. во время подготовки образца, например дезамидирование Asn и возникновение меж- и внутримолекулярных дисульфидных связей [5].

Для сокращения времени пробоподготовки и уменьшения количества ошибок оператора разрабатываются автоматизированные системы фрагментации белков. Автоматизированные протоколы включают использование жидкостной платформы Hamilton Star со стандартными 96-луночными микродиализными планшетами (10 кДа) [25], а также микроколонок для эксклюзионной хроматографии, подходящих для полностью автоматизированной и быстрой замены буфера [26].

Y.D. Liu и соавт. [27] продемонстрировали более высокую эффективность и воспроизводимость автоматизированной системы пробоподготовки TECAN (Tecan Group Ltd., Меннедорф, Швейцария) по сравнению с ручной пробоподготовкой, что следовало из сопоставления как хроматографических профилей, так и результатов количественного определения посттрансляционных модификаций.

Поскольку первичная структура белка уникальна, для построения пептидной карты необходимо получение оптимального количества пептидов из нативного белка. Если количество образовавшихся пептидных фрагментов слишком мало или велико, то карта утрачивает специфичность к конкретному белку, поскольку повышается вероятность обнаружения схожего профиля у родственных белков.

На этапе протеолиза могут образовываться короткие пептиды, содержащие от 2 до 4 а.к.о., которые не удерживаются на неподвижном сорбенте при обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ). Короткие пептиды часто гидрофильны; плохо сорбируются на гидрофобном сорбенте колонки C18; элюируются в «мертвом объеме» вместе с солями и растворителями; плохо ионизируются при МС-анализе. Поэтому предпочтительно выбирать протеазы, при обработке которыми не образуется большое количество ди- или трипептидов. Полипептиды длиной  $\geq 25$ –30 а.к.о. из-за высокой гидрофобности и большого количества сайтов взаимодействия с сорбентом C18/C8 могут длительно удерживаться в колонке при стандартном градиенте. Пептид, конъюгированный с молекулой небелковой природы, может вызывать уширение пика на хроматограмме из-за микрогетерогенности линкера. Полипептиды длиной более 25–30 а.к.о. плохо переходят в газовую фазу

при МС-анализе, поскольку содержат большое количество заряженных групп, что усложняет расшифровку спектра. Однако пептидные карты, составленные с использованием крупных фрагментов белка, проще интерпретировать, нежели карту, содержащую большое количество хроматографических пиков [18].

Вследствие аутолиза протеаз на пептидной карте могут определяться дополнительные пики, интенсивность которых зависит от массового соотношения количества протеаз к белку. Количество фермента для одного реакционного цикла подбирают индивидуально, в диапазоне соотношений белок:фермент от 10:1 до 500:1 [5, 10, 20]. В ряде случаев количество фермента может быть увеличено [28]. Количество фермента должно быть оптимальным: с одной стороны, количество фермента должно обеспечивать полное расщепление денатурированного белка; с другой – необходимо использовать минимальное количество фермента для снижения стоимости анализа и предотвращения появления артефактных пиков, обусловленных аутолизом протеазы.

Выбор протеолитического фермента является компромиссом между покрытием аминокислотной последовательности (>95%), возможностью обнаружения небольших структурных изменений, надежностью гидролиза и рентабельностью применения методики, которая в большой степени влияет на ее включение в стандартные операционные процедуры (табл. 1).

#### **Выбор условий ферментативного расщепления.**

Выбор температуры, pH и времени обработки протеазой для фрагментации денатурированных белков обусловлен активностью фермента и химической стабильностью самого белка. Значение pH должно соответствовать оптимуму каталитической активности, например трипсин – 7,5–8,5; пепсин – 1,0–3,0; лизаргиназа – 6,0–9,0. Важно, чтобы значение pH реакционной среды не изменяло структуру белка для предотвращения агрегации, выпадения в осадок, изменения поверхностного заряда, и модификацию а.к.о. Выбор температуры проведения гидролиза обусловлен оптимальной температурой работы большинства ферментов – в диапазоне 25–37 °C [6, 7, 11].

Время проведения протеолиза варьируется от 30 мин до 30 ч [5, 7, 20]. Сокращение времени увеличивает скорость анализа, однако должно быть достаточным для полного гидролиза. Длительная инкубация с ферментом обеспечивает полное расщепление полипептидной цепи, но увеличивает количество пиков продуктов

**Таблица 1.** Сравнительная характеристика современных ферментативных инструментов для пептидного картирования**Table 1.** Comparative characteristics of modern enzymatic tools for peptide mapping

Критерий сравнения <i>Comparison criterion</i>	Классический трипсин (Trypsin Gold/MS Grade) <i>Classic trypsin (Trypsin Gold/MS Grade)</i>	Альтернативные протеазы (Lys-C, Glu-C, Asp-N) <i>Alternative proteases (Lys-C, Glu-C, Asp-N)</i>	Смеси протеаз (например, Труп/Lys-C) <i>Protease mixtures (e.g., Tryp/Lys-C)</i>	«Быстрые» ферменты <i>Rapid digestion kits</i>
Специфичность <i>Specificity</i>	Высокая (по Lys, Arg) <i>High (by Lys, Arg)</i>	Высокая, но для конкретных а.к.о. <i>High, but specific to a.a.r.</i>	Максимальная (минимизация пропусков гидролиза) <i>Maximum (minimization of hydrolysis gaps)</i>	Высокая <i>High</i>
Время гидролиза <i>Hydrolysis time</i>	4–18 ч (стандарт) <i>4–18 hours (standard)</i>	4–16 ч <i>4–16 hours</i>	2–12 ч <i>2–12 hours</i>	15–60 мин <i>15–60 min</i>
Покрытие последовательности <i>Sequence coverage</i>	Высокое, но возможны «слепые зоны» <i>High, but there may be “blind spots”</i>	Высокое. Используются для устранения «слепых зон» <i>High. Used to eliminate blind spots</i>	Очень высокое (покрытие >95%) <i>Very high (coverage &gt;95%)</i>	Высокое, сопоставимо с классическим подходом <i>High, comparable to the classical approach</i>
Устойчивость к денатурирующим агентам <i>Resistance to denaturants</i>	Низкая, требует разбавления мочевины / гуанидина гидрохлорида <i>Low, requires dilution with urea / guanidine hydrochloride</i>	Высокая (особенно Lys-C) <i>High, especially Lys-C</i>	Средняя/Высокая <i>Medium/High</i>	Очень высокая в присутствии сурфактантов / хаотропных соединений <i>Very high in the presence of surfactants/ chaotropes</i>
Риск артефактов <i>Risk of artifacts</i>	Средний (риск деамидирования при длительной инкубации) <i>Medium (risk of deamidation during prolonged incubation)</i>	Средний <i>Medium</i>	Пониженный за счет сокращения времени <i>Reduced due to time reduction</i>	Минимальный за счет экспресс-протокола <i>Minimum due to express protocol</i>

Таблица подготовлена автором с использованием источников [3, 5, 7, 10, 11, 17], приведенных в списке литературы / The table was prepared by the author using the sources [3, 5, 7, 10, 11, 17], which are given in the references list

**Примечание.** а.к.о. – аминокислотные остатки.

**Note.** a.a.r., amino acid residues.

аутолиза. Уменьшение продолжительности инкубации снижает вероятность их образования, но вызывает образование ненативных модификаций, таких как дезамидирование и изомеризация; однако в условиях короткой инкубации есть риск образования слишком длинных гидрофобных пептидов. При проведении фрагментации белков трипсином при циклическом изменении давления [29] в течение 30 мин с чередованием циклов 10-секундного периода атмосферного давления и 50-секундного периода высокого давления снижалось количество модифицированных фрагментов и обеспечилась воспроизводимость хроматографического профиля в сравнении со стандартным подходом (16–18 ч при 37 °С). Сверхбыстрое расщепление аминокислотной цепи трипсином может быть достигнуто в микрокаплях при 25 °С в условиях атмосферы азота в течение 250 мкс [30]. По сравнению с расщеплением в течение 16–18 ч использование такого метода приводило к снижению количества продуктов дезамидирования Asn и Glu.

Реакция гидролиза останавливается либо изменением pH реакционной среды [3, 5, 6, 9, 13], которое не оказывает влияния на полученную пептидную карту, либо добавлением специфических ингибиторов или денатурирующих агентов, либо температурной инактивацией путем нагрева до высокой температуры (100 °С) или замораживания [15, 16, 23].

### Хроматографическое разделение пептидных лизатов

Для разделения пептидных фрагментов могут быть использованы различные аналитические методы, такие как ОФ ВЭЖХ, ионообменная ВЭЖХ, гидрофобная хроматография и капиллярный электрофорез<sup>11</sup>. Выбор метода разделения зависит от особенностей анализируемого белка, но наиболее часто используемым методом является ОФ ВЭЖХ [3, 8–10] со спектрофотометрическим детектором при длинах волн 200–230 нм. Для повышения достоверности идентификации пептидов, содержащих Trp, Tug и Cys, детектирование может проводиться при длине

<sup>11</sup> ОФС.1.7.2.0035.18 Пептидное картирование. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

волны 280 нм, однако более информативным является флуориметрическое детектирование и МС-анализ [5–7, 12, 13]. Для эффективно-го разрешения пептидной смеси необходимо тщательно подобрать хроматографическую колонку [28]. Наиболее часто используют хроматографические колонки с фазой C18 таких производителей, как Waters (например, ACQUITY Premier BSM [3] или Acquity Premier BEH130 C18 [5]); Thermo (например, Vanquish Acclaim C18 [13] или MAbPac™ RP [21]); Agilent (например, Poroshell 120 EC C18 [7] или AdvanceBio Peptide Map [12]).

Разделение пептидной смеси проводят на колонках, заполненных сорбентами на основе силикагелей, модифицированных гидрофобными группами с диаметром частиц 1,7–5 мкм [5, 27, 10] и размером пор 100–130 Å [6, 28]. Длина аналитических колонок варьируется в пределах 50–250 мм [7, 13]. ОФ ВЭЖХ на фазе C18 гидрофобных полипептидов обычно затруднена, поэтому в таких случаях используют колонки с меньшей длиной углеродной цепи связанной фазы (C8, C4) [13].

В качестве компонентов подвижной фазы наиболее часто используются разбавленная TFA [3, 5] и муравьиная кислоты (FA) [6, 12], смеси дифторуксусной (ДФУ) [10] или уксусной кислоты (AcOH)<sup>12</sup> с водой и ацетонитрилом. TFA, FA и AcOH используются в качестве ион-парного реагента, увеличивающего гидрофобность пептидов за счет образования ионных пар с их заряженными группами. Происходит увеличение сорбции пептидов на гидрофобной стационарной фазе и, следовательно, улучшается разделение за счет более длительного времени удерживания пептидов. Таким образом, на хроматограмме регистрируются симметричные пики без уширения, соответствующие элюируемому пептиду. Наиболее часто для разделения белков используется TFA ввиду высокой летучести, возможности использования при проведении МС-анализа и средства к заряженному пептиду [28].

Для улучшения элюирования гидрофобных пептидов в подвижную фазу добавляют пропанол, изопропанол или другие модификаторы [10]. Однако спирты характеризуются более высокой вязкостью, чем ацетонитрил, поэтому их

добавление может привести к повышению давления и уширению пиков. Такие спирты характеризуются собственным оптическим поглощением и требуют детектирования при длинах волн >220 нм, что приводит к снижению чувствительности детекции вследствие наложения сигналов аналитов и растворителей. Для повышения разрешающей способности системы в качестве водного компонента подвижной фазы используют буферный раствор (pH 3,0–5,0), что улучшает разделение пептидов, содержащих отрицательно заряженные а.к.о., например остатки Glu и Asp [31].

Градиентное элюирование позволяет достичь эффективного и быстрого разделения смеси пептидных фрагментов<sup>13</sup>. Разделение проводят при скорости подвижной фазы от 0,2–0,6 мл/мин [3, 5] с низкой скоростью изменения состава подвижных фаз и при температуре от 25 до 65 °C [5, 10, 13], что приводит к снижению противодавления в колонке и уменьшает ширину регистрируемого хроматографического пика. В случаях высокой гидрофобности пептидов для максимального извлечения требуется нагрев до 80 °C [23].

### Идентификация пептидов

Определение молекулярной массы каждого продукта ферментативного расщепления белка с помощью масс-спектрометрии является наиболее простым методом идентификации белков. В большинстве случаев для ионизации образца используют ионизацию электрораспылением (ESI) [3, 13, 25], а также матрично-активированную лазерную десорбцию/ионизацию (MALDI). Затем полученные молекулярные массы пептидов сравниваются с теоретически рассчитанными молекулярными массами пептидов, которые должны образоваться при полном гидролизе белка определенной протеазой<sup>14</sup>. Для анализа данных пептидного картирования существует большое количество доступных компьютерных программ свободного доступа (табл. 2). Специализированные сайты, например база данных пептидных последовательностей нематод<sup>15</sup> и база данных по ЛП DrugBank<sup>16</sup>, позволяют проводить поиск по белковым профилям отдельных организмов. Наиболее часто используемым средством интерпретации данных

<sup>12</sup> Беккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика. Методы хроматографии и капиллярного электрофореза. М.: Технофера; 2023.

<sup>13</sup> Там же.

<sup>14</sup> Hunter C, De Souza L, Seto C, et al. Single source solution for low flow chromatography. AB Sciex. 2019. <https://sciex.com/tech-notes/technology/single-source-solution-for-low-flow-chromatography>

<sup>15</sup> [www.nematodes.org](http://www.nematodes.org)

<sup>16</sup> <https://www.drugbank.com>

**Таблица 2.** Доступное программное обеспечение для идентификации белков с помощью масс-фингерпринтинга пептидов**Table 2.** Available software for protein identification by peptide mass fingerprinting

Наименование программы <i>Software Program</i>	Ссылка <i>URL</i>
Multident	<a href="http://web.expasy.org">http://web.expasy.org</a>
Mascot	<a href="http://www.matrixscience.com">http://www.matrixscience.com</a>
MS-Fit	<a href="http://prospector.ucsf.edu">http://prospector.ucsf.edu</a>
ProteoMapper (PeptideAtlas)	<a href="https://peptideatlas.org/map/">https://peptideatlas.org/map/</a>
MassWiz	<a href="http://sourceforge.net/projects/masswiz">http://sourceforge.net/projects/masswiz</a>
Protein Lynx Global SERVER	<a href="http://waters.com">http://waters.com</a>
MassMatrix	<a href="http://cloud.massmatrix.bio">http://cloud.massmatrix.bio</a>
MaxQuant	<a href="http://maxquant.org">http://maxquant.org</a>
Skyline	<a href="http://skyline.ms">http://skyline.ms</a>
FragPipe (MSFragger)	<a href="http://fragpipe.nesvilab.org">http://fragpipe.nesvilab.org</a>
Proteome Discoverer	<a href="https://www.thermofisher.com">https://www.thermofisher.com</a>

Таблица составлена автором на основе данных [32] с дополнениями / The table was prepared by the author based on the data [32] with additions

пептидного картирования является программа Mascot<sup>17</sup> [14, 18]. Для корректного определения пептидов, содержащих остатки Cys, которые образуют дисульфидные мостики в нативном белке, а также для картирования положения этих мостиков целесообразно применять современные биоинформатические программы, включая MassMatrix [14].

Экспериментально полученные молекулярные массы пептидов сопоставляются с аминокислотными последовательностями белков, представленными в базах данных. Для сопоставления необходимо задать граничные значения: тип используемого молекулярного иона, предел погрешности при сопоставлении масс, тип используемой протеазы и количество допустимых негидролизированных сайтов расщепления, таксономическую принадлежность анализируемого белка и *in vitro* модификации полученных пептидов. Для каждого найденного по этим параметрам белка генерируется теоретический набор протеолитических пептидов и проводится сопоставление рассчитанных и полученных в эксперименте масс, на основании чего рассчитывается индекс достоверности, а также величина покрытия последовательности<sup>18</sup>.

Идентификация белка основана на анализе количества совпадений между экспериментально определенной массой и массой пептидов,

полученной из базы данных. Важно измерять молекулярные массы пептидов с высокой точностью, поскольку погрешности при определении массы повышают процент ложных идентификаций. Для высокоточного определения массы пептидов следует использовать времяпролетные масс-спектрометры с высокой разрешающей способностью [3, 16] или масс-спектрометры с орбитальной ионной ловушкой [6, 7, 21, 23, 28]. Масс-спектрометры нового поколения сверхвысокого разрешения с ESI обеспечивают точность определения массы с погрешностью <0,0005%, например: TripleTOF 6600, SCIEX – <0,0002%; Orbitrap Exploris 240, Thermo Fisher Scientific – <0,0003%; TripleTOF 7600, SCIEX – <0,0001%, что позволяет однозначно определять массы пептидов.

### Регуляторные требования к методикам пептидного картирования

Несмотря на вариативность условий анализа, все методики пептидного картирования должны соответствовать регуляторным требованиям. Государственная фармакопея Российской Федерации, Европейская фармакопея<sup>19</sup>, Фармакопея США<sup>20</sup> и Фармакопея Китайской Народной Республики<sup>21</sup> содержат гармонизированные требования к разработке и валидации методик пептидного картирования. Критерием надежности методики является покрытие

<sup>17</sup> Лебедев А, Артеменко К, Самгина Т. Основы масс-спектрометрии белков и пептидов. М.: Техносфера; 2012.

<sup>18</sup> Там же.

<sup>19</sup> 2.2.55 Peptide mapping. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2021.

<sup>20</sup> <1055> Biotechnology-derived articles – Peptide mapping. USP 43–NF 38. Rockville; 2009.

<sup>21</sup> B05 – Peptide mapping. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Beijing; 2020.

аминокислотной последовательности белков по ВЭЖХ с УФ-спектроскопическим детектированием  $\geq 95\%$ . На пептидной карте должны присутствовать пики всех пептидных фрагментов, содержащих участки, обеспечивающие фармакологическую активность индивидуального белка или ЛС. Отсутствие отдельных пиков обосновывают при разработке и валидации методики испытания и указывают в нормативной документации на ЛС. Характеристические пики выбирают среди наиболее интенсивных и хорошо воспроизводимых сигналов, соответствующих гипервариабельным участкам белка (CDR участки). Разработку и аннотирование пептидного картирования допускается проводить на охарактеризованном внутреннем стандартном образце белка<sup>22</sup>.

Важно включение в методику испытания четких критериев соответствия, а также пределов допустимого отклонения от них системы и оценки соответствия анализируемого белка стандартному образцу. Общие требования к критериям соответствия, предъявляемым к методикам пептидного картирования, описаны в статье [31] и в фармакопее<sup>23</sup>. Необходимо оценивать соответствие полученной пептидной карты стандартного образца пептидной карте, прилагаемой к указанному стандартному образцу, а именно: общее число и последовательность пиков, их относительная интенсивность, наличие всех характеристических пиков<sup>24</sup>.

При разработке условий проведения хроматографии минимизируют коэлюирование и неполное разрешение пиков, которые могут привести к снижению воспроизводимости хроматографического профиля белка в рамках рутинного контроля ЛС. Особенно это важно для критических пар пиков, относящихся к гипервариабельным сайтам, сайтам конъюгации или другим характеристическим последовательностям. Для критических пар устанавливают критерий к разрешению пиков, который будет обеспечивать достоверную воспроизводимость площадей или высот пиков в установленном диапазоне.

Прецизионность хроматографической системы оценивается по числовым показателям характеристических пиков – времени удерживания или относительного времени удерживания, интенсивности или относительной интенсивности характеристических пиков (высота или площадь пика), величине относительного стандартного

отклонения. Отсутствие пиков в интервале, соответствующем времени выхода пиков пептидных фрагментов идентифицируемого белка, на хроматограмме образца без исследуемого белка также необходимо подтверждать.

Все методики должны быть валидированы<sup>25</sup>. К критическим параметрам методики пептидного картирования, подлежащим валидации, относятся специфичность, разрешающая способность, прецизионность, устойчивость, а также полнота проведенного гидролиза. Учитывая вариабельность пептидных карт, методика должна содержать все возможные примеры хроматограмм типичных пептидных карт стандартного и испытываемого образцов с указанием пиков (групп пиков) характеристических пептидных фрагментов (реперных пиков). Присутствие на пептидной карте испытываемого образца пиков, несопоставимых с пептидной картой стандартного образца, кроме областей выхода реперных пиков, их количество, время выхода и интенсивность (относительная интенсивность) должны быть обоснованы. Оценка подлинности ЛС должна включать сравнение полученных пептидных карт испытываемого и стандартного образцов [31].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пептидное картирование остается ключевым инструментом подтверждения подлинности и качества современных биофармацевтических препаратов в полном соответствии с требованиями руководств ICH и ведущих мировых фармакопейных статей. Несмотря на появление новых подходов к проведению пептидного картирования, методика остается сложной, многостадийной и достаточно вариативной процедурой, которая должна соответствовать регуляторным требованиям.

Несмотря на доминирующую роль модифицированного рекомбинантного трипсина, развитие методологии смещается в сторону использования альтернативных протеаз и их комбинаций, что является критическим условием для достижения полного покрытия аминокислотной последовательности. Систематизация современных подходов показала, что внедрение коммерческих экспресс-систем и автоматизированных платформ на основе иммобилизованных ферментов наиболее перспективно для преодоления методологической гетерогенности. Это позволяет сократить время пробоподготовки

<sup>22</sup> ОФС.1.7.2.0035.18 Пептидное картирование. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>23</sup> Там же.

<sup>24</sup> Там же.

<sup>25</sup> ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

и минимизировать риски возникновения аналитических артефактов (таких как деамидирование или окисление), а также значительно повысить межлабораторную воспроизводимость результатов, что напрямую отвечает запросам регуляторных органов к валидации высокотехнологичных методов анализа.

Дальнейшее развитие области, вероятно, будет связано с интеграцией автоматизированных систем online-протеолиза и алгоритмов глубокого обучения для интерпретации масс-спектрометрических данных, что окончательно закрепит статус пептидного картирования как высокопроизводительного промышленного стандарта.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Климов НА, Симбирцев АС. *Терапевтические моноклональные антитела*. СПб: Фолиант; 2021.
2. Халимова АА, Орлов АС, Таубэ АА. Анализ локализации производства биотехнологических лекарственных препаратов в России с учетом происхождения активных фармацевтических субстанций. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(1):53–61. Khalimova AA, Orlov AS, Taube AA. Analysis of biopharmaceutical manufacturing localisation in Russia considering the country of origin of active pharmaceutical ingredients. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(1):53–61 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-1-53-61>
3. Muriithi B, Ippoliti S, Finny A, et al. Clean and complete protein digestion with an autolysis resistant trypsin for peptide mapping. *J Proteome Res*. 2024;23(11):5221–8. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.4c00598>
4. Gogesch P, Dudek S, van Zandbergen G, et al. The role of Fc receptors on the effectiveness of therapeutic monoclonal antibodies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8947. <https://doi.org/10.3390/ijms22168947>
5. Menneteau T, Saveliev S, Butre C, et al. Addressing common challenges of biotherapeutic protein peptide mapping using recombinant trypsin. *J Pharm Biomed Anal*. 2024;243:116124. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116124>
6. Dong Q, Yan X, Liang Y, et al. Comprehensive analysis of tryptic peptides arising from disulfide linkages in NISTmAb and their use for developing a mass spectral library. *J Proteome Res*. 2021;20(3):1612–29. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00823>
7. Peng W, Pronker MF, Snijder J. Mass spectrometry-based de novo sequencing of monoclonal antibodies using multiple proteases and a dual fragmentation scheme. *J Proteome Res*. 2021;20(7):3559–66. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00169>
8. Fang JT, Wang ST, Wang H, Fang WJ. A novel peptide mapping method utilizing cysteine as a reducing agent. *Pharm Res*. 2025;42(1):173–84. <https://doi.org/10.1007/s11095-024-03805-z>
9. Ren Y, Shi Z, Zhang C, et al. Evaluation and minimization of over-alkylation in proteomic sample preparation. *Int J Mass Spectrom*. 2022;481:116919. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2022.116919>
10. Зубарева ЕВ, Дегтерев МБ, Неронова МЮ и др. Разработка и валидация методики пептидного картирования инновационного препарата ингибитора С1 эстеразы. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(2):203–18. Zubareva EV, Degterev MD, Neronova MYu, et al. Development and validation of a peptide-mapping procedure for a novel C1 esterase inhibitor. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(2):203–18 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-2-203-218>
11. Li X, Rawal B, Rivera S, et al. Improvements on sample preparation and peptide separation for reduced peptide mapping based multi-attribute method analysis of therapeutic monoclonal antibodies using lysyl endopeptidase digestion. *J Chromatogr A*. 2022;1675:463161. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463161>
12. Lam AK, Zhang J, Frabutt D, et al. Fast and high-throughput LC-MS characterization, and peptide mapping of engineered AAV capsids using LC-MS/MS. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2022;27:185–94. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2022.09.008>
13. Jakes BC, Millán-Martín S, Kristensen DB, et al. Enhancing peptide mapping sequence coverage through an automated dual protease digest. *LC GC Europe*. 2023;36(7):246–54. <https://doi.org/10.56530/lcgc.eu.zq5389j9>
14. Cui C, Liu T, Chen T, et al. Comprehensive identification of protein disulfide bonds with pepsin/trypsin digestion, Orbitrap HCD and Spectrum Identification Machine. *J Proteomics*. 2019;198:78–86. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.010>
15. Toole EG, Dufresne C, Ray S, et al. Rapid highly-efficient digestion and peptide mapping of adeno-associated viruses. *Anal Chem*. 2021;93(30):10403–10. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c02117>
16. Kim SH, Kim SS, Kim HJ, et al. Peptide mapping analysis of synthetic semaglutide and liraglutide for generic development of drugs originating from recombinant DNA technology. *J Pharm Biomed Anal*. 2025;256:116682. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2025.116682>
17. Dau T, Bartolomucci G, Rappsilber J. Proteomics using protease alternatives to trypsin benefits from sequential digestion with trypsin. *Anal Chem*. 2020;92(14):9523–7. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00478>
18. Wang T, Huang ZA, Zhou M, et al. Drug deconjugation-assisted peptide mapping by LC-MS/MS to identify conjugation sites and quantify site occupancy for antibody-drug conjugates. *J Pharm Biomed Anal*. 2024;243:116098. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116098>
19. Dau T, Gupta K, Berger I, Rappsilber J. Sequential digestion with trypsin and elastase in cross-linking mass spectrometry. *Anal Chem*. 2019;91(7):4472–8. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05222>
20. Ryzhaya P, Pírek P, Zdráhal Z, Lochmanová G. Arg-C ultra simplifies histone preparation for LC-MS/MS. *Anal Chem*. 2025;97(24):12486–92. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5c02238>
21. Yang H, Li YC, Zhao MZ, et al. Precision de novo peptide sequencing using mirror proteases of Ac-LysargiNase and Trypsin for large-scale proteomics. *Mol Cell Proteomics*. 2019;18(4):773–85. <https://doi.org/10.1074/mcp.TIR118.000918>
22. Watts E, Bashyal A, Dunham SD, et al. Enhanced characterization of lysine-linked antibody drug conjugates enabled by middle-down mass spectrometry and higher-energy collisional dissociation-triggered electron-transfer/higher-energy collisional dissociation and ultraviolet photodissociation. *Antibodies (Basel)*. 2024;13(2):30. <https://doi.org/10.3390/antib13020030>
23. Millán-Martín S, Jakes C, Carillo S, et al. Inter-laboratory study of an optimised peptide mapping workflow using automated trypsin digestion for monitoring monoclonal

- antibody product quality attributes. *Anal Bioanal Chem.* 2020;412(25):6833–48. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02809-z>
24. Hernández-Corroto E, Sánchez-Milla M, Sánchez-Nieves J, et al. Immobilization of thermolysin enzyme on dendronized silica supports. Evaluation of its feasibility on multiple protein hydrolysis cycles. *Int J Biol Macromol.* 2020;165(Pt B):2338–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.138>
  25. Qian C, Niu B, Jimenez RB, et al. Fully automated peptide mapping multi-attribute method by liquid chromatography – mass spectrometry with robotic liquid handling system. *J Pharm Biomed Anal.* 2021;198:113988. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.113988>
  26. Sitasuwan P, Powers TW, Medwid T, et al. Enhancing the multi-attribute method through an automated and high-throughput sample preparation. *MAbs.* 2021;13(1):1978131. <https://doi.org/10.1080/19420862.2021.1978131>
  27. Liu YD, Stepurska K, Legg K, et al. Automation streamlines peptide map preparation, analysis and reporting for biotherapeutic antibody characterization. *Talanta.* 2026;298(B):128959. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2025.128959>
  28. Xing T, Li S, Tang S, et al. Distinct chemical degradation pathways of AAV1 and AAV8 under thermal stress conditions revealed by analytical anion exchange chromatography and LC-MS-based peptide mapping. *J Pharm Biomed Anal.* 2024;251:116452. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116452>
  29. Ping Jiang P, Li F, Ding J. Development of an efficient LC-MS peptide mapping method using accelerated sample preparation for monoclonal antibodies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2020;1137:121895. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121895>
  30. Ai Y, Xu J, Gunawardena HP, et al. Investigation of tryptic protein digestion in microdroplets and in bulk solution. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2022;33(7):1238–49. <https://doi.org/10.1021/jasms.2c00072>
  31. Ваганова ОА. Рекомендации по оформлению раздела нормативной документации на лекарственные средства: пептидное картирование. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2021;11(4):276–7. Vaganova OA. Recommendations for the contents of the "peptide mapping" part of a product specification file. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2021;11(4):276–7 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-4-276-277>
  32. Veenstra TD, Van QN, Fox SD, Issaq HJ. Chapter 14 – Protein and metabolite identification. In: Issaq HJ, Veenstra TD, eds. *Proteomic and metabolomic approaches to biomarker discovery.* 2nd ed. Academic Press; 2020. P. 247–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818607-7.00014-1>

**Вклад авторов.** Автор подтверждает соответствие своего авторства критериям ICMJE.

**Author's contributions.** Author confirms that she meets the ICMJE criteria for authorship.

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Попкова Александра Владимировна / Aleksandra V. Popkova

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8170-3139>

Поступила 19.08.2025

После доработки 11.02.2026



Принята к публикации 21.04.2026

Received August 19, 2025

Revised February 11, 2026

Accepted April 21, 2026



О.В. Гунар ✉   
Н.Г. Сахно 

## Трансфер микробиологических методик анализа качества 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*

✉ Гунар Ольга Викторовна; [gunar@expmed.ru](mailto:gunar@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Трансфер микробиологических методик – важный раздел трансфера аналитических методик как части трансфера технологии между производственными площадками одной или разных фармацевтических компаний, а также в контрактные лаборатории. Регуляторные и организационные аспекты передачи аналитических методик четко регламентированы и описаны в научной литературе, в то время как трансфер микробиологических методик, не выделенный в отдельную область, часто сопряжен с рядом трудностей, например с отсутствием специализированных помещений и квалифицированного персонала, разрешения на работу с патогенными микроорганизмами и др.

**ЦЕЛЬ.** Создание алгоритма трансфера микробиологических методик анализа качества лекарственных средств с учетом особенностей выполнения отдельных этапов процедуры трансфера.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Трансфер методики представляет собой взаимовыгодный процесс как для принимающей лаборатории, так и для передающей стороны. При подготовке трансфера микробиологической методики стороны проводят анализ и оценку рисков для качества по ряду критериев (оснащение лаборатории, персонал, документация СМК и др.), рассматривают возможности совмещения технологий, анализируют расхождения и вносят необходимые изменения. После этого составляют план трансфера, который содержит методические особенности проведения валидационных испытаний, параметры и критерии приемлемости. Алгоритм трансфера микробиологических методик предполагает наличие аттестованных помещений, лицензии на работу с микроорганизмами 3–4 групп патогенности, обученного персонала по специальностям «Микробиология» и «Биобезопасность работы с микроорганизмами». При этом передающая и принимающая стороны могут реализовывать программы обучения персонала совместно. Фармакопейные методики в трансфере не нуждаются. При использовании альтернативной микробиологической методики требуются масштабные сравнительные валидационные исследования.

**ВЫВОДЫ.** Перенос микробиологических методик является наиболее критичной частью процесса трансфера на фармацевтическом предприятии, которая базируется в настоящее время на ОФС.1.1.0030 ГФ РФ, ОФС.2.3.16.0 ФЕАЭС и Руководстве ЕЭК от 08.06.2021 № 11. В процедуру трансфера могут быть внесены обоснованные дополнения, касающиеся функционирования конкретной лаборатории, включая микробиологический мониторинг, валидацию очистки и др.

**Ключевые слова:** трансфер технологии; микробиологическая методика; валидация; лекарственное средство; алгоритм; документация

**Для цитирования:** Гунар О.В., Сахно Н.Г. Трансфер микробиологических методик анализа качества лекарственных средств. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2026;16(2):229–237. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-229-237>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Olga V. Gunar   
Nadezhda G. Sakhno 

## Transfer of Microbiological Methods for the Pharmaceuticals Quality Control

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

✉ *Olga V. Gunar; [gunar@expmed.ru](mailto:gunar@expmed.ru)*

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** The transfer of microbiological methods is an important aspect of analytical methods transfer as part of technology transfer between production sites of the same or different pharmaceutical companies, as well as to contract laboratories. The regulatory and organizational aspects of analytical method transfer are clearly defined and described in the scientific literature, while the transfer of microbiological methods, when not specifically identified as a separate area, often presents a number of challenges, for instance lack of specialized premises and qualified staff, permission to work with pathogenic microorganisms, etc.

**AIM.** Developing an algorithm for the transfer of microbiological methods for drug quality analysis, taking into account the specifics of individual transfer procedure steps.

**DISCUSSION.** Method transfer is a mutually beneficial process for both the receiving and the transferring parties. When preparing for the transfer of a microbiological method, the parties analyze and assess quality risks across a number of criteria (lab equipment, staff, QMS documentation, etc.), consider the possibility of combining technologies, analyze discrepancies, and make any necessary changes. A transfer plan is then developed; it includes methodological specifications for validation testing, parameters, and acceptance criteria. The microbiological method transfer algorithm requires certified facilities, a license to work with microorganisms of pathogenicity groups 3–4, and trained staff specialized in microbiology and microbial biosafety. The transferring and receiving parties can jointly implement staff training programs. Official pharmacopoeial methods do not require transfer. Using alternative microbiological methods extensive comparative validation studies are required.

**CONCLUSIONS.** The transfer of microbiological methods is the most critical part of the transfer process at a pharmaceutical company, which is currently based on OFS.1.1.0030 GF RF, OFS 2.3.16.0 FEAEU, and EEC Guideline No. 11 dated June 8, 2021. Reasonable amendments to the transfer procedure may be made regarding the functioning of a specific laboratory, including microbiological monitoring, cleaning validation, etc.

**Keywords:** technology transfer; microbiological methodology; validation; pharmaceutical; algorithm; documentation

**For citation:** Gunar O.V., Sakhno N.G. Transfer of microbiological methods for the pharmaceuticals quality control. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(2):229–237. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-2-229-237>

**Funding.** The study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00061-26-00 (R&D Registry No. 124022300127-0).

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

С появлением высокотехнологичных лекарственных препаратов, развитием инноваций и науки большое значение приобрел трансфер технологий, который способствует применению новых научных разработок и технологических достижений на практике [1]. Растущее количество научных работ в этой области свидетельствует о мировом значении проблемы трансфера фармацевтических технологий (рис. 1).

Трансфер технологий включает три компонента: организационный, аналитический и технологический. Организационный компонент охватывает управленческую деятельность, связанную с изучением технологии, планированием передачи и разработкой соответствующей документации; аналитический компонент относится к передаче методов контроля качества, технологический фокусируется на фактической передаче технологии производства готового продукта и ее валидации [2].

Трансфер методик анализа лекарственных средств (ЛС) играет чрезвычайно важную роль

в процессах фармацевтического производства в Российской Федерации, странах Евразийского экономического союза и других государствах. Понятие «трансфер» определяют как передачу аналитической методики контроля лекарственного препарата (ЛП) как в рамках одной организации, так и за ее пределы (рис. 2) [3].

Регуляторные и организационные аспекты передачи аналитических методик (например, методик определения примесей) достаточно подробно описаны в научной литературе [4–8] и четко отрегулированы<sup>1</sup>. Трансфер микробиологических методик, не выделенный в отдельную область, представляет собой важный раздел трансфера аналитических методик как части трансфера технологии. Несмотря на то что валидация различных микробиологических методик представляет собой хорошо изученную процедуру [9–12], трансфер микробиологических методик часто сопряжен с рядом трудностей, таких как отсутствие специализированных помещений и квалифицированного персонала, разрешения на работу с патогенными микроорганизмами и др.

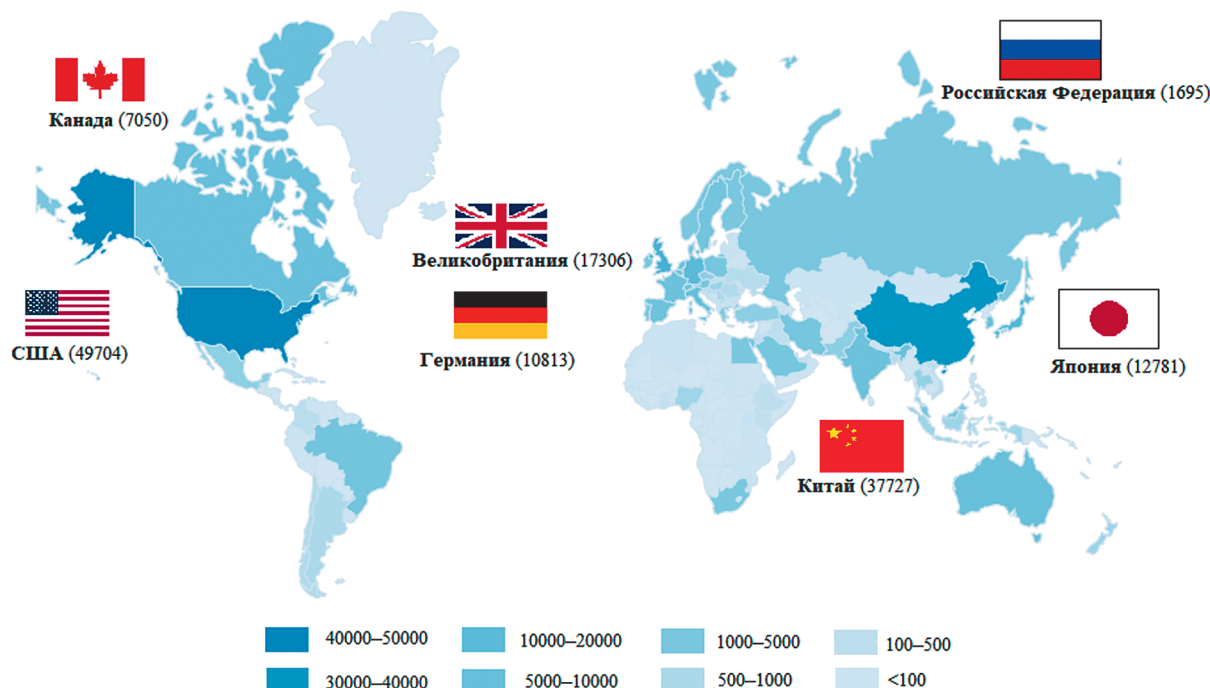


Рисунок подготовлен авторами на основании данных базы Lens.org / The figure is prepared by the authors based on data from the Lens.org database<sup>2</sup>

**Рис. 1.** Количество научных работ, посвященных трансферу фармацевтических технологий. Поисковый запрос: «*pharmaceutical technology transfer*»

**Fig. 1.** Number of scholarly work dedicated to the transfer of pharmaceutical technologies. Search key: “*pharmaceutical technology transfer*”

<sup>1</sup> Transfer of analytical procedures. WHO Technical Report Series, No. 961, Annex 7, WHO; 2011.

Good practice guide: Technology transfer. 3rd ed. ISPE; 2018.

<1224> Transfer of analytical procedures. USP 43 – NF 38. Rockville; 2019.

<sup>2</sup> <https://www.lens.org>

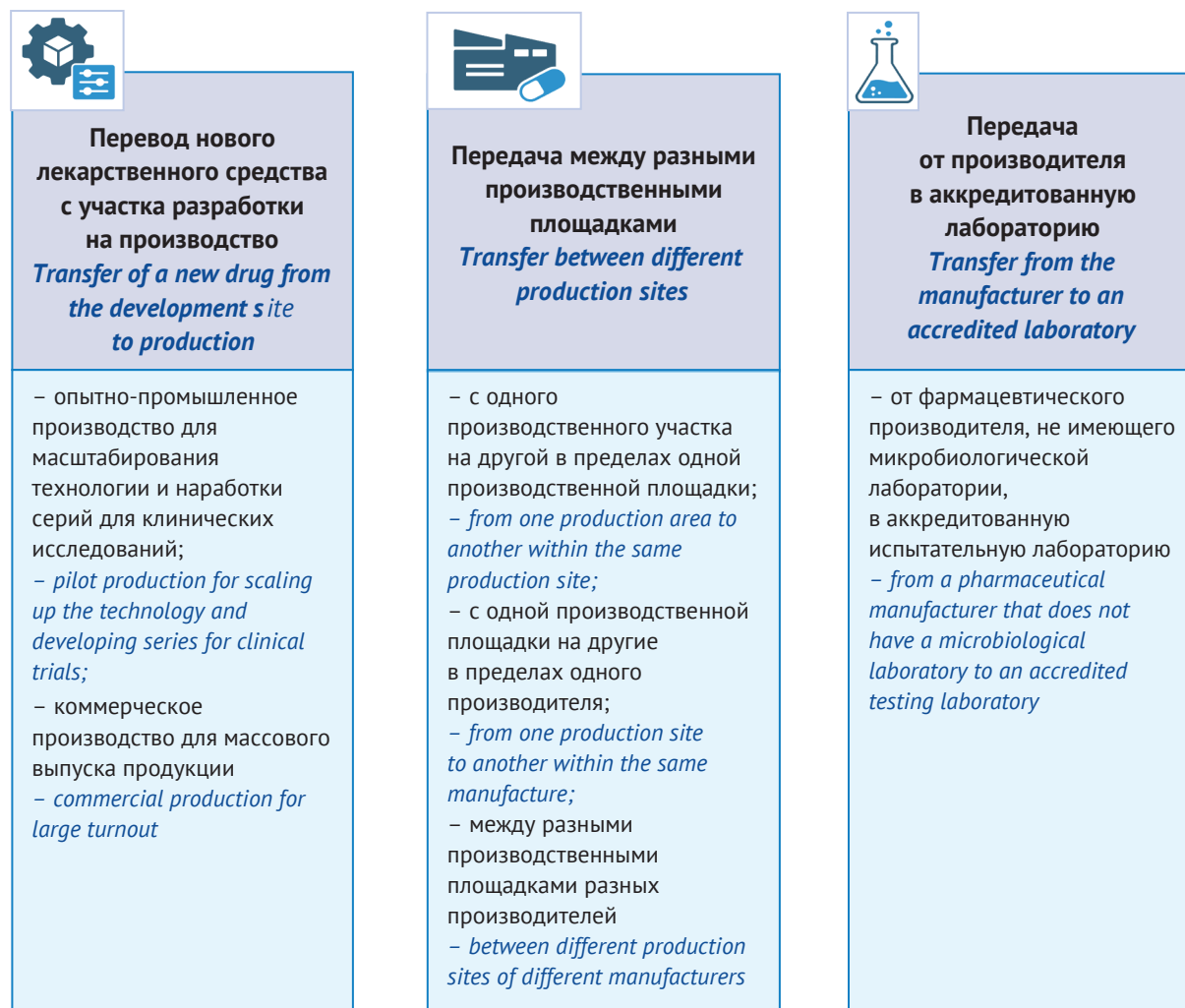


Рисунок подготовлен авторами с помощью BioRender.com / The figure was prepared by the authors by using BioRender.com

Рис. 2. Сценарии трансфера аналитических методик

Fig. 2. Transfer of analytical methods scenarios

Учитывая ключевое значение микробиологических показателей качества для обеспечения безопасности применения ЛС, особого внимания требует передача микробиологических методик испытания качества ЛС от фармацевтического производителя, не имеющего микробиологической лаборатории, в аккредитованную испытательную лабораторию.

Цель работы – создание алгоритма трансфера микробиологических методик анализа качества лекарственных средств с учетом особенностей выполнения отдельных этапов процедуры трансфера.

Для достижения указанной цели были поставлены и последовательно решены следующие задачи:

1. Изучение научной литературы, актуальной фармакопейной, нормативной и иной документации, касающейся трансфера методик анализа

качества ЛС, включая микробиологические методики.

2. Разработка алгоритма трансфера микробиологических методик.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Нормативная база. Общие принципы трансфера микробиологических методик

Согласно документации Евразийского экономического союза (ЕАЭС) трансфер (перенос) аналитических методик (ТАМ) – документированная процедура, которая предоставляет полномочия лаборатории принимающей стороны использовать аналитическую методику, разработанную передающей стороной, с гарантией того, что принимающая сторона обладает знаниями и способностями выполнять анализ по методике, возможностью проводить испытания и адекватно оценивать результат. При этом передача аналитической методики может выполняться

индивидуально, а может быть этапом переноса технологий, включая трансфер микробиологических методик<sup>3</sup>.

Приказом Минздрава России от 20.07.2023 № 377<sup>4</sup> утверждено XV издание Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ), содержащее ОФС.1.1.0030 «Перенос (трансфер) аналитических методик»<sup>5</sup>, в которой установлены общие требования к проведению переноса аналитических методик и правила составления документации трансфера, а также рассмотрены случаи, не требующие трансфера. Прямое указание на правила переноса микробиологических методик в ГФ РФ отсутствует, однако в подразделе «Термины и определения» ОФС.1.1.0030 дана расшифровка понятия «аналитические методики», согласно которому в состав аналитических методик включают физические, химические, физико-химические и биологические методики. Поэтому стандартный подход при трансфере микробиологических методик базируется на ОФС.1.1.0030, гармонизированной с ОФС.2.3.16.0<sup>6</sup> части 2 первого тома Фармакопеи ЕАЭС (ФЕАЭС).

Подход к трансферу на фармацевтическом производстве, описанный в ОФС.2.3.16.0 ФЕАЭС, носит рекомендательно-информационный характер, что позволяет специалистам вносить обоснованные коррективы с учетом особенностей конкретных предприятий и производственных технологий как в процесс трансфера, так и в его документальное оформление. Трансфер методики представляет собой взаимовыгодный процесс для обеих сторон<sup>7</sup>.

1. Для принимающей лаборатории:

- освоение новой методики;
- обучение специалистов;
- использование валидированных методик для анализа образцов;
- подготовка пакета документации для аудита;
- подтверждение соответствия требованиям Правил надлежащей производственной практики (GMP).

2. Для передающей лаборатории:

- уверенность в качестве выполняемых испытаний;
- получение дополнительных данных для анализа тенденций и стабильности результатов;
- возможность делегировать проведение анализа другой лаборатории;
- ведение документации для регуляторных проверок.

### Оценка осуществимости и подготовка трансфера микробиологической методики

При подготовке трансфера микробиологической методики стороны проводят анализ и оценку рисков для качества ЛП, в ходе которых, как правило, рассматривают возможности совмещения технологий и анализируют расхождения, в том числе с учетом таких факторов<sup>8</sup>, как:

- количество выполняемых анализов;
- особенности и критические компоненты оборудования (например, фильтры, датчики температуры и давления и др.);
- механизмы закупки, приемки, входного контроля и управления материальными запасами (тест-штаммы микроорганизмов, питательные среды, растворы реактивов, расходные материалы и др.);
- валидационная политика в отношении аттестации/квалификации чистых помещений, инженерных систем, оборудования и др.;
- особенности обращения с отходами различных классов опасности<sup>9</sup>;
- нормативные требования различных государств при выполнении межгосударственного трансфера.

На данном этапе могут производиться опытно-промышленные (пилотные) серии ЛП с целью обучения персонала и выработки у персонала принимающей стороны навыков воспроизведения не только технологии, но и передаваемых методик. По результатам проведенной работы по анализу рисков могут осуществляться

<sup>3</sup> Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза».

<sup>4</sup> Приказ Минздрава России от 20.07.2023 № 377 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей».

<sup>5</sup> ОФС.1.1.0030 Перенос (трансфер) аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>6</sup> 2.3.16.0. Трансфер аналитических методик. Фармакопея Евразийского экономического союза. М.; 2024.

<sup>7</sup> Lievin S. Analytical method transfer: A practical step-by-step guide to compliance and efficiency. <https://www.qbdgroup.com/en/blog/analytical-method-transfer-steps>

<sup>8</sup> 2.3.16.0. Трансфер аналитических методик. Фармакопея Евразийского экономического союза. М.; 2024.

<sup>9</sup> Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 3 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

изменения и модификации методики, согласованные обеими сторонами, проведенные через систему контроля изменений и надлежащим образом оформленные.

Документальные и практические подходы к трансферу методик анализа качества ЛС описаны в Руководстве ЕЭК от 08.06.2021 № 11<sup>10</sup>. Трансферу могут подлежать методики, предназначенные для контроля: активных фармацевтических субстанций (АФС); лекарственных препаратов (твердых, мягких, жидких лекарственных форм, трансдермальных систем, форм для ингаляций); промежуточных продуктов; вспомогательных веществ; внутрипроизводственного процесса (методики микробиологического мониторинга, валидации очистки и др.).

В таблице 1 Руководства ЕЭК от 08.06.2021 № 11<sup>11</sup> приведены показатели качества, подлежащие трансферу. Определение микробиологической чистоты или стерильности предусмотрено для всех объектов анализа. Однако в примечании <3> к таблице 1 указано, что позиция «Микробиологическая чистота» относится только к тем активным фармацевтическим субстанциям, которые поддерживают микробиологический рост. Вероятно, к таким образцам могут относиться АФС, обладающие бактерицидным или фунгицидным действием или определенными физико-химическими свойствами (например, низкой активностью воды), позволяющими исключить микробиологические показатели из спецификации. Важно отметить, что внесение подобных изменений должно быть обосновано и подтверждено материалами экспериментальных исследований.

Фармакопейные методики не нуждаются в трансфере [13]. Если фармакопейный метод допускает различное исполнение, а методика доработана и валидирована передающей стороной для конкретного производства, то трансфер такой методики необходим.

### Особенности проведения трансфера микробиологической методики

В план проведения испытаний при переносе микробиологических методик необходимо внести следующее<sup>12</sup>.

#### 1. Аспекты анализа и оценки:

- обоснование требований к качеству и критерии приемлемости, особенности пробоподготовки перед испытанием;

- валидационные (верификационные) параметры и критерии их оценки;
  - правила работы с результатами, выходящими за пределы спецификации, и требования в отношении последующих мероприятий при получении подобных результатов;
  - способы приготовления посевного материала (инокулята) тест-микроорганизмов необходимой концентрации.
2. Количество повторений – испытание проводят минимум в 3 повторностях.
  3. Условия проведения – необходимо использовать для каждой валидационной процедуры различных серий препарата как минимум 3 питательных среды для каждой валидационной повторности.
  4. Критерии приемлемости, установленные в зависимости от вида передаваемой методики.

При выполнении трансфера необходимо соблюдать документально оформленный, спланированный подход ко всем этапам разработки, производства и контроля качества ЛС при соблюдении принципов целостности данных и управления рисками для качества.

Участие в процессах специально обученного и квалифицированного персонала, работающего в рамках системы менеджмента качества (СМК), следует документально подтверждать, а успешность трансфера микробиологических методик оформлять на основании следующих критериев [14]:

- наличие документированного подтверждения способности специалистов выполнять микробиологический анализ, т.е. наличия навыков, знаний и умений у персонала принимающей стороны;
- наличие специализированных помещений, квалифицированного специфического микробиологического оборудования и технических средств, расходных материалов, питательных сред и необходимых реактивов;
- наличие всей разработанной документации СМК (СОП, апробированных методик, планов валидации, протоколов, отчетов и др.);
- соблюдение запланированного бюджета;
- валидация микробиологической методики принимающей стороной (при необходимости).

При проведении трансфера микробиологических методик целесообразно учитывать вид микробиологических передаваемых методик

<sup>10</sup> Рекомендация Коллегии ЕЭК от 08.06.2021 № 11 «О Руководстве по трансферу технологий и (или) аналитических методик при производстве лекарственных средств».

<sup>11</sup> Там же.

<sup>12</sup> Там же.

(количественные, качественные методики или идентификация выделенных микроорганизмов-контаминантов) [1, 3, 8].

Критериями успешного трансфера считают:

- для количественных методик – соответствие установленного содержания микроорганизмов указанным в протоколе допустимым пределам;
- для качественных методик – отсутствие конкретных (или абсолютно всех) недопустимых в ЛС микроорганизмов;
- для методик идентификации микроорганизмов – достоверный результат теста определения отдельных видов бактерий, дрожжеподобных грибов рода *Candida* и др.

При передаче методики определения микробиологической чистоты ЛС перед проведением валидационных исследований определяют исходный уровень контаминации испытуемых образцов. При отсутствии в ЛС микроорганизмов-контаминантов модельные образцы целесообразно искусственно инокулировать определенным количеством тест-микроорганизмов, включая отдельные нормируемые виды бактерий (например, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и др.), которые при трансфере необходимо выделить с требуемым уровнем правильности и прецизионности [10–13].

При подтверждении сторонами возможности выполнять анализ ЛС по показателю «Стерильность» целесообразно проводить испытания модельных образцов, не содержащих никаких микроорганизмов-контаминантов, т.е. стерильных препаратов. Выполнение указанного испытания продемонстрирует навык и умение специалистов-микробиологов делать посев образца на определенные питательные среды в контролируемых асептических условиях класса А и получать достоверные результаты. Перед проведением исследований определяют антимикробное действие образца и при необходимости подбирают способы его устранения, доказывая применимость методики путем верификации<sup>13</sup> [7, 11, 13].

При использовании альтернативной микробиологической методики требуются масштабные сравнительные валидационные исследования

со статистическим расчетом всех параметров в соответствии с действующей ОФС «Валидация микробиологических методик»<sup>14</sup>.

Различия в полученных сторонами результатах, если это зафиксировано в протоколе трансфера, можно объяснить вариабельностью микробиологических исследований.

### Алгоритм трансфера микробиологических методик

Изучение документации, рассмотрение ключевых моментов переноса микробиологических методик и критериев успешности процесса позволяют перейти к алгоритму трансфера (рис. 3).

Глобальным риском передачи методик являются различия в трактовках нормативной документации и методических подходах к выполнению испытаний ЛС у передающей и принимающей лабораторий [4]. В связи с этим ключевую роль в этом процессе играет оценка осуществимости и готовности к трансферу. Эта оценка включает в себя несколько блоков (рис. 3), среди которых особое значение имеют аудит принимающей стороны и установление критериев принятия трансфера. Выбор стратегии трансфера и планирование сравнительных испытаний осуществляют на основании риск-ориентированного подхода, имеющего цель исключить недопонимания, неверные интерпретации и другие существующие разногласия между сторонами процесса.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перенос микробиологических методик – это наиболее критичная часть процесса трансфера методик на фармацевтическом предприятии, которая базируется по состоянию на 2026 г. на ОФС.1.1.0030 ГФ РФ<sup>15</sup>, ОФС.2.3.16.0 ФЕАЭС<sup>16</sup> и Руководстве ЕЭК от 08.06.2021 № 11<sup>17</sup>. В процедуру трансфера могут быть внесены обоснованные дополнения, касающиеся функционирования конкретной лаборатории, включая микробиологический мониторинг, валидацию очистки и др.

Условиями применения алгоритма трансфера микробиологических методик являются наличие аттестованных помещений, наличие лицензии на работу с микроорганизмами

<sup>13</sup> ОФС.1.1.0021.18 Валидация микробиологических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

<sup>14</sup> Там же.

<sup>15</sup> ОФС.1.1.0030 Перенос (трансфер) аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>16</sup> 2.3.16.0. Трансфер аналитических методик. Фармакопея Евразийского экономического союза. М.; 2024.

<sup>17</sup> Рекомендация Коллегии ЕЭК от 08.06.2021 № 11 «О Руководстве по трансферу технологий и (или) аналитических методик при производстве лекарственных средств».



Рисунок подготовлен авторами с помощью BioRender.com / The figure was prepared by the authors by using BioRender.com

**Рис. 3.** Алгоритм трансфера микробиологических методик

**Fig. 3.** Algorithm for the transfer of microbiological methods

3–4 групп патогенности и обученного персонала по специальностям «Микробиология» и «Биобезопасность работы с микроорганизмами». При этом передающая и принимающая стороны могут реализовывать программы обучения персонала совместно.

Трансфер альтернативной микробиологической методики требует выполнения валидационной процедуры, в то время как при передаче фармакопейной микробиологической методики достаточно проведения ее верификации принимающей стороной.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Burdick RK. Comparison of analytical procedures in method transfer and bridging experiments. *AAPS J.* 2023;25(5):74. <https://doi.org/10.1208/s12248-023-00834-1>
- Tleubekova DA, Turlybayeva ZZ, Sadanov AK, et al. Stages of technology transfer in the development of pharmaceutical production. *Microbiology and Virology.* 2024;(4):77–86. <https://doi.org/10.53729/MV-AS.2024.04.05>
- Reid GL. Chapter 6 – Analytical method transfer. In: Riley CM, Rosanske TW, Reid GL, eds. *Specification of drug substances and products.* 2nd ed. Elsevier; 2020. P. 125–48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102824-7.00006-3>
- Старчак ЮА, Гаврилин МВ, Шинева НВ. Трансфер аналитических методик (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2020;9(3):182–7. Starchak YuA, Gavrillin MV, Shineva NV. Transfer of analytical procedures (Review). *Drug Development & Registration.* 2020;9(3):182–7 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-182-187>
- Riley CM, Rosanske TW, Reid GL. Analytical method transfer. In: Riley CM, Rosanske TW, Reid GL, eds. *Specification of drug substances and products.* 2nd ed. Elsevier; 2020. P. 125–48.
- Эпштейн НА. Трансфер методик определения примесей: сравнительное испытание, валидация, критерии приемлемости (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(2):137–46. Epshtein NA. Transfer of impurities determination methods: Comparative testing, validation, acceptance criteria (review). *Drug Development & Registration.* 2021;10(2):137–46 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-137-146>
- Кулешова СИ. Перенос (трансфер) методик, параметры валидации/верификации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2017;7(2):77–80. Kuleshova SI. Transfer of methods, and parameters of validation/verification. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2017;7(2):77–80 (In Russ.). EDN: [YSDMKR](https://doi.org/10.1208/s12248-023-00834-1)
- Разборова МА. Рекомендации Международной ассоциации фармацевтического инжиниринга к трансферу аналитических методик контроля качества лекарственного препарата. *Фармацевтическое дело и технология лекарств.* 2021;(5):77–9. Razborova MA. International Society for Pharmaceutical Engineering guidelines on transfer of analytical methods of quality control for medical preparation. *Pharmaceutical Business and Drug Technology.* 2021;(5):77–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.33920/med-13-2110-07>
- Agalloco J, De Santis P, Grilli A, Pavell A, eds. *Handbook of validation in pharmaceutical processes.* 4th ed. CRC Press; 2021. <https://doi.org/10.1201/9781003163138>
- Peris-Vicente J, Carda-Broch S, Esteve-Romero J. Validation of rapid microbiological methods. *J Lab Autom.* 2015;20(3): 259–64. <https://doi.org/10.1177/2211068214554612>
- Гунар ОВ, Сахно НГ, Абрамович ПА. *Основы валидации микробиологических методик фармацевтического анализа.* 2-е изд. М.: РУДН; 2020.
- Roshchina MV, Gunar OV, Sakhno NG. Approaches to validation of an alternative method for determining the sterility of high-tech medicines. *Pharm Chem J.* 2025;59(2):258–65. <https://doi.org/10.1007/s11094-025-03386-0>
- Rieth M. Rapid microbiological methods. In: Rieth M, ed. *Pharmaceutical microbiology: Best practices, validation, quality assurance.* Wiley-VCH GmbH; 2025. <https://doi.org/10.1002/9783527848713.ch10>
- Verch T, Campa C, Chéry CC, et al. Analytical quality by design, life cycle management, and method control. *AAPS J.* 2022;24(1):34. <https://doi.org/10.1208/s12248-022-00685-2>

**Вклад авторов.** Авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: О.В. Гунар – идея выполнения исследования, редактирование текста рукописи, критический просмотр содержания рукописи; Н.Г. Сахно – подбор и анализ литературы, написание текста рукописи.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Olga V. Gunar* conceptualized the study, edited and critically reviewed the manuscript. *Nadezhda G. Sakhno* searched and analyzed literature data, and drafted the manuscript.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Гунар Ольга Викторовна, д-р фарм. наук / **Olga V. Gunar**, Dr. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

Сахно Надежда Геннадьевна, канд. фарм. наук / **Nadezhda G. Sakhno**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1773-7423>

Статья поступила 20.01.2026

После доработки 03.03.2026

Принята к публикации 21.04.2026

Received January 20, 2026

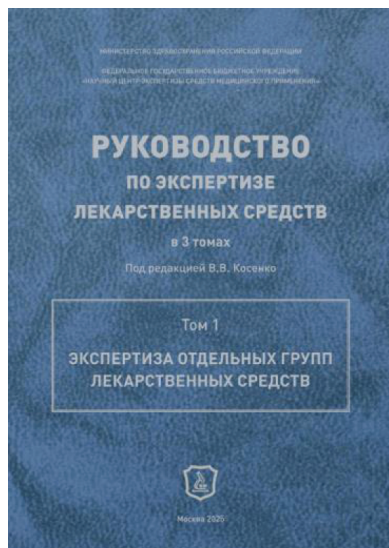
Revised March 3, 2026

Accepted April 21, 2026



2025

# РУКОВОДСТВО по экспертизе лекарственных средств в 3 томах



Руководство подготовлено на основе национального законодательства в сфере обращения лекарственных средств, нормативных правовых актов Евразийского экономического союза и правил Европейского агентства по лекарственным средствам.



**Том 1. Экспертиза отдельных групп лекарственных средств**

**Том 2. Экспертиза биологических лекарственных препаратов**

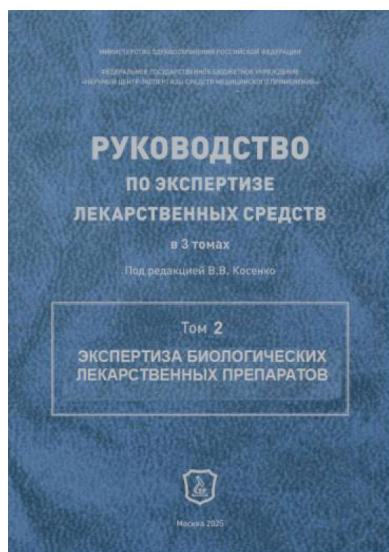
**Том 3. Экспертиза качества и безопасность лекарственных средств**



Адресовано исследователям, занимающимся разработкой новых лекарственных препаратов, а также специалистам, осуществляющим экспертизу регистрационных досье.



Включение данного руководства в нормативную базу ЕАЭС создаст предпосылки для вывода российских препаратов на европейский рынок.



Подробнее  
о приобретении  
изданий на сайте  
[www.regmed.ru](http://www.regmed.ru)  
(вкладка «Издания»)



Экспертиза качества и безопасности  
лекарственных средств

Доклинические и клинические исследования

Разработка лекарственных препаратов



**Регуляторные исследования  
и экспертиза лекарственных средств**

