

## Основные проблемы экспертизы качества фармацевтических субстанций (оценка количественного содержания)

Т. Н. Боковикова<sup>1</sup>, Е. П. Герникова<sup>1</sup>, Л. А. Стронова<sup>1</sup>, М. В. Агапкина<sup>1</sup>,  
О. А. Батурина<sup>1</sup>, С. А. Немыкина<sup>1</sup>, О. А. Матвеева<sup>1</sup>, Н. П. Садчикова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

Первый Московский государственный медицинский университет

им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия

*Статья поступила 05.04.2016 г. Принята к печати 30.08.2016 г.*

**Резюме:** Общие проблемные вопросы, возникающие при экспертизе качества фармацевтических субстанций по показателю «Количественное определение», связаны с соответствием фактически полученных величин предусмотренным нормам количественного содержания, а также уровнем подготовки представленных нормативных документов (полнота, правильность изложения методик анализа) и соответствием условий проведения испытаний с валидационными материалами по данному разделу нормативной документации. Показано, что объективность оценки количественного содержания действующего вещества в фармацевтической субстанции синтетического или минерального происхождения во многом определяется выбором метода анализа, приведением соответствующих методик с учетом материалов, включенных в фармакопейные статьи Государственной фармакопеи Российской Федерации и монографии ведущих зарубежных фармакопей.

**Ключевые слова:** экспертиза качества фармацевтических субстанций; методы оценки количественного содержания; типичные недостатки методик анализа.

**Библиографическое описание:** Боковикова ТН, Герникова ЕП, Стронова ЛА, Агапкина МВ, Батурина ОА, Немыкина СА, Матвеева ОА, Садчикова НП. Основные проблемы экспертизы качества фармацевтических субстанций (оценка количественного содержания). Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (3): 37–41.

В Российской Федерации, в соответствии с Федеральным законом Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», для производства лекарственных средств (ЛС) должны использоваться фармацевтические субстанции (ФС), включенные в государственный реестр лекарственных средств. С целью включения в государственный реестр лекарственных средств ФС, произведенная для реализации, должна пройти экспертизу качества.

Важным этапом экспертизы качества субстанций является установление соответствия количественного содержания (КС) действующего вещества требованиям нормативной документации (НД), а также оценка полноты и правильности изложения методики раздела «Количественное определение» НД, которая должна быть основана на современных селективных методах анализа, содержать объективные требования и нормы. Возможность использования выбранного метода и конкретной методики определения должна быть подтверждена валидационными материалами, содержащими теоретическое обоснование и результаты экспериментальных исследований [1].

**Общие недостатки методик разделов «Количественное определение» проектов НД,** которые выявляются при экспертизе качества ЛС и могут быть сформулированы следующим образом:

– не полностью или некорректно приведены условия проведения испытания, описание пробоподготовки растворов ФС, названия растворов и используемых реактивов;

– предусмотрено использование стандартного образца (СО) без декларированного КС, либо ненадлежащей квалификации (вторичного СО);

– несоответствие концентраций испытуемого и стандартного растворов, при отсутствии в регистрационном досье данных по валидации, подтверждающих линейность методики в заявленной области;

– нормативные требования к пересчету содержания действующего вещества («в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество» или «пересчет на сухое вещество») не согласуются с методиками контроля, включенными в НД, или соответствующий пересчет не предусмотрен в расчетных формулах;

– не приведены условия хранения растворов (температурный режим, срок годности), в случае светочувствительных веществ (использование посуды темного стекла, наличие соответствующего указания); в валидационных материалах, как правило, отсутствуют данные по стабильности растворов;

– ошибки в расчетных формулах, технические неточности и опечатки.

Оценка содержания действующего вещества в ФС синтетического или минерального происхождения, как правило, проводится с использованием различных химических и физико-химических методов анализа. Выбор метода количественного определения (КО) базируется на химических свойствах субстанций, структурных особенностях органических веществ и характере функциональных групп, а также возможности оценки содержания действующих веществ по физиологически активной части молекулы.

Часто используются титриметрические методы, которые основаны на разнообразных химических реакциях и позволяют с высокой степенью точности определять вещества, учитывая их свойства и строение:

- кислотно-основное титрование (метод нейтрализации);
- окислительно-восстановительное титрование;
- комплексонометрия (прямое и обратное титрование);
- нитритометрия;
- осадительное титрование.

Главными преимуществами титриметрических методов являются минимальная ошибка определения и отсутствие необходимости в использовании СО.

В случае включения титриметрических методик в раздел «Количественное определение» НД, должно быть указано:

- величина точной навески субстанции, взятой для анализа;
- растворитель;
- необходимые операции по пробоподготовке испытуемого раствора;
- титрант и способ установления конечной точки титрования (используемый индикатор в случае визуальной оценки, применяемые электроды при потенциометрическом титровании);
- содержание анализируемого вещества в мг, эквивалентное 1 мл точно указанной молярной концентрации титранта.

**Типичные недостатки и неточности изложения титриметрических методик**, как правило, сводятся к следующему:

- неверно или не полностью описаны условия определения (отсутствие какого-либо параметра: температуры, времени перемешивания, pH среды, величины навески, индикатора и перехода его окраски, электрода – при потенциометрическом титровании);
- некорректно указаны концентрация титрованного раствора и количество вещества (мг), соответствующее 1 мл титранта (на всю молекулу субстанции или только на ее активную часть), не учитываются выражения концентраций титрованных растворов или особенности методик их приготовления, приведенные в разных изданиях государственной фармакопеи (ГФ);
- не приведено указание о необходимости проведения контрольного опыта (или наоборот – предусмотрено его проведение, когда в этом нет необходимости);
- отсутствуют методики приготовления титрованных растворов, не описанных в ГФ;
- не указан или некорректно сформулирован способ определения точки эквивалентности (например, «...прибавляют раствор индикатора ... и титруют потенциометрически...»).

Другим широко используемым для оценки КС действующего вещества в ФС является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В зависимости от механизма разделения веществ различают адсорбционную, распределительную, ионообменную и другие виды ВЭЖХ, в качестве подвижной фазы (ПФ) могут использоваться разнообразные индивидуальные растворители и смеси [2].

В нормально-фазовой хроматографии обычно применяются жидкие углеводороды (гексан, циклогексан, гептан) и другие относительно неполярные растворители с небольшими добавками полярных ор-

ганических соединений, которые регулируют элюирующую силу ПФ.

В обращенно-фазовой хроматографии в состав ПФ входят полярные органические растворители (обычно ацетонитрил и метанол) и вода. Для оптимизации условий проведения испытаний часто используют водные растворы с определенным значением pH, в частности, буферные растворы; применяют добавки неорганических и органических кислот, оснований, солей и другие соединения [2].

На хроматографический анализ большое влияние оказывает степень чистоты ПФ, поэтому предпочтительно применять растворители, выпущенные специально для жидкостной хроматографии (включая воду). В случае использования УФ-спектрофотометрического детектора ПФ не должна иметь выраженного поглощения при выбранной для детектирования длине волны (предел прозрачности или оптическая плотность при определенной длине волны растворителя конкретного изготовителя часто указывается на упаковке).

В НД должны быть подробно описаны условия хроматографирования:

- марка хроматографа и хроматографической колонки с обязательным указанием геометрических параметров, торгового названия, материала, из которого изготовлена колонка, сорбента (например, Waters Symmetry C 18; 3,0×150 мм, 3,5 мкм или аналогичная; целесообразно указывать марки «аналогичных» колонок, в этом случае в валидационных материалах должны быть приведены соответствующие данные и хроматограммы);
- температура колонки;
- тип детектора и его характеристики (УФ с указанием длины волны, рефрактометрический, диодно-матричный, флуорометрический, электрохимический и др.);
- ПФ (с описанием приготовления вспомогательных растворов, входящих в состав ПФ, и соотношение компонентов);
- в случае использования градиентного режима элюирования следует приводить запись в виде таблицы с обозначением времени и состава подвижной фазы;
- скорость потока (например, 1 мл/мин);
- объем вводимой пробы (например, 10, 20 мкл).

Раздел «Количественное определение» должен содержать описание методики определения пригодности хроматографической системы и требования к параметрам, характеризующим:

- форму пика (эффективность хроматографической колонки и фактор асимметрии);
- воспроизводимость (относительное стандартное отклонение площадей пиков стандартных растворов) [3–5].

Параметры пригодности хроматографической системы необходимо оценивать по пику (пикам) стандартного раствора, используемому для расчета содержания действующего вещества в ФС.

Кроме того, при необходимости указывают:

- как могут быть изменены условия хроматографирования для достижения критериев пригодности хроматографической системы;
- каким образом должна быть кондиционирована колонка;
- каким растворителем промывается колонка после использования и как она консервируется, если эти специальные требования необходимы для ста-

бильной работы колонки, а также другие уточнения, которые могут облегчить проведение испытаний в процессе контроля качества субстанции и предотвратить нежелательный контакт колонки с компонентами подвижной фазы или пробы.

**Типичные недостатки и неточности описания методики ВЭЖХ:**

- не указано торговое название хроматографической колонки (производитель, каталожный номер), размер частиц хроматографической колонки (предколонки);

- ориентировочное время удерживания определяемого вещества не совпадает со временем удерживания, приведенным в проекте НД и валидационных материалах;

- несоответствие условий пробоподготовки и условий определения в проекте НД и валидационных материалах; кроме того, не полностью приведены условия приготовления стандартного и испытуемого растворов (возможность нагревания, использования ультразвука, время, температура);

- в формуле расчета не учитывается размерность заявленной нормы;

- отсутствие какого-либо параметра пригодности хроматографической системы;

- не приведены или приведены некорректно требования к значениям относительного стандартного отклонения площади пика действующего вещества, эффективности колонки и фактора асимметрии по хроматограмме стандартного раствора.

Значительно реже для КО действующего вещества в субстанции используются спектроскопические методы в следующих диапазонах длин волн: ультрафиолетовой (190–380 нм), видимый (380–780 нм), инфракрасный (0,78–400 мкм) [2, 6, 7].

Фотометрические методы (спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области спектра) базируются на измерении собственного поглощения ФС, обусловленного наличием в них хромофорных групп, либо поглощения продуктов реакции ФС с определенными реактивами.

Использование фотометрических методов зависит от природы вещества и растворителя, концентрации вещества в растворе, диапазона длин волн. В основе большинства фотометрических методов лежит закон светопоглощения Бугера–Ламберта–Бера [2, 6, 7].

В фотометрических методиках указывают: используемый прибор; описание приготовления испытуемого и при необходимости стандартного растворов; длину волны в максимуме поглощения; толщину слоя кюветы (длину оптического пути), материал, из которого она изготовлена (чаще кварцевая); раствор сравнения.

**Основные ошибки фотометрических методик**, как правило, связаны с отклонениями от закона Бугера–Ламберта–Бера на стадии разработки методик определения:

- нелинейная зависимость показаний прибора от интенсивности светового потока; немонохроматичность используемого светового потока;

- непостоянство температуры в процессе измерений;

- кислотно-основное взаимодействие, диссоциация, ассоциация, полимеризация, изменение рН среды с изменением концентрации определяемой ФС и другие процессы, происходящие в анализируемой системе.

Другие недостатки фотометрических методик раздела «Количественное определение» являются общими и приведены выше.

ИК-спектрометрия, атомно-эмиссионная и атомно-адсорбционная спектроскопия (АЭС и ААС, например, АЭС с индуктивно-связанной плазмой ИСП, ААС с электротермической атомизацией), спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) используются для КО фармацевтических субстанций, как правило, в качестве альтернативных методик или в тех случаях, когда другие методы для КО неприменимы [2].

В настоящее время реже включают в НД методики количественного элементного анализа:

- метод Кьельдаля, основанный на сочетании минерализации органического вещества с последующим применением кислотно-основного титрования (используется для определения азота в органических соединениях, содержащих аминный, амидный и гетероциклический азот);

- метод сжигания в колбе с кислородом, основанный на разрушении органического вещества, содержащего галогены, серу, фосфор и др., растворении образующихся продуктов сгорания в поглощающей жидкости и последующем определении элементов, находящихся в растворе в виде ионов, одним из химических или физико-химических методов [8, 9].

Недостатки изложения вышеуказанных методик количественного определения те же, что для титриметрических или других используемых методик анализа, включая особенности методик проведения пробоподготовки образца.

При анализе ФС следует использовать фармакопейные СО, аттестованные уполномоченным фармакопейным органом (например, EP CRS, BP CRS, USP RS и др.), с декларированным содержанием действующего вещества в образце. В случае их отсутствия для оценки содержания действующего вещества используют первичные СО, которые должны быть соответствующим образом охарактеризованы, т.е. должна быть подтверждена их структура с помощью методов без использования эталонов (сравнения с другим СО) [10, 11]. Например, методами ЯМР-спектрометрии, масс-спектрометрии или рентгеноструктурным анализом и др., при этом содержание действующего вещества в СО должно быть рассчитано методом баланса масс (100 %, минус все примеси).

В тех случаях, когда производство ФС соответствует требованиям GMP и на предприятии действует система обеспечения качества по аттестации и использованию СО, для проведения текущих анализов на предприятии допускается использование вторичных СО, аттестованных по фармакопейным (или международным) СО.

В методиках разделов должны быть указаны химические названия, квалификация, производитель СО.

Надежность и сопоставимость результатов испытания зависит от качества используемых реактивов, поэтому в НД должно быть указано: квалификация реактивов, фирма-производитель, каталожный номер (с указанием «или аналогичного качества»).

В случае, если предусмотрено использование растворов реактивов, которые не описаны в ГФ (или нет ссылки на возможность использования реактивов ГФ), методики их приготовления и стандартизации должны быть приведены в НД.

Таким образом, объективность оценки количественного содержания действующего вещества в ФС синтетического или минерального происхождения во многом определяется выбором химического или фи-

зико-химического метода анализа, полнотой и правильностью изложения соответствующих методик с учетом материалов, включенных в фармакопейные статьи Государственной фармакопеи Российской Федерации и монографии на ФС ведущих зарубежных фармакопей.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Мионов АН, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 2. М.: Гриф и К; 2013.
2. Государственная фармакопея РФ. 13-е изд. М.; 2015. Available from: <http://femb.ru/>.
3. European Pharmacopoeia. 8th ed. Supplement 8.2. European Directorate for the Quality of Medicines. Available from: <http://online.edqm.eu/entry.htm>.
4. British Pharmacopoeia. 2015. The British Pharmacopoeia Commission. Available from: <https://www.pharmacopoeia.com>.
5. United States Pharmacopeia. 38th edition. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf>.
6. Государственная фармакопея РФ. 12-е изд. Часть 1. М.: Научный Центр экспертизы средств медицинского применения; 2007.
7. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. 1, 2. М.: Медицина; 1989.
8. Беликов ВГ. Фармацевтическая химия: Учебник для фармацевтических институтов и фармацевтических факультетов. М.: Высшая школа; 1993.
9. Харитонов СВ. Ионоселективные электроды для определения лекарственных веществ. Успехи химии 2007; **76**(4): 398–432.
10. Меркулов ВА, Саканян ЕИ, Волкова РА, Климов ВИ, Шемерянкина ТБ, Яшкир ВА. Фармакопейные стандартные образцы и практика их применения в отечественной системе стандартизации лекарственных средств. Химико-фармацевтический журнал 2016; **50**(4): 40–3.
11. Меркулов ВА, Саканян ЕИ, Климов ВИ, Шемерянкина ТБ, Яшкир ВА, Бармин АВ. Современные подходы к разработке стандартных образцов для оценки качества фармацевтических субстанций. Химико-фармацевтический журнал 2015; **49**(11): 54–6.

### ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.  
 Боковикова Татьяна Николаевна. Начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р фарм. наук.  
 Герникова Евгения Петровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.  
 Стронова Лариса Александровна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.  
 Агапкина Маргарита Васильевна. Эксперт 1-й категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.  
 Батурина Ольга Анатольевна. Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук.  
 Немыкина Светлана Анатольевна. Эксперт 1-й категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.  
 Матвеева Оксана Анатольевна. Заместитель начальника управления экспертизы № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2.  
 Садчикова Наталья Петровна. Профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии, д-р фарм. наук.

### АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Боковикова Татьяна Николаевна; [Vokovikova@expmed.ru](mailto:Vokovikova@expmed.ru)

## MAJOR CHALLENGES IN EVALUATING THE QUALITY OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES (THE ASSAY)

T. N. Bokovikova<sup>1</sup>, E. P. Gernikova<sup>1</sup>, L. A. Stronova<sup>1</sup>, M. V. Agapkina<sup>1</sup>,  
 O. A. Baturina<sup>1</sup>, S. A. Nemykina<sup>1</sup>, O. A. Matveeva<sup>1</sup>, N. P. Sadchikova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution

«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»

of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

**Abstract:** Common topical issues of the quality assessment of pharmaceutical substances in terms of «Assay», are related to the compliance of actual test results to assay requirements as well as to the proper elaboration of normative documents (completeness, accuracy of the descriptions of analytical methods) and the appropriate test conditions validation with the materials in the scope of the mentioned regulatory documents. It was shown that an objective assessment of the quantitative content of an active ingredient in pharmaceutical substance of synthetic or mineral origin depends largely on the choice of the analytical method, use of the appropriate techniques considering the materials included in the monographs of the State Pharmacopoeia the Russian Federation and leading foreign pharmacopoeias.

**Key words:** quality expert evaluation of pharmaceutical substances; assay methods; typical disadvantages of analytical methods.

**For citation:** Bokovikova TN, Gernikova EP, Stronova LA, Agapkina MV, Baturina OA, Nemykina SA, Matveeva OA, Sadchikova NP. The main problems arising during the examination of the quality of pharmaceutical substances (quantitative assessment of the content). The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016; (3): 37–41.

## REFERENCES

1. Mironov AN, ed. Guidance on the examination of medicines. V. 2. Moscow: Grif i K; 2013.
2. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th edition. Moscow; 2015. Available from: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
3. European Pharmacopoeia. 8th ed. Supplement 8.2. European Directorate for the Quality of Medicines. Available from: <http://online.edqm.eu/entry.htm>.
4. British Pharmacopoeia. 2015. The British Pharmacopoeia Commission. Available from: <https://www.pharmacopoeia.com>.
5. United States Pharmacopoeia. 38th edition. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf>.
6. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 12th edition. Part 1. Moscow: NCESMP; 2007 (in Russian).
7. The State Pharmacopoeia of the USSR. 11th edition. V. 1, 2. Moscow: Meditsina; 1989 (in Russian).
8. Belikov VG. Pharmaceutical Chemistry: Textbook for pharmaceutical institutes and pharmaceutical faculties. Moscow: Vysshaya shkola; 1993 (in Russian).
9. Haritonov SV. Ion-selective electrodes for determination of medicines. *Uspehi himii* 2007; **76**(4): 398–432 (in Russian).
10. Merkulov VA, Sakanyan EI, Volkova RA, Klimov VI, Shemeryankina TB, Yashkir VA. Pharmacopoeial reference standards and their implementation in the national system of standardization of medicines. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2016; **50**(4): 40–3 (in Russian).
11. Merkulov VA, Sakanyan EI, Klimov VI, Shemeryankina TB, Yashkir VA, Barmin AB. Modern approaches to the development of standard models for assessing the quality of pharmaceutical substances. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2015; **49**(11): 54–6 (in Russian).

## AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.

*Bokovikova TN*. Head of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center for Quality Expertise of Medicines.

Doctor of Pharmaceutical Sciences.

*Gernikova EP*. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center for Quality Expertise of Medicines.

Candidate of Pharmaceutical Sciences.

*Stronova LA*. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center for Quality Expertise of Medicines.

Candidate of Pharmaceutical Sciences.

*Agapkina MV*. 1st professional category expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center for Quality Expertise of Medicines.

*Baturina OA*. Chief expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center for Quality Expertise of Medicines.

Candidate of Pharmaceutical Sciences.

*Nemykina SA*. 1st professional category expert of Laboratory of chemical and pharmaceutical products № 1 of Test Center for Quality Expertise of Medicines.

*Matveeva OA*. Deputy head of expertise office № 2 of Center for expertise and control of finished pharmaceutical products.

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation.

*Sadchikova NP*. Professor of Department of pharmaceutical a toxicological chemistry. Doctor of Pharmaceutical Sciences.