

## **Общий подход к оформлению показателя «родственные примеси» для метода ВЭЖХ в нормативной документации**

*ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия*

Прохождение процедуры экспертизы качества образцов призвано соблюсти требование Решения Коллегии Евразийской экономической комиссии от 07.09.2018 № 151 [1] об исключении возможности двоякого толкования текстов методик и помочь унифицировать оформление раздела нормативной документации по показателю «родственные примеси» для метода ВЭЖХ с учетом обобщенного опыта экспертов, а также требований Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) [2], Фармакопеи ЕАЭС [3] и положений нормативных актов, связанных с экспертизой лекарственных средств.

Раздел проекта нормативной документации должен состоять из следующих блоков.

1. *Нормы.* В данном подразделе приводят допустимые нормы содержания примесей в соответствии с данными спецификации.

2. *Метод.* Указывают метод и приводят ссылку на соответствующую общую фармакопейную статью ГФ РФ или Фармакопеи ЕАЭС. Указание типа хроматографии и используемого детектора (кратко).

3. *Перечень примесей.* Приводят наименование и структурные формулы идентифицированных примесей, фигурирующих в требованиях нормы. Также рекомендуется приводить наименование и формулу веществ, используемых в качестве референсных веществ в методике, но не входящих в спецификацию.

4. *Оборудование.* Указывают ключевое оборудование, необходимое для проведения испытания. В ряде случаев целесообразно указывать конкретную модель и информацию о допустимости или недопустимости замены.

5. *Реактивы.* В соответствии с положениями п. 27 Решения № 151 ЕАЭС [1] для реактивов указывают: литеру *P* для фармакопейных реактивов (в случае оформления проекта нормативной документации в рамках подачи по ЕАЭС), квалификацию, производителя, каталожный номер, CAS-номер. Квалификация, производитель и прочая дополнительная информация приводится для реактивов, не описанных в фармакопее, а также если для выполнения испытания критично использовать реактив конкретной марки от конкретного производителя.

6. *Стандартные образцы.* Указывают стандартные образцы, вещества-свидетели, вещества-маркеры. Следует указать наименование стандартного образца, производителя, каталожный номер. Если используется стандартный образец, аттестованный самим производителем лекарственного средства, то указывают «стандарт фирмы» и приводят название самой фирмы.

7. *Приготовление растворов.* Описывают подробно приготовление всех используемых растворов. Нужно указать навески, объемы разведения, необходимые манипуляции. Для всех используемых растворов сроки годности и условия хранения указываются в обязательном порядке.

8. *Условия хроматографирования.* Приводят следующие данные: условия элюирования, время хроматографирования и время регистрации хроматограммы (при необходимости), температурный режим колонки и образцов, объем ввода пробы, условия детектирования, параметры интегрирования (при необходимости), указание колонки и предколонки в данном разделе остается на усмотрение Заявителя. В некоторых случаях могут потребоваться дополнительные параметры, например, указание объема задержки градиента *dwell volume* или описание сложной инъекционной программы для проведения дериватизации в игле автосэмплера.

9. *Идентификация пиков.* Приводят информацию, необходимую для соотнесения пиков на хроматограммах. В простейшем случае указывают ориентировочное время удерживания основного вещества в минутах и относительные времена удерживания пиков идентифицированных примесей или пика, по которому проводят проверку разделяющей способности системы. В более сложных случаях представляют информацию в виде таблицы. При необходимости в таблице также указывают относительный фактор отклика примеси, используемый в расчетах. Если примесь не подлежит учету, то вместо фактора отклика указывают «←».

10. *Проведение испытаний.* Описывают ход проведения испытания. В самом простом случае приводят ориентировочную последовательность хроматографирования. Количество инъекций для каждого вводимого раствора позволяет понять время, требуемое на общую хроматографическую последовательность, рассчитать объемы всехготавливаемых растворов с учетом вводимой пробы и оценить возможность запуска требуемой полной последовательности с учетом срока годности анализируемых растворов. При приготовлении параллельных растворов из отдельных навесок указывают количество инъекций для каждого такого раствора.

11. *Проверка пригодности хроматографической системы.* Приводят критерии пригодности хроматографической системы в соответствии с положениями ОФС «Хроматография».

12. *Разметка пиков и интегрирование.* Приводят особенности разметки пиков на хроматограммах и параметры интегрирования пиков. В общем случае пик любой единичной примеси, который не полностью разделяется с основным пиком, предпочтительно размечать пиком-наездником. В частных случаях выбор разметки не полностью разделенных пиков должен учитывать профиль базовой линии (хроматограммы подвижной фазы, растворителя образцов, раствора плацебо); форму интересующих пиков на хроматограммах растворов индивидуальных веществ, модельных смесей и реальных образцов (фактор асимметрии пиков; характер размывания (выраженность) областей, соответствующих началу и концу пика; результаты валидации методики (оценка правильности методом «введено – найдено»). При необходимости расчета значений нормализованной площади пиков и суммы площадей всех интегрируемых пиков на хроматограммах веществ, характеризующихся сложным профилем, отдельные размеченные пики, элюирующиеся в единой группе, не полностью разделенных до базовой линии пиков, учитываются в любом случае (независимо от относительного содержания каждого отдельного пика внутри интегрируемой группы). При этом разметка пиков осуществляется путем опускания перпендикуляра к базовой линии.

13. *Расчет результатов.* Приводят методику оценки результата. Для расчетных формул следует приводить полную и сокращенную формы с расшифровкой множителей. Для расчета содержания примесей следует использовать расчетные формулы. Способ «сравнение площадей», широко применяемый в монографиях Европейской фармакопеи, использовать нежелательно, поскольку данный способ налагает ограничения на методики приготовления растворов в части близости навески к указанной в методике; при оценке суммы примесей или при наличии примесей с разными факторами отклика расчёт результатов фактически сводится к словесному описанию расчетной формулы; при наличии примесей, определяемых по своим стандартным растворам, данным способом невозможно оценить суммарное содержание примесей. Фактически метод сравнения площадей применим только в качестве предельного испытания для подтверждения отсутствия конкретной примеси на уровне, превышающем разрешенный.

14. *Рисунки хроматограмм.* В данном разделе помещают рисунки типичных хроматограмм инъектируемых растворов.

### **Список источников**

1. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 07.09.2018 № 151 «О Руководстве по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата». <https://docs.cntd.ru/document/551086559>
2. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 т. XIV изд. Т. 1–2. М., 2018. <http://pharmacopoeia.ru/wp-content/uploads/2016/11/OFS.1.1.0013.15-Statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-eksperimenta.pdf>
3. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. 1. Ч. 1. М., 2020. [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01426917/err\\_13082020\\_100](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01426917/err_13082020_100)