

Изложение методик высокоэффективной жидкостной хроматографии в стандартах качества лекарственных средств

И.В. Сакаева, А.И. Лутцева, О.А. Ваганова, А.А. Бендрышев, С.В. Швец

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

Резюме: В настоящее время назрела необходимость обсуждения изложения методик в нормативной документации по контролю качества лекарственных средств, основанных на использовании одного из самых распространенных на сегодняшний день методов испытаний – высокоэффективной жидкостной хроматографии. Отсутствие современных отечественных стандартов качества, регламентирующих требования к методу ВЭЖХ, повлекло за собой необходимость опираться на опыт зарубежного фармацевтического сообщества в части руководств, рекомендаций, общих и частных фармакопейных статей. В статье обсуждается изложение в нормативной документации по контролю качества лекарственных средств методик, основанных на использовании метода ВЭЖХ, с учетом востребованности этого метода в оценке качества лекарственных средств. Отмечена актуальность проблемы по разработке и утверждению единых подходов к изложению всех разделов нормативной документации, включающих условия анализа с использованием метода ВЭЖХ. Рассмотрены основные ошибки в изложении с точки зрения их критичного влияния на воспроизводимость методики и точность получаемых результатов. Проведенный анализ позволяет разъяснить требования комиссии экспертов ФГБУ «НЦЭСМП» к Заявителям по информационному наполнению методики ВЭЖХ, помогает упростить процесс проведения экспертизы качества лекарственных средств и уменьшить количество замечаний к методикам ВЭЖХ.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография; требования к методикам ВЭЖХ; ошибки при изложении методик ВЭЖХ.

THE DESCRIPTION OF HPLC METHODS IN DRUG QUALITY STANDARDS

I.V. Sakaeva, A.I. Lutseva, O.A. Vaganova, S.V. Shvets, A.A. Bendryshev

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

Abstract: At the moment there is an urgent need in discussing the requirements to the description order for widespread HPLC methods in normative documents on the quality control of medicines. Lack of modern domestic quality standards, regulatory requirements and the usage procedure for physical and chemical test methods in general and HPLC method in particular, resulted in the need to rely on the experience of foreign pharmaceutical community in terms of guidelines, recommendations, general pharmacopoeia chapters and pharmacopoeia monographs. The requirements to the description order of HPLC methods in normative documents on the quality control of medicines, taking into consideration the importance of the mentioned method in drug quality assessment are discussed. The urgency of the issue of developing and approving common approaches to the description of all the sections in regulatory documents, including the conditions for HPLC analytical method is outlined. Typical errors in the descriptions in relation to their critical impact on methods adequacy and repeatability. The performed analysis allows to clarify the requirements of the FSBI «SCEEMP» Commission of Experts to applicants in terms of HPLC methods information content, it also helps to simplify the process of the expert evaluation of drug quality of medicines and reduce the number of comments to HPLC methods.

Key words: high performance liquid chromatography; requirements to HPLC methods; errors in describing HPLC methods.

В ходе экспертизы документации и экспертизы качества лекарственных средств большое количество замечаний у экспертов Испытательного центра возникает при воспроизведении методик, использующих высокоэффективную жидкостную хроматографию (далее ВЭЖХ). По нашему мнению, это вызвано не только высокой востребованностью метода при оценке качества лекарственных средств, но и тем, что результаты испытаний методом ВЭЖХ в значительно большей степени, нежели результаты, получаемые многими другими физико-химическими методами, зависят от полноты описания методики.

Требования к изложению методик испытаний, использующих метод ВЭЖХ, регламентированы Государственной Фармакопеей а также изложены в ряде других изданий, имеющих статус руководящих доку-

ментов. Указанные документы включают общие положения и требования к изложению методик, но не содержат подробных указаний о необходимом объеме приводимой информации. Кроме того, технический уровень действующей в настоящее время общей статьи «Хроматография» Государственной фармакопеи СССР XI издания значительно отстал от современного уровня развития отрасли. В настоящее время правила изложения методик ВЭЖХ наиболее полно описаны в «Руководстве по экспертизе лекарственных средств», однако в силу поставленных перед указанным документом целей в нем не рассматриваются вопросы полноты приводимой информации и связанные с ними проблемы невоспроизводимости или неадекватности методик.

Отсутствие подробных и современных отечественных требований влечет за собой необходимость опи-

раться на зарубежный опыт, однако Европейская и Американская фармакопеи, а также документы *ICH*, *EMA*, *FDA* на территории РФ имеют статус рекомендательных документов, а не руководящих.

Тщательное изучение свойств методики и оценка всех хроматографических параметров, влияющих на точность и адекватность результата анализа, проводится при валидации методики, но валидация методики и ее изложение в НД преследуют различные цели. В последнем случае описание методики должно быть дано в такой полноте, которая необходима и достаточна для воспроизведения методики в любой технически компетентной лаборатории. Помимо информации о приготовлении необходимых растворов и получении хроматограмм, НД должен описывать процедуры, позволяющие гарантировать, что в ходе испытания хроматографическая система обеспечивает надлежащую точность получаемых результатов. Помимо этого, методика должна быть адекватна: модель, лежащая в основе описанной надлежащим образом методики, должна достаточно достоверно отражать испытуемый объект. Отсутствие в стандарте качества ЛС какой-либо информации или требований (например, проверки чувствительности хроматографической системы) не может быть аргументировано тем, что они приведены в зарубежной фармакопее, или измерены в ходе валидации, или приведены в стандартной операционной процедуре предприятия. До утверждения современной общей фармакопейной статьи по хроматографическим методам анализа полное описание методики должно быть включено в НД. Кроме того, в соответствии с действующим Руководством по валидации методик не требуется оценивать метрологические характеристики методики при её переносе в другую лабораторию, что может влиять на воспроизводимость. Нельзя также забывать, что в случаях выборочного, сертификационного контроля, а также контроля зарубежных ЛС при их ввозе на территорию РФ аналитик, проводящий испытания, может опираться только на текст НД, не обращаясь к зарубежным фармакопеям и не имея доступа к данным валидации и/или стандартным операционным процедурам предприятия-производителя.

Определение степени полноты описания методики в НД и составляет основу рассматриваемой проблемы. Изложенный материал обобщает опыт Испытательно-го центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ НЦЭСМП, полученный в ходе экспертизы документов и экспертизы качества образцов.

Предлагаемые далее наименования частей методики описывают суть излагаемой в них информации и являются условными. Рассмотрим каждую часть методики подробно.

«Наименование определяемого показателя»

Наименование определяемого показателя, должно соответствовать его формулировке в спецификации и соответствовать определяемым характеристикам анализируемого объекта.

«Термины и сокращения»

Данная часть методики необходима в случаях использования терминов и аббревиатур, не описанных в руководящих документах. Для однозначного понимания методики рекомендуем включить в текст расшифровку используемых сокращений и специальной или нестандартной терминологии.

«Используемые реактивы»

Раздел предназначен для описания всех реактивов, используемых при выполнении испытаний, включая соли, растворители, дериватирующие реагенты, с указанием наименования, категории (квалификации) (степень чистоты, назначение и др., если необходимо), фирмы-производителя и каталожного номера.

Корректное и однозначное описание используемых реактивов является необходимым для воспроизведения методики. В случае отсутствия в нормативном документе подробных требований к качеству и квалификации используемых реактивов или если информация приведена в редакции, допускающей ее различное толкование, при подготовке к испытаниям могут возникнуть разнообразные вопросы: какого качества следует использовать реактивы, возможно ли применение «аналогичного» реактива (если методика не содержит на то указание), повлияет ли на результат испытания использование реактива, сходного, например, по чистоте, с указанным в НД, но другого производителя, если текст раздела не содержит соответствующую оговорку?

Термин «аналогичный» авторы трактуют как «реактив, в той же мере пригодный для использования по назначению, предусмотренному методикой». Неполное или некорректное описание реактива может приводить к тому, что в качестве замены реактиву, приведенному в НД, может быть использован реактив, отличающийся от использованного при проведении валидации по какому-либо важному параметру, не рассматриваемому при квалифицировании реактива, что может повлиять на возможность воспроизведения методики, а также точность получаемых результатов и правильность их интерпретации.

Указание в методике производителей и каталожных номеров реактивов позволяет однозначно интерпретировать требования, предъявляемые к реактиву.

Приведем несколько примеров.

При проведении пептидного картирования высокомолекулярных белковых соединений неполное/неточное описание используемого трипсина, или указание о возможности использования «аналогичного» трипсина, без приведения точного критерия «аналогичности» или каталожного номера и производителя, может привести к получению разных хроматографических профилей, что будет критично с точки зрения подтверждения подлинности.

В некоторых случаях невозможность воспроизведения методики может возникнуть в результате указания на использование реактивов или растворов реактивов, имеющих в различных фармакопеях одно

наименование, но разные концентрации. Например: под наименованием «фосфорная кислота» в соответствии с ГФ XII используется кислота 25% концентрации, в соответствии с *EP* – 85%.

В ГФ XI и XII некоторые буферные растворы с одинаковым названием имеют различный состав, поэтому при пересмотре нормативных документов, в которых они упомянуты, утвержденных до введения в действие ГФ XII, общая ссылка на новое издание фармакопеи в части приготовления реактивов будет некорректной.

«Стандартные образцы»

Подраздел включает описание всех стандартных образцов (далее СО), используемых при выполнении испытаний и указание их квалификации.

В случае если для определяемого вещества существует фармакопейный стандартный образец, в соответствии с требованиями ГФ XII в НД следует предусмотреть его использование. Фармакопейный стандартный образец, предназначенный для определения содержания основного вещества, должен быть охарактеризован количественно. В этом отношении применение стандартных образцов квалификации *EP CRS* весьма ограничено, поскольку большинство стандартных образцов не удовлетворяют этому требованию и используются только для подтверждения подлинности или количественного определения примесей.

В случае если в качестве СО используются вещества производства фирм *Sigma*, *Merck* и др., необходимой информацией будет точное наименование соединения по каталогу фирмы-производителя, наименование производителя, каталожный номер. Указанные сведения позволяют не только установить точные характеристики вещества, но также исключить возможность использования образца несоответствующего качества в случае, когда в НД допускается возможность применения в качестве СО аналогичного соединения другой фирмы-производителя.

При использовании стандартных образцов, аттестованных предприятием-производителем ЛС, в некоторой НД его наименование приводится в виде аббревиатуры или кодировок, соответствующих внутренним стандартам предприятия и/или отличается от указанного в сертификате. На первый взгляд это разночтение может показаться несущественным, однако при отсутствии других сведений, характеризующих подобный СО, возникает вопрос соответствия представленных для испытаний образцов и требований нормативного документа. В случаях, когда при проведении испытаний по разным показателям предусмотрено применение стандартных образцов с одним и тем же наименованием, свойства которых различаются в зависимости от их назначения, указание последнего в НД будет крайне важной информацией.

Например, СО, предназначенный для определения биологической активности, не может использоваться для показателей качества, определяемых методом ВЭЖХ. Стандартный образец, предназначенный

для биологической активности, сертифицирован для определения других параметров, и его использование приводит к получению неверной хроматографической картины и невозможности корректной оценки результатов.

Использование СО декстранов различных фирм производителей может приводить к получению различающихся калибровочных зависимостей.

«Оборудование»

Раздел предназначен для приведения перечня всего необходимого для испытания оборудования и расходных материалов (фильтры, картриджи для твердофазной экстракции, шприцы и т.д.), с указанием их технических характеристик (где необходимо).

Хроматографическая система. Хроматографические системы разных производителей имеют свои индивидуальные особенности. При использовании градиентного элюирования указание в НД наименования производителя, марки и модели оборудования, использованного при разработке и валидации методики, поможет аналитику разобраться в причинах невоспроизводимости методики или отличия получаемой хроматографической картины от указанной в НД. При проведении испытания в условиях изократического элюирования, в отличие от градиентного, технические характеристики хроматографического оборудования, как правило, не оказывают существенного влияния на результаты испытаний. Невозможность замены оборудования или какой-либо его части на аналогичное желательно специально оговаривать в этом же разделе.

Необходимость применения оборудования для ультравысокоэффективной хроматографии должна оговариваться во всех случаях.

Насос. Смеситель подвижной фазы. Система ввода пробы (ручной инжектор/автосемплер). При градиентном режиме элюирования объем задержки градиента оказывает значительное влияние на получаемый хроматографический профиль, который может существенно отличаться в случае, если воспроизведение методики проводится на оборудовании, снабженном насосом, смесителем и дозирующим устройством, характеристики которых отличаются от использованных при валидации.

Насосы разных типов, даже выпускаемые одним производителем, имеют конструктивные отличия, которые влияют на объем задержки градиента, поэтому при использовании указанного варианта элюирования в НД желательно приводить наименование производителя, типа и модели насоса.

Если валидация методики проводилась на оборудовании, допускающем использование смесителей разного объема, значение объема смесителя также желательно указывать в НД.

При описании системы ввода пробы, как при изократическом, так и при градиентном варианте элюирования, рекомендуется указывать объем установленной петли дозатора или иного дозирующего

устройства (например, объем *metering device* для хроматографов фирмы *Agilent*).

Например, при проведении пептидного картирования на разном оборудовании, снабженном дозирующими устройствами с различающимися объемами петель (например, 100 и 900 мкл), времена удерживания опорных пиков могут отличаться более чем на 10 минут.

Особенно заметным влияние параметров насоса, смесителя и объема дозирующего устройства системы ввода пробы будет при выполнении испытаний в градиентном режиме при низких скоростях потока (0,1–0,3 мл/мин).

В ряде случаев увеличение объема задержки приводит к тому, что интересующие пики не успевают элюироваться, а система не уравнивается перед проведением следующего анализа.

Детектор. Необходимость приведения подробного описания детектора с указанием производителя и модели зависит от типа используемого детектора.

При использовании низкотемпературного испарительного детектора по светорассеянию или масс-спектрометрического детектора указание производителя и модели детектора являются абсолютно необходимыми. Использование при проведении испытания низкотемпературного испарительного детектора по светорассеянию или масс-спектрометрического детектора, производитель или модель которых отличаются от использованных при разработке и валидации методики, может приводить к полной невоспроизводимости методики в связи с большими конструктивными отличиями детекторов разных производителей и моделей, а также в связи с различием в типе задаваемых параметров и их оптимальных значений.

Спектрофотометрический детектор. Для воспроизведения некоторых методик определения содержания примесей необходимо знание объема и длины оптического пути ячейки детектора. Данные параметры ячейки оказывают существенное влияние на чувствительность и в некоторых случаях на эффективность хроматографической системы, поэтому использование ячейки с объемом и длиной оптического пути, отличными от валидированных, может быть критичным и являться причиной невыполнения требований пригодности. Например, в ряде случаев спектрофотометрическое детектирование на оборудовании фирмы *Agilent* с использованием стандартной ячейки с длиной оптического пути 10 мм не подходит, и требуется ее замена на ячейку с длиной оптического пути 60 мм – для обеспечения требований к чувствительности системы.

В ряде испытаний при спектрофотометрическом детектировании для регистрации оптической плотности на длинах волн 400 нм и более для обеспечения низких значений пределов обнаружения необходимо использовать не только дейтериевую лампу, но и вольфрамовую лампу. Не все модели детекторов позволяют использовать указанные лампы одновре-

менно, соответственно, если измеренный при валидации уровень предела количественного определения соединения (далее – ПКО) достигнут при использовании обеих ламп или только вольфрамовой лампы, эта особенность методики должна указываться при описании использованного оборудования или при описании параметров хроматографирования.

Электрохимическое и кондуктометрическое детектирование. Для корректного воспроизведения методик с электрохимическим детектированием необходимо знать объем ячейки, ключевые параметры детектирования и материал, из которого изготовлены электроды.

При использовании кондуктометрического детектирования подробно оговаривается система подавления фонового сигнала подвижной фазы (если таковая присутствует).

Вспомогательное оборудование и расходные материалы. К объектам, приводимым в данном разделе, для которых отсутствие указания о каталожных номерах будет критичным, нужно отнести хроматографические колонки и предколонки, картриджи (сорбенты) для твердофазной экстракции, фильтры, встраиваемые (*In-line*) фильтры и держатели к ним, а также вспомогательное оборудование и расходные материалы для диализа и ультрафильтрации. Все они требуют обязательного указания каталожного номера.

Использование вышеуказанных расходных материалов, отличных от заявленных по материалу и/или размеру пор, может приводить к искажению результатов испытания или преждевременному износу хроматографического оборудования. Например: картриджи для твердофазной экстракции (сорбенты) разных производителей могут отличаться по свойствам, что может приводить к недостаточной очистке образца или его неполному концентрированию; использование фильтров или предколонок марки, отличной от использованной при валидации, может привести как к сорбции и потерям определяемых соединений, так и к снижению срока службы хроматографической колонки.

При описании в разделе используемой центрифуги желательно указывать либо производителя, модель и каталожный номер, либо тип ротора. Как правило, в методике испытания (пробоподготовки) задается лишь время и число оборотов при центрифугировании, но не задается значение ускорения (*g*), которое зависит от диаметра ротора и которое определяет эффективность центрифугирования. Использование центрифуги с другими параметрами может негативно повлиять на воспроизводимость пробоподготовки.

«Приготовление растворов» (реактивы, подвижные фазы, растворители, растворы стандартных и испытуемых образцов)

Приготовление растворов, не приведенных в ГФ XII, описывается в тексте раздела с указанием наименования, конечной концентрации, значения *pH* (где применимо), условий хранения, срока годности. В редакции методик приготовления растворов не до-

пускают двоякого толкования и в случаях, когда требуется определенная точность какого-либо параметра, указывают не только его номинальное значение, но и допустимый диапазон отклонения (например значений pH , концентрации определенных компонентов подвижной фазы).

Пример. Для воспроизведения некоторых методик принципиальным является способ приготовления подвижной фазы — по массовым (а не по объемным) соотношениям компонентов или доведение значения pH в строго определенном компоненте (водном или водно-органическом) подвижной фазы. Отсутствие указанной информации в тексте НД влечет за собой несоблюдение валидированных условий определения и, хотя состав подвижной фазы при этом изменяется незначительно, это может приводить к невыполнению требований пригодности системы, получению хроматографической картины, отличной от указанной в НД, или к невозможности ее воспроизведения.

Подробное описание процедур особенно важно, когда приготовление растворов включает в себя этапы твердофазной экстракции, дериватизации, гидролиза и т.п.. При проведении этих этапов пробоподготовки даже небольшие отклонения от требований могут приводить к полной невозможности методики.

В случае если процедура является сложной, многостадийной, включающей большое количество продолжительных этапов, приведение блок-схемы или диаграммы выполнения испытания позволит аналитику наглядно, в сжатом виде, представить все этапы методики и оценить объем работ и время, необходимое для предстоящей многодневной работы.

Рассмотрим другие примеры неполного изложения методик, относящиеся к процедурам приготовления растворов и пробоподготовки.

Приготовление растворов. При отсутствии в методике описания пробоподготовки в части указания используемых навесок образцов, наименований растворителей или конечных концентраций получаемых веществ, воспроизвести методику и оценить качество лекарственного средства невозможно. Частным случаем является вариант, когда контекст пробоподготовки позволяет понять процедуру приготовления растворов. Оценить качество ЛС при этом возможно, но текст нормативной документации потребует включения в неё вышеуказанных недостающих данных.

При воспроизведении условий НД иногда не удается получить прозрачные растворы, пригодные для введения в хроматограф. Подобные случаи возникают, например, когда в тексте методики приготовления раствора пропущены стадии, недостаточно полно указаны условия центрифугирования или фильтрации, допущены неточности в навесках проб или объеме растворителя, в результате чего невозможно добиться полного растворения или экстракции пробы.

Разночтения в описании приготовления раствора или подвижной фазы и указании его числового значения также могут не позволить провести испытание, поскольку неясно, раствор какой концентрации должен быть использован.

Лиофилизированные лекарственные препараты. В методике приготовления испытуемого или стандартного образцов неверно указано их агрегатное состояние, отличное от фактического и приведенного в разделе «Описание» или в сертификате качества. Например, в методике приготовления раствора заданной концентрации указан необходимый отбираемый объем аликвоты образца, т.е. подразумевается, что образец находится в жидком состоянии, вместе с тем фактически образец представляет собой лиофилизат. При этом этап получения восстановленного препарата в методике не приведен и не очевиден по контексту. Получение восстановленных препаратов необходимо описывать, указывая применяемый растворитель. Если такая информация отсутствует, и другие разделы НД, а также инструкция по применению ЛС, не содержат требуемого указания или включают информацию об использовании различных растворителей (вода/буферный раствор), корректно провести испытание будет невозможно.

Концентрации испытуемых и стандартных растворов. Рассмотрим несколько случаев, требующих, по нашему мнению, внесения уточнений в НД или представления дополнительных данных, подтверждающих возможность использования методик.

Согласно методике, концентрации определяемого соединения в испытуемом и стандартном растворах отличаются в несколько раз, при этом валидационные данные, подтверждающие линейность методики в диапазоне рабочих концентраций испытуемого и стандартного растворов, не представлены. В описанном случае методика не придерживается общепринятой практики определения содержания соединения, при которой концентрация стандартного раствора близка к ожидаемой концентрации испытуемого раствора. Наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации во всем диапазоне измеряемых величин не подтверждено, поэтому результаты количественного определения могут быть ошибочными. В этой связи целесообразно либо скорректировать концентрации вышеуказанных растворов, либо подтвердить возможность использования предлагаемых условий определения валидационными данными.

Методика предусматривает использование метода градуировочного графика, при этом концентрация испытуемого раствора не попадает в диапазон концентраций растворов стандартных образцов, используемых для построения калибровочной зависимости. Необходимо либо расширить диапазон концентраций стандартных растворов, используемых для построения градуировки, либо скорректировать концентрацию испытуемого раствора.

Условия хроматографирования

Основные проблемы, связанные с этим разделом, чаще возникают как следствие «технических ошибок», которые выражаются в отсутствии каких-либо сведений, без которых невозможно воспроизвести методику, либо сведения имеют двоякое толкование, либо требуется привлекать данные регистрационного досье.

Сведения о хроматографических колонках

Неполные сведения об используемой хроматографической колонке. Без указания геометрических размеров колонки и/или типа сорбента, корректное воспроизведение методики невозможно, поскольку данные сведения относятся к основным параметрам условий хроматографирования.

Кроме вышеуказанных сведений рекомендуем всегда приводить в НД торговую марку колонки и ее каталожный номер. При отсутствии этих сведений испытание, безусловно, может быть проведено, однако колонки разных производителей имеют различия за счет отличающейся технологии производства сорбентов. Это может приводить к тому, что при использовании формально соответствующей требованиям НД колонки требования пригодности системы не будут достигнуты, или хроматографическая картина будет отличаться от описанной в НД, например, в части порядка выхода пиков или разрешения между ними.

Описание характеристик колонки в нормативной документации обычно включает: полное название колонки, геометрические размеры, размер зерна сорбента, размер пор сорбента (в случае, если существует несколько вариантов), фирму производитель, каталожный номер. Отсутствие указанной информации может не позволить однозначно идентифицировать и подобрать для испытания требуемую хроматографическую колонку.

В описание характеристик предколонки рекомендуем включать те же пункты, что и описание характеристик колонки, в том числе указание фирмы-производителя и каталожный номер.

Хроматографическая колонка не предназначена для разделения соединений. Указание в НД колонки, не предназначенной для разделения соединений, определяемых в ходе испытания, приводит к неадекватной оценке их содержания. Например, при выполнении испытаний методом гель-эксклюзионной хроматографии массы разделяемых соединений не попадают в рабочий диапазон хроматографической колонки согласно ее сертификату. В подобном случае необходим подбор условий с подходящими колонками и последующая валидация новых хроматографических условий.

Время хроматографирования, профиль градиента

Время хроматографирования. Отсутствие указания или неверное значение времени хроматографирования может приводить к тому, что на хроматограмме будет отсутствовать часть пиков, не успевших элюироваться, или наоборот, будут присутствовать не

предусмотренные методикой дополнительные пики от предыдущих вводов пробы.

Профиль градиента. Информация о профиле градиента в ряде случаев может потребовать уточнения. Например, если режим элюирования приведен в редакции: «...градиентное элюирование от 0 до 100% В», то она не включает данные о времени, за которое происходит увеличение концентрации, и не указано, является ли изменение концентрации линейным или описывается более сложными зависимостями. Кроме того, в приведенном примере отсутствуют стадия возвращения к начальным условиям и стадия переуравновешивания колонки. Наиболее удобной формой представления профиля градиентного элюирования является таблица, в формате, исключающем его неоднозначное толкование.

Проверка пригодности хроматографической системы

Параметры пригодности хроматографической системы (далее ППХС) и критерии их приемлемости основываются на концепции о том, что все оборудование, аналитические процедуры и аналитические образцы представляют собой целостную, правильно функционирующую систему, на которую не влияют внешние условия. Тестирование пригодности системы включается в методику во всех случаях, предназначено для оценки ее специфичности, чувствительности, прецизионности, и должно включать в себя критерии и требования, выполнение которых гарантирует корректное воспроизведение методики и получение результатов с заданной точностью.

Растворы для оценки параметров пригодности системы. Оценка параметров пика (асимметрия, относительное стандартное отклонение (*RSD*)) проводится не по пику, площадь (высота) которого учитывается при оценке количества определяемого компонента.

В этом случае предложенная модель оценки пригодности системы недостаточно адекватна, поскольку асимметрия пика оказывает влияние на точность измерения его площади (высоты). При увеличении асимметрии (и снижении эффективности хроматографической системы) разметка пика становится неточной или неоднозначной и ведет к увеличению ошибки при определении его площади (высоты). В свою очередь, увеличивается значение *RSD*, снижается точность получаемых значений и увеличивается ошибка определения.

Оценка разрешающей способности. Параметры пригодности системы нельзя считать достаточными, если при определении примесей в проверку пригодности системы не включена оценка разрешающей способности системы или если данный критерий ППХС не в полной мере достигает целей, для которых он предназначен. Приведем примеры.

В ряде случаев проверка разрешающей способности системы проводится по разрешению между пиками, не являющимися соседними. В данном случае разрешающая способность системы не оценивается по «критическим» парам пиков, разделение которых

наиболее сложно и проблематично. Выбранный в методике вариант оценки разрешающей способности должен быть обоснован.

Проверку разрешающей способности системы рекомендуется проводить с использованием растворов, концентрация веществ в которых соответствует концентрации в испытуемом растворе.

Зависимость разрешения (R_s) от концентрации веществ опосредованно выражена в формуле расчета коэффициента R_s через ширину пика (W). Чем больше нагрузка на колонку (т.е. концентрация вещества), тем больше ширина и асимметрия пика, ниже R_s и хуже разрешение между соседними пиками. Кроме того, поскольку в подавляющем большинстве случаев концентрация примесного соединения в испытуемом растворе (и соответственно, площадь пика) значительно меньше концентрации действующего вещества, соответствие концентраций в растворе для оценки пригодности и в испытуемом растворе может быть принципиальным.

Отсутствует оценка чувствительности методики. Основная цель оценки чувствительности – гарантировать, что примеси любой природы, определение которых предусмотрено методикой, можно не только обнаружить на хроматограмме, но и количественно оценить с точностью, предусмотренной НД. Отсутствие оценки чувствительности не позволяет гарантировать обнаружение примесей и измерение их содержания с точностью, заявленной в НД.

Расчеты и оценка результатов испытания

Сведения, включаемые в раздел. В раздел «Расчеты» включают сведения, необходимые для корректной разметки и интегрирования хроматограмм, информацию, позволяющую провести правильную идентификацию пиков, формулировки и допустимые значения норм, формулы и/или алгоритмы расчетов с определением всех символов, коэффициентов пересчета. Расчётные формулы целесообразно приводить в развёрнутом виде, с приведением всех множителей, включая массы навесок, использованные разведения, поправки на чистоту стандартного образца и проч., а так же их расшифровку.

Наполнение раздела по оценке результатов зависит от проводимого испытания: подтверждение подлинности, количественное определение основных компонентов или определение примесей.

При подтверждении подлинности путем сравнения профилей хроматограмм в разделе указывают количественные критерии сходства, т.е. какие различия в профиле хроматограмм стандартного и испытуемого растворов считаются незначимыми (допустимые различия во временах и относительных интенсивностях основных пиков, возможное наличие дополнительных пиков, их предельная интенсивность, отсутствие какого-либо из основных пиков).

При подтверждении подлинности единичного соединения по совпадению времен удерживания указывается максимально допустимое отклонение усредненного времени удерживания пика на хрома-

тограммах испытуемого раствора от усредненного времени удерживания на хроматограммах стандартного раствора.

В случае подтверждения подлинности путем сравнения хроматографических профилей или определения примесей в разделе указываются пики, которые необходимо исключить из рассмотрения (пики плацебо, растворителя, холостой пробы, известных соединений, не являющихся примесями и т. д.), устанавливается порог игнорирования (т.е. минимальная интенсивность учитываемых пиков).

Если для корректного сравнения профилей хроматограмм или учета примесей в испытуемом растворе требуется провести вычитание или наложение сигнала холостой хроматограммы (или плацебо), это указывают и дополняют НД примером хроматограмм до и после вычитания сигнала холостого опыта или примером наложения хроматограмм с комментариями о способе учета сигнала холостого опыта.

Если разметка и интегрирование хроматограмм отличается от традиционно принятых (например, при разметке не отделенных от основного соединения примесей используется метод, отличный от тангенциальной касательной), необходимо отдельно указать это в разделе и привести пример разметки хроматограмм.

Оценка результатов по показателю «Посторонние примеси», как правило, наиболее сложная. При определении примесей указывают способ идентификации примесей (относительные времена удерживания, порядок элюирования, положение по отношению к известным соединениям, присутствующим на хроматограммах), особенно если стандартные растворы примесей не предусмотрены НД или содержат несколько соединений одновременно. Неверная идентификация примесей может приводить к ошибочной интерпретации данных, поскольку нормы предельного содержания веществ могут быть различны.

Фактически получаемый хроматографический профиль может отличаться от описания, приведенного в НД, или от прилагаемой типичной хроматограммы. При выяснении причин выявленных различий необходимо установить, связаны ли они с ошибками при воспроизведении методики, техническими ошибками в НД или недостаточностью приведенных в ней сведений.

Важной информацией для эксперта или аналитика может служить указание в тексте раздела НД точного наименования примеси и ее структурной формулы. Наличие структурной формулы позволяет оценить механизм удерживания соединения и установить возможную причину отличия фактически получаемой хроматограммы от приведенной в НД, например, из-за использования хроматографической колонки, отличной от той, на которой проводилась валидация, но формально удовлетворяющей указанию в НД «аналогичная». Кроме того, структурная формула позволяет корректно выбрать

коммерческие реактивы для использования их в качестве стандартных образцов (в случае, если НД это допускает).

Рекомендуется подробно описывать любые математические преобразования или формулы, используемые для обработки полученных результатов, а также указывать размерность (проценты, ppm и др.) и количество значащих цифр в представляемых результатах.

Рассмотрим несколько случаев затруднений, связанных с оценкой полученных результатов.

Порядок элюирования пиков, интерферирующие пики.

При проведении испытания порядок выхода пиков отличается от описанного в нормативной документации, при этом прочие параметры пригодности хроматографической системы выполняются (требования к порядку выхода пиков в разделе ППХС не приведены), и конфигурация хроматографической системы соответствует указанной в НД.

Изменение порядка элюирования пиков свидетельствует о том, что условия проведения испытания отличаются от условий, в которых проводилась валидация методики. Возможно несколько причин возникшего несоответствия:

- техническая ошибка, связанная с включением в НД информации о последовательности элюирования пиков, которая относится к другим условиям определения;
- наличие в условиях хроматографирования указания о возможности использования «аналогичной» колонки, при этом свойства использованной колонки отличаются от свойств колонки, на которой проводилась валидация, но параметры предложенной оценки пригодности хроматографической системы не позволяют выявить эти отличия.

Описанная ситуация может возникать при использовании колонок одного определенного сорбента, (например, «С18»), но разных производителей. Порядок выхода соединений может изменяться по причине различия в технологии производства сорбентов. В случае если хроматографические условия включают информацию о колонке в части сорбента («С18»), длины, диаметра и размера зерна сорбента, но при этом не указаны ее производитель и каталожный номер, все колонки с указанными характеристиками попадают под понятие «аналогичная».

Интерферирующие пики. Наличие на хроматограмме плацебо или подвижной фазы, или холостого градиента пиков, интерферирующих с пиками определяемого соединения, говорит либо о технической ошибке (в методику не включено описание порядка учета интерферирующих пиков), либо о недостаточной специфичности методики.

Предположение о возможной недостаточной специфичности методики может возникнуть при наличии нескольких составляющих:

- пригодность системы соответствует требованиям методики НД, в том числе по разделяющей способности, но при этом не включает в себя оценку разре-

шения между определяемым соединением и интерферирующим с ним соединением;

- проведены дополнительные испытания с отдельным хроматографированием растворов, содержащих интерферирующие соединения (холостой раствор, плацебо или др.) и установлено, что интерферирующие соединения элюируются с временами удерживания, близкими к временам удерживания определяемых соединений.

- данные по валидации либо содержат хроматограммы, аналогичные тем, что получены при воспроизведении методики, либо отсутствуют.

Описанная ситуация возникает, например, при определении агрегатов в высокомолекулярных белковых препаратах, в состав которых входит полисорбат-80.

Идентификация пиков. В некоторых случаях невозможно провести идентификацию пиков, что вызвано либо техническими ошибками либо недостаточно полным изложением методики.

Например, указания абсолютных и/или относительных времен удерживания соединений может оказаться недостаточно для их идентификации, если при этом элюируется много пиков с близкими временами удерживания, фактические времена отличаются от указанных в нормативной документации и отсутствуют типичные хроматограммы растворов.

Затруднения в идентификации пика примеси может возникать даже при наличии соответствующего стандартного образца, если на хроматограмме его раствора присутствуют несколько дополнительных пиков, идентификация которых не предусмотрена.

Еще один пример связан с элюированием в градиентном режиме, когда соединения, подлежащие оценке, элюируются на подъеме базовой линии, при этом базовая линия имеет выраженные пики (пики подвижной фазы и плацебо), мешающие идентификации и определению соединений.

В подобных случаях в тексте раздела важно конкретизировать способ исключения пиков подвижной фазы и плацебо или указать последующий способ интегрирования пиков соединений, подлежащих оценке. Указанные «мешающие» пики оказывают двойное действие: а) интерферируют с пиками определяемых соединений, что препятствует их корректной количественной оценке, а в ряде случаев и правильной идентификации, б) присутствие таких пиков увеличивает шум базовой линии, что в свою очередь приводит к ухудшению соотношения сигнал/шум и повышению ПКО.

Возможно несколько различных способов учета подобных пиков:

- вычитание хроматограммы плацебо/подвижной фазы из хроматограммы испытуемого раствора (с помощью соответствующих функций программного обеспечения);
- наложение хроматограмм испытуемого раствора и раствора плацебо/подвижной фазы и визуальная

оценка полученной хроматограммы с последующей «ручной» разметкой пиков (с помощью соответствующих функций программного обеспечения);

- точное описание всех мешающих пиков, присутствующих на хроматограмме холостого опыта, указание на то, как проводится интегрирование пиков определяемых соединений, а также указание участка хроматограммы, по которому рассчитывается отношение сигнал/шум для хроматограммы в целом. В этом случае в тексте раздела должны быть приведены примеры хроматограмм с типичной разметкой пиков.

Применение первого варианта решения проблемы возможно только в случае точного совпадения времен удерживания и интенсивностей мешающих пиков на хроматограммах холостого и испытуемого растворов, что позволяет корректно провести вычитание сигнала холостого опыта, поскольку в противном случае на хроматограмме испытуемого раствора после вычитания по-прежнему будут присутствовать интерферирующие пики, не относящиеся к определяемым соединениям, или «провалы» базовой линии. Во втором варианте это не так принципиально, поскольку оценка профилей хроматограмм проводится визуально.

Невыполнение требований ППХС. Одной из наиболее сложных ситуаций является невыполнение какого-либо из условий пригодности системы в сочетании с доказанной работоспособностью фактически задействованного в испытании оборудования, хроматографической колонки и пригодностью фактически использованных реактивов и материалов.

Возможно несколько различных причин возникновения подобной ситуации:

- технические ошибки в требованиях ППХС;
- использованное фактически оборудование по каким-либо техническим характеристикам отличается от использованного в валидации, и указание о необходимости использования оборудования со специфическими характеристиками не приведено (см. ранее).

В последнем случае необходимо указывать подробные технические особенности используемого оборудования в описании хроматографической системы. Наиболее частой причиной описываемой ситуации является случай, когда валидация методики проведена с использованием экземпляра колонки, имеющей свойства, отличные от свойств колонки, примененной при воспроизведении методики. При этом марка колонки и производитель соответствуют требованиям НД. Такая ситуация может быть вызвана, с одной стороны, небольшими отличиями свойств колонок разных партий одного производителя, а с другой стороны, использованием во время валидации колонки с измененными в процессе эксплуатации свойствами (износ колонки, «насыщение» колонки определяемыми соединениями, модификация колонки ион-парными соединениями в процессе эксплуатации). Во избежание подобных ситуаций валидацию желательно проводить с использованием по меньшей мере двух колонок, одна из которых является новой,

а вторая - бывшей какое-то время в употреблении, а необходимость каких-либо процессов уравнивания колонок должна специально оговариваться в методике. Так, например, при определении жирорастворимых витаминов, в ряде случаев, для получения воспроизводимых пиков СО необходимо предварительно кондиционировать хроматографическую колонку, сделав от 10 до 30 вводов стандартного образца определяемых соединений. В противном случае требования к воспроизводимости площадей пиков определяемых соединений не будут выполняться. Другой пример. При использовании ион-парных реагентов время кондиционирования хроматографической колонки (до достижения стабильности времен удерживания и площадей пиков) может достигать нескольких суток.

Описание способа разметки и интегрирования пиков. В методике отсутствует описание способа разметки и интегрирования пиков, при этом представлены данные (типичные хроматограммы, результаты валидации методики), свидетельствующие, что разделения пиков до базовой линии не происходит, т.е. возможно проведение разметки пиков и интегрирования разными способами.

В описываемом случае полученные площади и высоты пиков, а также результаты, будут зависеть от выбранного способа разметки и интегрирования. Для разметки пиков примесей, не полностью отделяющихся от основного пика, как правило, используется тангенциальный способ разметки (например, подобный способ предложен ЕР в качестве способа, используемого по умолчанию), а при разметке двух не полностью разделенных пиков примерно одинаковой интенсивности используют нормаль, проведенную из точки минимума между пиками к основанию базовой линии. При использовании иного, нежели тангенциальный, метода разметки пиков рекомендуется включить в нормативную документацию типичные хроматограммы с примером разметки пиков.

Примером необходимости указания способа разметки и интегрирования пиков является определение примесей высокомолекулярных белковых соединений.

На хроматограммах испытуемых растворов таких соединений однозначно разметить единичную примесь и оценить необходимость ее включения в расчет крайне затруднительно, поскольку на хроматограмме присутствует большое число плохо разделенных пиков, часть которых имеет форму, отличную от гауссоиды. Это может привести к различной интерпретации получаемых результатов. Общепринятой практикой разметки таких пиков является объединение отдельных групп пиков общим основанием.

Фактор отклика. Рекомендуем предусматривать учет фактора отклика определяемой примеси при оценке ее содержания, в случаях, когда его значение известно (например, установлены в ходе разработки методики, приведены в статьях зарубежных фармакопей), и оно выходит за пределы диапазона 0,8–1,2.

В этом случае фактическое содержание примесей будет отличаться от рассчитанного значения, что может приводить к ложноположительным или ложноотрицательным результатам.

Способ оценки результатов испытания не соответствует принципу определения содержания. Способ оценки результатов испытания, описанный в каком-либо подразделе, и изложение методики испытания в целом должны соответствовать принципу определения содержания, приведённому в расчётной формуле. Например, если в методике определения посторонних примесей описывается приготовление стандартного образца, предусмотрено его использование, а также имеется прямое указание на оценку содержания примесей методом внешнего стандарта, но при этом расчётная формула приведена для метода внутренней нормализации, информацию разных разделов необходимо привести в соответствие.

Приведённый выше пример можно квалифицировать как техническую ошибку, не мешающую проведению определения и корректной оценке содержания определяемых объектов. Однако в случае несоответствия метода расчёта методу детектирования достоверно оценить содержание объекта не представляется возможным. Например, при определении примесей с использованием детектора по светорассеянию, не позволяющим получить линейную зависимость площади пика от концентрации, использовать метод внутренней нормализации для расчёта содержания примесей не корректно.

Взаимосвязь ПКО и нормируемого уровня примесей. В ряде методик предел количественного определения (установленный в ходе валидационных мероприятий) бывает выше нормируемого уровня предельно допустимого содержания примеси. В таких случаях зачастую нормируемый уровень предельно допустимого содержания находится в интервале между установ-

ленным при валидации значением предела обнаружения и предела количественного определения. При этом пики примесей будут обнаруживаться на хроматограмме, однако, поскольку их интенсивность будет ниже предела количественного определения, невозможно дать оценку количественного содержания примесей с приемлемой точностью, и таким образом невозможно объективно оценить качество ЛС. В случае, когда установленное при валидации методики значение ПКО совпадает с нормируемым уровнем предельно допустимого содержания примеси, возможна только полуколичественная оценка примесей, содержание которых будет устанавливаться либо только на их максимально допустимом уровне, либо как «не соответствует требованиям» с формулировкой результата «менее» или «более» установленного значения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные в статье примеры наглядно иллюстрируют влияние полноты и корректности предоставляемой в методике информации на возможность ее воспроизведения. Следует отметить, что хотя внесение рассмотренной выше дополнительной информации и включение корректных требований к пригодности системы в описании методики на настоящий момент формально не регламентируется, выполнение указанных в статье пожеланий и требований при создании и изложении хроматографических методик испытания ЛС служит обеспечению воспроизводимости методики, а также гарантирует получение точных результатов.

Надеемся, что данная статья поможет разъяснить рекомендации комиссии экспертов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России к Заявителям по информационному наполнению методики ВЭЖХ, упростить процесс проведения экспертизы качества лекарственных средств и снизить количество замечаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО-МЭК 17025-2006 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий (п. 5.4.).
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. Ч. 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения; 2007.
3. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1. М.: Медицина; 1987.
4. Золотов ЮА, Дорохова ЕН, Фадеева ВИ. Основы аналитической химии. Книга 1. М.: Высшая школа; 1996.
5. Приказ Минздрава России от 01.11.2001 № 388 «О государственных стандартах качества лекарственных средств» (вместе с «ОСТ 91500.05.001-00. Отраслевой стандарт. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения»). Российская газета 2001; 233: 6.
6. Рудаков ОБ, Востров ИА, Федоров СВ, Филиппов АА, Селеменев ВФ, Приданцев АА. Спутник хроматографа. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Водолей; 2004.
7. Chaithanya Sudha. Pharmaceutical Analysis. Delhi: Pearson Education India; 2012.
8. Bliesner D. Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide. Hoboken: Wiley-Interscience; 2006.
9. Adamovics JA. Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals. 2nd edition. New York: CRC Press, Marcel Dekker Inc.; 1997.
10. European Pharmacopoeia 8.1: 2.2.46. Chromatographic Separation Techniques, 2.2.29. Liquid Chromatography.

REFERENCES

1. State Standard 17025-2006 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (5.4) (in Russian).
2. The State Pharmacopoeia of Russian Federation. 12th ed. V. 1. Moscow: Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2007 (in Russian).
3. The State Pharmacopoeia of USSR. 11th ed. V. 1. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian).
4. Zolotov YuA, Dorokhova EN, Fadeeva VI. Basics of analytical chemistry. Book 1. Moscow: Vysshaya shkola; 1996 (in Russian).
5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation 01.11.2001 № 388 «On state quality standards of drugs». Rossiyskaya gazeta 2001; 233: 6 (in Russian).
6. Rudakov OB, Vostrov IA, Fedorov SV, Filippov AA, Selemenev VF, Pridantsev AA. Companion of chromatographer. Methods of liquid chromatography. Voronezh: Vodoley; 2004 (in Russian).
7. Chaithanya Sudha. Pharmaceutical Analysis. Delhi: Pearson Education India; 2012.
8. Bliesner D. Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide. Hoboken: Wiley-Interscience; 2006.
9. Adamovics JA. Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals. 2nd edition. New York: CRC Press, Marcel Dekker Inc.; 1997.
10. European Pharmacopoeia 8.1: 2.2.46. Chromatographic Separation Techniques, 2.2.29. Liquid Chromatography.

11. U.S. Pharmacopeia National Formulary, USP 36: (621) Chromatography, (1225) Validation of Compendia Procedures, (1224) Transfer of Analytical Procedures, (1086) Impurities of Drug Substances and Drug Products.
12. PA/PH/OMCL (07) Qualification Of Equipment Annex 1 Qualification of HPLC Equipment, 2005.
13. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Q2(R1) Validation of analytical procedures: Text and methodology, 1994.
14. Guidance for Industry; Analytical Procedures and Methods Validation; Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2000.
15. Миронов АН, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.
16. Миронов АН, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 2. М.: Гриф и К; 2013.
17. Ковалева ЕЛ. Стандартизация фармацевтических субстанций и препаратов в лекарственной форме «таблетки». М.: Гриф и К; 2012.
11. U.S. Pharmacopeia National Formulary, USP 36: (621) Chromatography, (1225) Validation of Compendia Procedures, (1224) Transfer of Analytical Procedures, (1086) Impurities of Drug Substances and Drug Products.
12. PA/PH/OMCL (07) Qualification Of Equipment Annex 1 Qualification of HPLC Equipment, 2005.
13. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Q2(R1) Validation of analytical procedures: Text and methodology, 1994.
14. Guidance for Industry; Analytical Procedures and Methods Validation; Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2000.
15. Mironov AN, ed. Guideline for expertise of drugs. V. 1. Moscow: Grif & K; 2013 (in Russian).
16. Mironov AN, ed. Guideline for expertise of drugs. V. 2. Moscow: Grif & K; 2013 (in Russian).
17. Kovaleva EL. Standardization of pharmaceutical substances and preparations in the dosage form «tablets». Moscow: Grif & K; 2012 (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.
 Сакаева Ирина Вячеславовна. Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, канд. фарм. наук.
 Лутцева Анна Ивановна. Начальник Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.
 Ваганова Ольга Александровна. Начальник лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств. Канд. фарм. наук.
 Бендрышев Александр Александрович. Главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук.
 Швец Сергей Витальевич. Главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Бендрышев Александр Александрович, Bendryshev@expmed.ru.

AUTHORS:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.
 Sakaeva IV. Deputy Director General for the expertise of drugs. Candidate of Pharmaceutical Sciences.
 Lutseva AI. Head of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.
 Vaganova OA. Head of Laboratory of biotech drugs of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.
 Bendryshev AA. Chief expert of Laboratory of biotech drugs of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Chemical Sciences.
 Shvets SV. Chief expert of Laboratory of biotech drugs of Test Center of Quality Expertise of Medicines. Candidate of Chemical Sciences.

Статья поступила 14.02.2014 г.

Принята к печати 18.03.2014 г.

ПОДПИСНАЯ КАМПАНИЯ НА ВТОРОЕ ПОЛУГОДИЕ 2014 ГОДА



Оформить подписку на журнал
**«ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ
 МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»**
 можно в любом почтовом отделении России.
 Индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» «Газеты. Журналы»
 на второе полугодие 2014 года – **25122**
 Стоимость подписки на второе полугодие 2014 года
 • два номера журнала – **400 руб.**
 • один номер журнала – **200 руб.**