

ISSN 2414-9195

ФАРМАКОМ

науково-практичний журнал

ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

• наука

• технологія

• якість

• стандартизація

3/4
2020

Редакційна колегія

Головний редактор — Леонт'єв Д. А., д-р фарм. наук

Заступник
головного редактора — Воловик Н. В., канд. фарм. наук

Члени редакційної колегії:

Безугла О. П., канд. фарм. наук, ст. наук. співроб. (Україна)
Блажесвський М. Є., д-р хім. наук, професор (Україна)
Васюк С. О., д-р фарм. наук, професор (Україна)
Гризодуб О. І., д-р хім. наук, професор (Україна)
Гудзенко О. П., д-р фарм. наук, професор (Україна)
Керимов Ю. Б., д-р фарм. наук, професор (Азербайджан)
Коваленко С. І., д-р фарм. наук, професор (Україна)
Котов А. Г., д-р фарм. наук, ст. наук. співроб. (Україна)
Кошовий О. М., д-р фарм. наук, доцент (Україна)
Краснопольський Ю. М., д-р фарм. наук (Україна)
Кресюн В. Й., д-р мед. наук, професор (Україна)
Маслова Н. Ф., д-р біол. наук, професор (Україна)
Півень О. П., д-р фарм. наук (Україна)

- Науково-практичний журнал ФАРМАКОМ видається із серпня 1992 року. Свідоцтво про реєстрацію КВ № 21361-11161ПР від 09.06.2015.
- Засновники: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», м. Харків, Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», Запорізький державний медичний університет.
- Передплата — редакційна (розсилання рекомендованими листами).
- Матеріали публікуються українською, російською та англійською мовами (змішані мови).
 - Адреса редакції: ФАРМАКОМ, ДП «Фармакопейний центр», вул. Астрономічна, 33, Харків, 61085, тел. +380 (67) 716 04 04, +380 (99) 180 06 01 (бух.).
 - E-mail: pharmacomeditor@gmail.com.
 - <http://sphu.org>.
 - Повне або часткове передрукування матеріалів журналу можливе тільки за письмовим дозволом редакції.



9 772414 191900 1



1 7

Зміст

Події

До 60-річчя від дня народження Котова Андрія Георгійовича 4

Дискусійний форум

Підпружников Ю. В., Леонтьєв Д. А., Гризодуб О. І.

Вплив короткочасних температурних відхилень
на якість лікарських засобів під час їх виробництва, зберігання і транспортування 6

Гризодуб О. І., Дмитрієва М. В., Леонтьєв Д. А.

Кількість дозованих одиниць фармацевтичного препарату, достатня
для проведення тесту «Кількісне визначення»: фармакопейні аспекти 19

Стандартизація лікарських засобів

Леонтьєв Д. А., Петрус В. В., Воловик Н. В., Гризодуб О. І.

Аналіз підходів до трансферу аналітичних методик..... 28

Фармакологічні дослідження

Владимирова І. М., Шумова Г. С.

Фармакологічні властивості фітоестрогенів і напрями їх клінічного застосування 49

-
- Рецензенти: канд. фарм. наук Воловик Н. В.; д-р фарм. наук, проф. Євтіфеева О. А.; д-р фарм. наук, доц. Сур С. В.; канд. мед. наук Чайка Л. О.
 - Випуск підготували: Воловик Н. В., Саматов Р. С., Боярська В. О., Лук'янова І. С., Лук'янова О. С.
 - Підписано до друку 21.01.21. Тираж 500 прим.

Content

Events

To the 60th anniversary of Andrii Kotov..... 4

Discussion forum

Pidpruzhnykov Yu. V., Leontiev D. A., Gryzodub O. I.

The influence of short-term temperature excursions on the quality of medicines during their production, storage, and transportation 6

Gryzodub O. I., Dmitriieva M. V., Leontiev D. A.

The number of dosage units sufficient for an Assay test: pharmacopoeial aspects 19

Standardization of medicines

Leontiev D. A., Petrus V. V., Volovyk N. V., Gryzodub O. I.

An analysis of approaches to the transfer of analytical procedures 28

Pharmacological studies

Vladymyrova I. M., Shumova H. S.

Pharmacological properties and the possibility of the clinical use of phytoestrogens..... 49

Содержание

События

К 60-летию со дня рождения Котова Андрея Георгиевича 4

Дискуссионный форум

Погружников Ю. В., Леонтьев Д. А., Гризодуб А. И.

Влияние кратковременных температурных отклонений
на качество лекарственных средств при их производстве, хранении и транспортировке 6

Гризодуб А. И., Дмитриева М. В., Леонтьев Д. А.

Количество дозированных единиц фармацевтического препарата, достаточное
для проведения теста «Количественное определение»: фармакопейные аспекты..... 19

Стандартизация лекарственных средств

Леонтьев Д. А., Петрус В. В., Воловик Н. В., Гризодуб А. И.

Анализ подходов к трансферу аналитических методик 28

Фармакологические исследования

Владимирова И. Н., Шумова А. С.

Фармакологические свойства фитоэстрогенов
и направления их клинического применения 49

Події

До 60-річчя від дня народження
Котова Андрія Георгійовича

21 серпня 2020 р. виповнилось 60 років доктору фармацевтичних наук, старшому науковому співробітнику Котову Андрію Георгійовичу. У 1982 році він закінчив Харківський державний фармацевтичний інститут за спеціальністю «провізор» і за власним бажанням був розподілений на роботу в Киргизьку СР (сел. Кіровське, ЦРА (Таласька область), де працював одночасно, через відсутність відповідних фахівців, як старший провізор по району й хімік-аналітик до залучення в лави радянської армії. У 1984 році, після закінчення служби в армії, був прийнятий на роботу у Всесоюзний НДІ хімії і технології лікарських засобів (пізніше — ДП «Державний науковий центр лікарських засобів») у відому в СРСР Лабораторію природних і синтетичних гетероциклів, що існувала під керівництвом проф. Комісаренка Миколи Федотовича, у сектор проф. Хвороста Павла Петровича. Там Андрій Георгійович працював до грудня 2009 року, пройшовши шлях від інженера до провідного наукового співробітника. За період роботи в ДП «ДНЦЛЗ» Андрій Георгійович освоїв методи виділення з лікарських рослин й ідентифікації речовин терпеноїдної природи, кумаринів, флавоноїдів, похідних коричної кислоти та ін. З різної рослинної сировини Котовим А. Г. загалом виділено й ідентифіковано більше 30 біологічно активних

сполук, для яких встановлено структуру і які є в наявності. У 1996 році результатом наукової роботи став захист кандидатської дисертації під керівництвом проф. Комісаренка М. Ф. і проф. Хвороста П. П. за темою «Терпеноиды и фенилпропаноиды некоторых видов семейства *Asteraceae*». У дисертації були висвітлені проблеми сучасної хімії сесквітерпенів оману, дитерпенів стевії, кумаринів ромашки й ехінацеї, описані методи виділення, ідентифікації, розробки технології отримання високочистих стандартних речовин (ізоалантолактон, стевіозид, олеанолова кислота), а також розробки технологій рослинних лікарських препаратів із таких відомих рослин, як оман («Алантон»), ромашка («Рекутан»), ехінацея, стевія («Стевіозид»). У ті ж роки Андрій Георгійович брав участь у розробці лікарських рослинних препаратів на основі гіркокаштану («Ескувіт», «Ескузан»), звіробою, хвоща, споришу, марени, золотарника (екстракти для препарату «Фітоліт»), нагідків («Калефлон») тощо.

З 1996 р. Андрій Георгійович Котов — керівник робіт за темами «Виділення й очищення субстанцій рослинного походження для атестації в якості стандартних зразків» і спільно з проф. Піддружниковим Ю. В. починає розробку концепції рослинних стандартних зразків в Україні. Саме тоді під керівництвом А. Г. Котова були напрацьовані (у деяких випадках розроблені технології) такі стандартні зразки, як ізоалантолактон, стевіозид, гіперозид, кверцетин, франгулаемодин, келін, олеанолова кислота, які є досі затребуваними. Водночас А. Г. Котов є ініціатором створення таких пошукових напрямів у ДП «ДНЦЛЗ», як «Лікувально-профілактичні бальзами», «Зелена аптека», «Створення науково обґрунтованих оригінальних фітохімічних комплексів і комбінованих препаратів на їх основі», що принесло широку популярність розробленим препаратам. Як керівник розробки фітохімічного дизайну складних і комбінованих препаратів із лікарської рослинної сировини Андрій Георгійович теоретично обґрунтував і розробив рецептури, технології, напрями стандартизації таких препаратів, як «Вігор», «Тонус», «Сарепта», «Кардіофіт», «Авеол», «Карфісед», «Урофіла», «Фітогусин», «Фларосукцин» й ін.

Також із 1996 р. Андрій Георгійович Котов був прийнятий за сумісництвом на роботу в ДП «Фармакопейний центр» у лабораторію фармакопейного аналізу, яку на той час очолювала Хованська Наталія Петрівна. Ця подія стала новим етапом у подальшій науковій діяльності А. Г. Котова. У цей період за завданням Фармакопейного центру для уніфікації контролю якості для всіх фармацевтичних підприємств України Котовим А. Г. і під його керівництвом були розроблені методики контролю якості для таких брендів готових рослинних лікарських засобів, як нагідків настойка, глоду настойка, собачої кропиви настойка, евкалипта настойка. 1998 рік для Андрія Георгійовича ознаменувався великою і плідною роботою як з іноземними партнерами, зокрема фірмою «HERBAPOL S.A.», так і з вітчизняними виробниками — «Сарепта», «Межиріцький вітамінний комбінат», «Червона зірка», «Ліки Кіровоградщини», «ЕЙМ» тощо.

З 2003 р. А. Г. Котов став ініціатором розробок монографій на лікарську рослинну сировину (ЛРС) для включення до Державної Фармакопеї України (ДФУ). Під його керівництвом обґрунтовано алгоритм проведення досліджень ЛРС, яка росте або культивована в Україні, спрямованих на гармонізацію національних вимог із вимогами Європейської Фармакопеї, а також відповідно до концепції ДФУ. Набутий досвід робіт по введенню у ДФУ монографій на ЛРС з урахуванням національної специфіки у 2007 році посприяв проведенню масштабних робіт з передачі досвіду розробникам Фармакопеї Республіки Казахстан.

З 2009 року Андрій Георгійович — провідний науковий співробітник відділу Державної Фармакопеї України, керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина». За його безпосередньою участю й під його керівництвом сьогодні до чинних видань ДФУ введені понад 370 монографій на лікарську рослинну сировину й лікарські рослинні препарати, з яких понад 60 є суто національними. Результатом колосального обсягу робіт у цьому напрямі став захист у 2013 році докторської дисертації на тему «Фармакопейні аспекти стандартизації якості лікарської рослинної сировини і препаратів на її основі».

З 2014 року Андрій Георгійович почав чергову нову сторінку у своїй діяльності спочатку

як заступник начальника відділу Державної Фармакопеї України, а потім як керівник відділу, коли Котов А. Г. здійснював координацію робіт зі створення ДФУ 2.0, а від 2015 р. — загальне й наукове керівництво й координацію наукових напрямів і робіт зі створення доповнень до ДФУ 2.0. За його керівництва відділом ДФУ протягом п'яти років вже вийшло п'ять доповнень до ДФУ 2.0.

Андрій Георгійович є автором близько 200 наукових праць (20 авторських свідоцтв і патентів), підготував 1 кандидата наук, був консультантом зі стандартизації ЛРС у 16 кандидатських і 16 докторських роботах. Дві учениці Андрія Георгійовича — Тихоненко Н. І. і Мострянська Н. М. — були взяті на роботу в Європейський директорат якості (EDQM).

За роки трудової діяльності Андрій Георгійович був членом спеціалізованої експертної фармакопейної комісії ДП «Фармакопейний центр», членом Науково-технічної ради Державного фармакологічного центру МОЗ України (2005-2007 рр.), вченим секретарем спеціалізованої вченої ради за спеціальністю 15.00.03 при ДП «ДНЦЛЗ» (2006-2009 рр.), членом Технологічної комісії Державної служби лікарських засобів і виробів медичного призначення (2008-2010 рр.), експертом Європейської Фармакопеї (комісії 13 А і 13 В (фітохімія) і ТКМ (традиційна китайська медицина) до 2013 р). Є членом редакційної колегії Державної Фармакопеї Республіки Казахстан й членом редакційної колегії фахового журналу «Фармаком». З 2014 року і дотепер — член спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України.

Котов А. Г. неодноразово нагороджений грамотами Державної служби України з лікарських засобів, Асоціації фармацевтів й обласних органів влади, іменний стипендіат облдержадміністрації Харкова в галузі науки в номінації «Фармація» (лауреат стипендії ім. М. О. Валяшка для видатних науковців).

Увесь попередній досвід Андрія Георгійовича Котова свідчить про те, що він ніколи не відступає перед життєвими викликами, чи то науковими, чи то кар'єрними, і будь-яка наступна сходинка на його шляху обов'язково стає черговою сходинкою успіху, і, що важливо, передусім суспільного.

Колектив ДП «Фармакопейний центр», ДП «ДНЦЛЗ», редакція журналу «Фармаком» щиро вітають шановного Андрія Георгійовича з ювілеєм, бажають нових наукових звершень, творчого натхнення, міцного здоров'я і подальших успіхів на ниві розбудови фармацевтичної галузі України.

Дискусійний форум

УДК 615.014.4:614.27:615.07

Подпружников Ю. В., Леонтьев Д. А., Гризодуб А. И.
ООО «Химическая компания «Сполука»», Киев, Украина
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», Харьков, Украина

Влияние кратковременных температурных отклонений на качество лекарственных средств при их производстве, хранении и транспортировке

Соблюдение установленных в нормативной документации требований к температуре хранения является одним из необходимых условий обеспечения качества лекарственных средств (ЛС) в процессе их производства, хранения и транспортировки. Однако, учитывая реалии, связанные с имеющимся дизайном производственных, складских помещений, инженерных систем и транспортных средств, очевидно, что кратковременные температурные отклонения от установленных пределов при хранении и транспортировке ЛС являются неизбежными. Данный обзор посвящен анализу имеющейся научной, рекомендательной и нормативной базы, а также ожиданий регуляторов по отношению к кратковременным температурным отклонениям с их экстраполяцией на качество ЛС. В данном аспекте проведен анализ требований надлежащих практик, применимых на соответствующих этапах обращения ЛС: GMP, GDP, GSP, GTDP, а также руководства ВОЗ по хранению и транспортировке время- и термочувствительных ЛС (TTSP). Проведен критический анализ требований и ожиданий регуляторных органов в отношении использования средней кинетической температуры (МКТ) для оценки кратковременных температурных отклонений. Изложены положения основанного на использовании МКТ фармакопейного подхода USP в отношении допустимых температурных отклонений при хранении и транспортировке ЛС. Показана целесообразность разработки и внедрения национальных фармакопейных текстов, которые в дальнейшем могут использоваться фармацевтическими производителями и дистрибьюторами для оценки влияния кратковременных температурных отклонений на качество ЛС. Эти подходы могут помочь производителям и дистрибьюторам оптимизировать свои технологические решения по обеспечению и контролю температурных условий хранения и транспортировки ЛС. Актуальным является вопрос имплементации рассмотренных научно обоснованных подходов в ГФУ.

Ключевые слова: хранение и транспортировка лекарственных средств, кратковременное температурное отклонение, средняя кинетическая температура, фармакопейные требования.

UDC 615.014.4:614.27:615.07

Summary

Pidpruzhnykov Yu. V., Leontiev D. A., Gryzodub O. I.
Spoluka Chemical Company LLC, Kyiv, Ukraine
State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv, Ukraine

The influence of short-term temperature excursions on the quality of medicines during their production, storage, and transportation

Compliance with the storage temperature requirements established in the specifications is one of the necessary conditions for ensuring the quality of medicines during their production, storage, and transportation. Unfortunately, short-term temperature excursions from the established limits during the storage and transportation of medicines are inevitable, considering the existing design of the production and storage facilities, utilities, and transport vehicles. This review is devoted to the analysis of available scientific, recommendatory, and regulatory sources, as well as the expectations of regulators regarding the short-term temperature excursions and their extrapolation to the quality of medicinal products. An overview of the requirements of good practices applicable at the respective stages of drug circulation: GMP, GDP, GSP, GTDP, as well as the WHO guideline for storage and transportation of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products (TTSP) is provided. A critical analysis of the regulatory requirements and expectations of regulators regarding the usage of mean kinetic temperature (MKT) to assess the short-term temperature excursions is carried out. The provisions of the USP approach to the permissible temperature excursions during storage and transportation of medicines based on MKT usage are outlined. The expediency of the development and implementation of respective national pharmacopoeial texts is shown. These texts can be used by pharmaceutical manufacturers and distributors to assess the impact of such short-term temperature excursions on the quality of medicinal products. The discussed approaches can help manufacturers and distributors optimize their technological solutions to ensure and control the required temperature conditions during pharmaceutical production, storage, and transportation of medicines. The implementation of the considered scientifically grounded approaches in the State Pharmacopoeia of Ukraine is actual.

Keywords: storage and transportation of medicines, short-term temperature excursion, mean kinetic temperature, pharmacopoeial requirements.

УДК 615.014.4:614.27:615.07

Резюме

Підпружников Ю. В., Леонтьев Д. А., Гризодуб О. І.
ТОВ «Хімічна компанія «Сполука»», Київ, Україна
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» Харків, Україна

Вплив короточасних температурних відхилень на якість лікарських засобів під час їх виробництва, зберігання і транспортування

Дотримання встановлених у нормативній документації вимог до температури зберігання є однією з необхідних умов забезпечення якості лікарських засобів (ЛЗ) у процесі їх виробництва, зберігання і транспортування. Проте, з огляду

на реалії, пов'язані з наявним дизайном виробничих, складських приміщень, інженерних систем і транспортних засобів, очевидно, що короточасні температурні відхилення від встановлених меж під час зберігання і транспортування ЛЗ є неминучими. Цей огляд присвячений аналізу наявної наукової, рекомендаційної і нормативної бази, а також очікувань регуляторів щодо короточасних температурних відхилень з їх екстраполяцією на якість ЛЗ. У цьому аспекті проаналізовано вимоги належних практик, застосованих на відповідних етапах обігу ЛЗ: GMP, GDP, GSP, GTDP, а також керівництва ВООЗ щодо зберігання і транспортування часо- і термочутливих ЛЗ (TTSP). Проведено критичний аналіз вимог і очікувань регуляторних органів щодо використання середньої кінетичної температури (МКТ) для оцінювання короточасних температурних відхилень. Викладено положення заснованого на використанні МКТ фармакопейного підходу USP щодо допустимих температурних відхилень під час зберігання і транспортування ЛЗ. Показано доцільність розробки й впровадження національних фармакопейних текстів, які надалі можуть використовуватись фармацевтичними виробниками і дистриб'юторами для оцінювання впливу короточасних температурних відхилень на якість ЛЗ. Ці підходи можуть допомогти виробникам і дистриб'юторам оптимізувати свої технологічні рішення щодо забезпечення і контролю температурних умов зберігання і транспортування ЛЗ. Актуальним є питання імплементації розглянутих науково обґрунтованих підходів у ДФУ.

Ключові слова: зберігання і транспортування лікарських засобів, короточасне температурне відхилення, середня кінетична температура, фармакопейні вимоги.

Соблюдение установленных в нормативной документации требований к температуре хранения является одним из необходимых условий обеспечения качества лекарственных средств (ЛС) в процессе их производства, хранения и транспортировки. Очевидно, что температурные отклонения от установленных пределов потенциально могут повлиять на показатели качества в сторону их ухудшения, вплоть до несоответствия ЛС спецификации, монографии фармакопеи или иной нормативной документации. Такие лекарственные средства перестают соответствовать своему назначению и могут нанести вред здоровью или даже жизни пациента. Безусловной обязанностью производителя и/или держателя регистрационного свидетельства на ЛС является обеспечение надлежащих условий хранения в процессе обращения этих ЛС. Однако, учитывая реалии, связанные с имеющимся дизайном производственных, складских помещений и транспортных средств, используемых для доставки ЛС, а также с режимами эксплуатации технических средств, в т. ч. с их периодическими поломками, сбоями, ремонтами, планово-профилактическим обслуживанием, а также воздействием различных климатических условий окружающей среды и пр., следует признать, что кратковременные температурные отклонения от установленных пределов при производстве, хранении и транспортировке ЛС являются неизбежными. Вопрос о допустимости кратковременных температурных отклонений и связанном с этим влиянии на качество ЛС без сомнения является чрезвычайно актуальным.

Настоящий обзор посвящен анализу имеющейся научной, рекомендательной и нормативной базы, а также ожиданий регуляторов по отношению к кратковременным температурным отклонениям с их экстраполяцией на качество ЛС. Анализ существующих тенденций и их обобщение поможет выработать рациональ-

ные подходы к допустимым температурным отклонениям без ущерба для качества ЛС. Такие подходы могут послужить основой разработки фармакопейных рекомендаций, методических указаний или иных нормативных документов в сфере обращения ЛС.

1. Требования надлежащих практик в отношении соблюдения установленных условий хранения ЛС и допустимости кратковременных температурных отклонений

В надлежащих практиках, которые сопровождают каждый из соответствующих этапов жизненного цикла ЛС [1], содержатся требования о необходимости соблюдения установленных условий хранения. Некоторые из этих практик являются обязательными требованиями при выполнении какого-либо этапа обращения ЛС, например: Надлежащая производственная практика (GMP) при их производстве [2] или Надлежащая дистрибьюторская практика (GDP) при их дистрибуции [3]. Иные являются дополнительными, такие как Надлежащая практика хранения (GSP) [4], применимыми к конкретным материалам, например Надлежащая практика дистрибуции активных фармацевтических ингредиентов [5], Надлежащая практика торговли и дистрибуции (GTDP) фармацевтического исходного сырья [6]. Некоторые надлежащие практики относятся к специфическим ЛС, например к тем, которые являются особенно чувствительными к условиям хранения. Как раз последним посвящено руководство Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по хранению и транспортировке время- и термочувствительных ЛС [7], отдельные положения которого мы также охарактеризуем.

В руководстве GMP Европейского Союза [2] так же, как и в гармонизованном с ним руководстве GMP Организации по сотрудниче-

ству фармацевтических инспекций PIC/S [8], указывается, что производитель, в частности, обязан обеспечить соответствующие условия хранения и транспортировки ЛС (п. 1.8 iii), при дистрибуции продукции свести к минимуму риски для ее качества, учитывать правила GDP (п. 1.8 ix). Указывается, что в складских зонах следует поддерживать требуемую температуру и осуществлять мониторинг параметров хранения (п. 3.19), все исходное сырье, упаковочные материалы и продукцию следует хранить в соответствующих условиях, установленных производителем (п. 5.7). Отметим, что руководство GMP, принятое в Украине [9] и являющееся обязательным для отечественных производителей ЛС при лицензировании, также содержит требования, эквивалентные указанным выше.

Правила GDP [3] предусматривают, что помещения должны быть спроектированы или оснащены таким образом, чтобы обеспечить соблюдение требуемых условий хранения ЛС (п. 3.2), сами складские операции также должны обеспечивать требуемые условия хранения (п. 5.5), а все действия дистрибьютора должны осуществляться так, чтобы соблюдались требования, указанные на внешней упаковке ЛС (п. 5.1).

Особое внимание в руководстве GDP ЕС [3], а также в аналогичных руководствах PIC/S и Украины [10, 11], уделяется соблюдению требуемых (в соответствии с указаниями производителя или информацией на упаковке) условий хранения ЛС в течение всего времени транспортировки (п. 9.2).

Дистрибьютор, независимо от вида используемого транспорта, обязан осуществлять транспортировку ЛС в условиях, обеспечивающих, в частности, соблюдение необходимого температурного режима в требуемых пределах (п. 9.1). Отмечается, что в случае возникновения таких

отклонений, как выход температуры за установленные пределы, должна использоваться процедура для расследования и обработки данных отклонений (п. 9.2).

В руководстве GDP ВОЗ [12] содержатся аналогичные по сути требования (пп. 9.4, 9.16, 9.17, 9.18, 13.5, 13.6).

В Надлежащей практике хранения ЛС [4] впервые было введено понятие термокартирования и соответствующее нормативное требование (п. 4.18) о том, чтобы во всех местах хранения демонстрировалась однородность температурного режима (т. е. соответствие установленным пределам). Температурные датчики следует размещать в местах наибольшей вариабельности данного параметра (п. 4.18). Хранение ЛС необходимо осуществлять в соответствии с условиями, указанными в маркировке (п. 4.17). При этом в руководстве отмечается, что сами указанные условия хранения должны базироваться на результатах испытания стабильности. Последнее положение является очень важным, в т. ч. для нашего дальнейшего обсуждения.

В документе [4] приведены условия хранения, которые рекомендуется вносить в маркировку в зависимости от требуемого для конкретного ЛС температурного режима хранения (Табл. 1).

Под «нормальными» («normal») условиями хранения в рассматриваемом документе понимается хранение в сухом, хорошо проветриваемом помещении при температуре от 15 °С до 25 °С или, в зависимости от климатической зоны, до 30 °С.

В документе [4] отмечается, что ЛС, которые необходимо хранить при установленных условиях, требуют соответствующих инструкций по хранению. Очень важным является то, что отклонения (за исключением обеспечения хране-

Таблица 1

Рекомендуемые ВОЗ для внесения в маркировку условия хранения ЛС

В маркировке указано	Означает
«Хранить при температуре не выше 30 °С»	от +2 °С до +30 °С
«Хранить при температуре не выше 25 °С»	от +2 °С до +25 °С
«Хранить при температуре не выше 15 °С»	от +2 °С до +15 °С
«Хранить при температуре не выше 8 °С»	от +2 °С до +8 °С
«Хранить при температуре не ниже 8 °С»	от +8 °С до +25 °С
«Беречь от влаги»	при нормальных условиях хранения относительная влажность не выше 60 %; должно поставляться пациенту во влагостойком контейнере
«Беречь от света»	должно поставляться пациенту в светозащитном контейнере

ния в холодном месте, условия которого должны поддерживаться постоянно) допустимы только во время кратковременных «вмешательств», например во время местной транспортировки ЛС. Однако ни длительность, ни величина допустимых температурных отклонений в указанном документе не оговариваются.

Отметим, что принятое в Украине руководство GSP [13] вместо приведенной выше Табл. 1 содержит информацию из документа Европейского агентства по лекарственным средствам (ЕМА) CPMP/QWP/609/96/Rev 2 [14], который дает указания в отношении декларирования условий хранения. Поскольку нормы данного документа непосредственно связаны с обсуждаемой темой и будут использованы в данной публикации ниже, приведем основное содержание данных указаний в Табл. 2.

В обсуждаемом документе [14], который является обязательным для исполнения в границах ЕС, отмечается, что условия хранения ЛС должны основываться на оценке исследований стабильности готовой продукции. При этом

делается отсылка к руководствам СМНР/СНН, где условия хранения для исследований в реальном времени были выбраны как 25 °С / 60 % относительной влажности. Эти исследования должны быть поддержаны ускоренными или промежуточными исследованиями стабильности на основе средней кинетической температуры климатической зоны I/II, соответствующей зонам ЕС. В документе отмечается, что средняя кинетическая температура включает в себя годовые колебания, т. е. более низкие и более высокие температуры в течение зимнего и летнего сезонов. Таким образом, хранение при постоянной температуре 25 °С во время исследований стабильности в реальном времени охватывает фактическое температурное воздействие, которое может возникнуть в условиях окружающей среды по всей Европе, включая отклонения от 25 °С, которые могут происходить в реальном времени. В данном документе мы видим, что средняя кинетическая температура (mean kinetic temperature, МКТ) является

Таблица 2

Рекомендуемые ЕМА для внесения в маркировку условия хранения ЛС и условия проведения исследований стабильности

Условия проведения исследований, если препарат стабильный	Указания, необходимые в маркировке	Дополнительные указания в маркировке* (при необходимости)
25 °С / 60 % (долгосрочные исследования) 40 °С / 75 % (ускоренные исследования) или 30 °С / 65 % (долгосрочные исследования) 40 °С/75 % (ускоренные исследования)	Нет***	«Не охлаждать» или «Не замораживать»
25 °С / 60 % (долгосрочные исследования) 30 °С / 60 % или 65 % (промежуточные исследования) или 30 °С/65 % (долгосрочные исследования)	«Хранить при температуре не выше 30 °С» или «Хранить при температуре ниже 30 °С»	«Не охлаждать» или «Не замораживать»
25 °С / 60 % (долгосрочные исследования)	«Хранить при температуре не выше 25 °С» или «Хранить при температуре ниже 25 °С»	«Не охлаждать» или «Не замораживать»
(5 ± 3) °С (долгосрочные исследования)	«Хранить в холодильнике» или «Хранить и транспортировать холодным»****, **	«Не замораживать»
Ниже 0 °С	«Хранить в морозильной камере» или «Хранить и транспортировать в морозильной камере» *****, **	

* В зависимости от лекарственной формы и свойств препарата может возникнуть риск снижения качества вследствие физических изменений при воздействии низких температур. Низкие температуры могут также в некоторых случаях оказывать действие на упаковку. Может потребоваться дополнительное указание в маркировке, чтобы обратить внимание на такую возможность.

** В краткой характеристике препарата должна быть ссылка на диапазон температуры, например от 2 °С до 8 °С.

*** Необходимо следующее указание в краткой характеристике препарата: «Для этого лекарственного препарата не нужны какие-либо специальные условия хранения».

**** При принятии решения о необходимости транспортировки в холодильнике следует учитывать данные по стабильности, полученные при долгосрочных испытаниях при температуре 25 °С и относительной влажности 60 %. Такое указание следует использовать в исключительных случаях.

***** Такое указание следует использовать, только если это необходимо.

основой изучения стабильности и декларирования условий хранения.

Таким образом, основанием для выбора условий хранения должны служить результаты исследований стабильности, представленные на момент подачи регистрационного досье, т. е. должна существовать прямая связь между указанием условий хранения в маркировке и представленными в регистрационных документах показателями стабильности готового ЛС. При этом указание определенных условий хранения не может быть использовано для компенсации недостаточных данных по стабильности, например при отсутствии исследований стабильности в ускоренных и промежуточных условиях хранения. Обратим внимание на последнее важное указание о необходимости исследований стабильности не только в долговременном режиме реального времени, но и в ускоренных и/или промежуточных условиях — к этому указанию мы вернемся ниже. Попутно отметим, что для обозначения условий хранения считается неприемлемым использование таких терминов, как «комнатная температура» или «условия окружающей среды».

В контексте обсуждаемой темы следует рассмотреть также отдельные положения руководства ВОЗ по хранению и транспортировке время- и термочувствительных ЛС (ТТСПП) [7]. Под такими препаратами понимаются любые ЛС или продукция, которые, если они не хранятся или не транспортируются в заранее определенных условиях окружающей среды и/или в заранее определенные сроки, ухудшаются до такой степени, что более не выполняют свои первоначальные функции. Чрезвычайно важным вопросом, который затрагивает данный документ, являются кратковременные отклонения от установленных температурных условий хранения. В отношении таких случаев в данном документе, а также в документах, которые мы рассмотрим далее, в зарубежной специализированной литературе используется термин «excursions». Иногда в зарубежной литературе используется термин «deviations» для обозначения таких отклонений, но все же первый термин применяется для данных случаев значительно чаще.

Под температурным отклонением понимается случай отклонения, при котором ЛС (ТТСПП) подвергается воздействию температур, выходящих за пределы диапазона(ов), предписанного(ых) для хранения и/или транспортировки. Обратим внимание, что температурные диапазоны для хранения и транспортировки могут быть одинаковыми или разными; они определяются про-

изводителем продукта на основании данных о стабильности, на что однозначно указывает цитируемый документ [7]. В разделе «Транспортировка и доставка» данного документа вводится понятие «Профиль стабильности препарата». При этом отмечается, что ЛС (ТТСПП) следует транспортировать таким образом, чтобы температура транспортировки соответствовала местным нормативным требованиям у грузоотправителя и грузополучателя и/или чтобы отклонения температуры выше или ниже обозначенного производителем диапазона температур хранения не влияли на качество продукции. Данные о стабильности препарата должны демонстрировать приемлемое время и амплитуду для температурного отклонения во время транспортировки.

В этом документе отмечается (пп. 4.5.2, 6.5.2), что мониторинг температуры при хранении и транспортировке в «холодных» условиях следует проводить не реже 6 раз в час, что будет важно для наших последующих рассуждений. Все недопустимые отклонения температуры должны быть оценены для определения их влияния на качество продукции. Записи мониторинга температуры должны включать записи об отклонениях от температуры, установленной для хранения и/или транспортировки ЛС, при необходимости предпринимаются корректирующие или предупреждающие действия (CAPA). Записи мониторинга рекомендуется анализировать ежемесячно для выявления отклонений от установленной температуры, имеющих систематический характер.

2. Ожидания регуляторов в отношении кратковременных температурных отклонений при хранении/транспортировке ЛС

Вопросы кратковременных температурных отклонений при хранении и транспортировке ЛС являются предметом регулирования надзорных органов. Как правило, руководящие документы, которые утверждаются регуляторами, являются обязательными для исполнения на соответствующей территории. Для нас рассмотрение данных документов также будет полезным в контексте рассматриваемой проблематики.

В руководстве по контролю температуры при хранении и транспортировке ЛС канадского регуляторного агентства Health Canada указано, что медикаменты необходимо хранить и транспортировать в соответствии с заранее установленными, указанными в маркировке условиями (например, температура и

т. д.), которые подтверждены данными о стабильности [15]. Отмечается, что температурные отклонения от установленных пределов в течение коротких промежутков времени могут быть приемлемыми при условии, что имеются данные о стабильности и обеспечено научно-техническое обоснование, демонстрирующее, что качество продукции не пострадает. В компании должны быть письменные процедуры, описывающие действия, которые необходимо предпринять в случае отклонения температуры от указанных в маркировке условий хранения. Решение вопроса о дальнейшем размещении ЛС (разрешенные, карантин, отбракованные), которые подверглись указанному влиянию, должно быть основано на доказательствах (таких, например, как данные о стабильности и техническое обоснование). Записи о расследованиях указанных отклонений должны сохраняться не менее одного года после истечения срока годности серии ЛС, которая была подвержена влиянию температурного отклонения. При необходимости реализуется план CAPA. Под требуемыми данными о стабильности ЛС в данном документе понимаются данные ускоренного исследования стабильности и, при необходимости, данные исследования стабильности в условиях промежуточного хранения, которые могут быть использованы для оценки эффекта кратковременных отклонений, выходящих за указанные в маркировке условия хранения (например, при транспортировке).

Для изучения стабильности ЛС на уровне Международного совета по гармонизации (ICH) принята серия руководств Q1. Эти руководства были затем имплементированы в эквивалентные руководства ЕС, США и Японии, обязательные к исполнению в границах соответствующих территорий. Отметим, что данная серия документов, как и иные принимаемые на уровне ICH руководства, применяется, по сути, во всех фармацевтически развитых странах мира, которые как являются, так и не являются членами ICH. Наиболее тесно связано с рассматриваемым нами вопросом руководство ICH Q1A(R2) по испытанию стабильности новых лекарственных веществ и препаратов [16], отдельные положения которого мы также охарактеризуем.

Целью проведения испытаний стабильности является получение данных об изменении показателей качества активного фармацевтического ингредиента (АФИ) или готового лекарственного средства (ГЛС) с течением времени под влиянием различных факторов окружающей среды (таких как температура, влажность

и свет), а также установление рекомендуемых условий хранения и периода до проведения повторных испытаний для субстанции или срока годности для ГЛС.

3. Средняя кинетическая температура

Выбор условий для долгосрочных исследований стабильности основан на информации о средней кинетической температуре в различных климатических зонах. Средняя кинетическая температура (МКТ) включает ежегодные изменения, т. е. самые низкие и самые высокие температуры в течение зимы и лета. Таким образом, хранение при постоянной температуре 25 °С во время долгосрочных исследований стабильности охватывает воздействие фактической температуры, которая соответствует условиям окружающей среды, включая отклонения от 25 °С. Такого же мнения по отношению к декларированию условий хранения, которые основаны на испытаниях стабильности, планируемых с учетом средней кинетической температуры, придерживается общеевропейский регулятор — ЕМА [14], о чем было сказано выше.

Исходя из изложенных требований очевидно, что современной научной основой оценки влияния температуры на сроки годности ЛС, т. е. на его стабильность, является МКТ. К сожалению, некоторые регуляторы до настоящего времени не рассматривают подходы, основанные на МКТ, для оценки кратковременных температурных отклонений. В результате в инспекционных отчетах появляются казусы в виде нарушений «критического» уровня, если, например, инспектор зафиксировал, что при упаковке серии ЛС в течение смены либо при хранении ее на складе температура составляла 27 °С или 28 °С в течение 1 суток, а в маркировке препарата указаны условия хранения «не выше + 25 °С». С научно обоснованной позиции очевидно, что при условиях хранения такого препарата «не выше + 25 °С» данное отклонение не повлияет на стабильность препарата, если он остальное время хранился и транспортировался при температуре, не превышающей 25 °С. Если бы регулятор взял во внимание аргументацию предприятия, основанную на оценке средней кинетической температуры, которая демонстрирует допустимость подобного отклонения и отсутствие в результате него какого-либо негативного влияния на качество ЛС и риска для пациента, данное отклонение никоим образом не могло бы получить оценку «критическое» в инспекторском отчете.

Иные регуляторные агентства, напротив, воспринимают такой подход как научно обоснованный и стимулируют его использование в рамках фармацевтического производства без ущерба для качества ЛС и без какого-либо дополнительного риска для пациента. Примером такого научно обоснованного отношения к указанному вопросу является документ, принятый Ирландским регуляторным агентством (Health Products Regulatory Authority, HPRA) [17]. Основные положения данного документа, относящиеся к рассматриваемой теме, мы охарактеризуем ниже.

Средняя кинетическая температура (МКТ) — это единая расчетная температура, которая (при условии ее поддержания в течение определенного периода времени) обеспечивает такое же тепловое воздействие на АФИ или ГЛС, как и воздействие в диапазоне более высоких или более низких температур в течение такого же периода.

Использование МКТ основано на нескольких предположениях:

1. Скорость деградации лекарственного средства описывается кинетическим уравнением 1-го порядка, т. е.

$$\frac{dc}{dt} = -K \times c, \quad (1)$$

где c — концентрация,

t — время,

K — константа скорости.

2. Зависимость константы скорости K от абсолютной температуры T описывается уравнением Аррениуса:

$$K = A \times e^{-\Delta H/RT}, \quad (2)$$

где ΔH — энергия активации, для большинства ЛС она находится в диапазоне 42 – 125 кДж/моль (среднее 83.14);

R — универсальная газовая постоянная, 8.31 Дж/(моль·К);

A — постоянная величина, не зависящая от температуры.

Логарифмируя уравнение (2), получим:

$$\ln(K/A) = -\Delta H/RT. \quad (3)$$

3. Диапазон температур делится на n равных температурных интервалов, каждый из которых характеризуется абсолютной температурой T_i . Запишем для каждой температуры T_i уравнение Аррениуса (2) и введем понятие средней константы скорости K_M для выбранного температурного диапазона:

$$K_M = \frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n K_i = \frac{A}{n} \times \sum_{i=1}^n e^{-\Delta H/RT_i}. \quad (4)$$

Переносим A в левую часть и проводя логарифмирование, получим:

$$\ln(K_M/A) = \ln\left(\frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n e^{-\Delta H/RT_i}\right). \quad (5)$$

Приравнявая правые части уравнений (3) и (5), получим выражение для средней кинетической температуры (T_k):

$$T_k = \frac{\Delta H/R}{-\ln\left(\frac{e^{-\Delta H/RT_1} + e^{-\Delta H/RT_2} + \dots + e^{-\Delta H/RT_n}}{n}\right)}. \quad (6)$$

Поскольку зависимость скорости реакции от энергии активации и температуры является экспоненциальной, небольшое изменение температуры или энергии активации вызывает большое изменение скорости реакции.

Энергия активации — ΔH обычно определяется экспериментально путем измерения константы скорости реакции K при различных температурах T , построения зависимости логарифма константы скорости реакции K от $1/T$ и определения угла наклона прямой, которая наилучшим образом соответствует экспериментальным точкам.

МКТ является единой расчетной температурой, при которой общая степень деградации ЛС за определенный период равна сумме индивидуальных деградаций, которые могли бы возникнуть при различных температурах. Другими словами, поскольку скорость разложения ЛС изменяется с температурой, трудно точно определить, насколько ЛС могло разложиться, если его температура хранения не поддерживается постоянной. МКТ снимает эту неопределенность, учитывая кумулятивное воздействие температуры на ЛС за определенный период.

Очевидно, что при понижении температуры скорость деградации уменьшается, а при повышении — увеличивается. МКТ является, по сути, интегрированной функцией время/температура, которая связана с деградацией ЛС. Следовательно, МКТ можно рассматривать как изотермическую температуру хранения, которая имитирует неизотермические эффекты изменения температуры при хранении. МКТ не является средним арифметическим, а включает экспоненциальные и логарифмические отношения.

МКТ отражает контрольную точку, которая рассчитывается на основе ряда температур. Она характеризуется тем, что более высокие температуры имеют больший вес, чем при вычислении среднего значения температуры. Это взвешивание определяется геометрическим преобразованием, натуральным логарифмом

значения температур. Непропорциональный вес более высоких температур в температурном ряду согласно МКТ учитывает повышение скорости термического разложения материалов при этих более высоких температурах. Таким образом МКТ компенсирует этот нелинейный эффект температуры.

Для того чтобы МКТ была репрезентативной, следует использовать соответствующее количество точек измерения температуры/времени. МКТ может применяться только в ситуациях, когда температурный контроль в зоне хранения достаточно частый, но когда случаются периодические отклонения от нормы из-за сезонных колебаний.

4. Применение средней кинетической температуры

Как следует из документа [17], МКТ может применяться только в тех случаях, когда научные данные о термостабильности рассматриваемого продукта, используемые для установления исходных условий хранения, допускают ограниченные отклонения от 25 °С до 30 °С. Однако только держатель регистрационного свидетельства может определить, влияют ли кратковременные температурные отклонения на термическую стабильность ЛС и, следовательно, применимо ли использование МКТ.

По мнению ирландского регуляторного агентства HPRA [17], к использованию МКТ должны применяться следующие условия:

- МКТ применима только к хранению продуктов в условиях контролируемой комнатной температуры (например, продуктов с маркировкой «хранить при температуре не выше 25 °С»);
- не подходит для продуктов, требующих контролируемого хранения при низкой температуре;
- МКТ нельзя использовать для компенсации ненадлежащего контроля температуры в складских помещениях (например, ввиду неудовлетворительной конструкции помещения или вентиляции);
- случаи выхода за установленные температурные пределы должны быть задокументированы, расследованы и сообщены держателю регистрационного свидетельства;
- если будет применяться МКТ, фактическая температура хранения не должна превышать 30 °С в любой точке, где хранятся ЛС (т. е. для МКТ ≤ 25 °С разрешены отклонения от 15 °С до 30 °С).

Применение МКТ должно быть подробно описано в письменной процедуре производи-

теля ЛС. Максимальный предел МКТ для ЛС, требующего хранения при температуре не выше 25 °С, формально составляет 25 °С, поэтому теоретически это допускает при хранении отклонения температуры от 15 °С до 30 °С. Количество случаев отклонений, допустимых при температурах, выходящих за указанные предельные температуры, должно быть ограничено и соответствовать требованиям GSP и GDP.

5. Подход FDA США

Еще в 1998 году, т. е. значительно раньше, чем вступило в действие рассмотренное выше руководство HPRA, службой FDA США был разработан проект руководства для промышленности по исследованию стабильности АФИ и ЛС [18]. Этот документ разрабатывался параллельно с принятым несколько позже на уровне ICH руководством Q1 [16]. И хотя проект FDA так и не был утвержден в виде руководства по изучению стабильности, он содержал весьма важные указания, которые затем перешли в фармакопейные требования (будут охарактеризованы нами в следующих разделах настоящего обзора). Например, для парентеральных растворов большого объема в полимерных контейнерах допускалась маркировка «Хранить при температуре 25 °С. Допускаются отклонения до 15 – 30 °С». К тому же допускается кратковременное воздействие температуры до 40 °С при условии того, что МКТ не превышает 25 °С, однако такое воздействие следует свести к минимуму. В этом документе были изложены теоретические основы и охарактеризованы некоторые практические аспекты применения средней кинетической температуры для случаев кратковременных температурных отклонений при хранении и транспортировке ЛС.

6. Подход Ассоциации производителей парентеральных лекарственных препаратов

В заключение обзора ожиданий регуляторов относительно допустимых кратковременных температурных отклонений и их влияния на стабильность ЛС следует кратко охарактеризовать подход, изложенный в техническом отчете No. 39 Ассоциации производителей парентеральных лекарственных препаратов [19]. Хотя данная ассоциация и не является регулятором, технические доклады, которые она публикует, зачастую используются регуляторами в специализированной оценке тех или иных аспектов фармацевтического производства. При том что такие доклады не являются регуляторными требованиями, их иногда можно назвать «ожиданиями регуляторов», что говорит о важности рассмотрения, в частности вы-

шеупомянутого документа. Раздел III рассматриваемого документа посвящен «профилю стабильности продукта», где акцент делается на исследованиях, рекомендуемых для оценки влияния температурных отклонений, которые могут возникнуть при транспортировке ЛС, на стабильность данного ЛС. Основное внимание уделяется именно транспортировке, в ходе которой кратковременные температурные отклонения встречаются значительно чаще, чем при хранении ЛС в складских помещениях. Отмечается, что проведение исследований, включающих значения изучаемых температурных отклонений и их продолжительность, является ответственностью компании-производителя ЛС. После воздействия температурных отклонений в рамках их запланированной величины и продолжительности рекомендуется исследовать долговременную стабильность подверженных такому воздействию серий ЛС. По поводу продолжительности воздействия и величины отклонений указанный документ ссылается на то же руководство ICH Q1A [18]. Вместе с тем в приложении приведен ряд примеров выполнения подобных специализированных исследований. Например, для препарата, требующего хранения при температуре от +2 °C до +8 °C, рекомендуется проводить исследования кратковременных температурных отклонений при минус 20 °C (2 дня) и при +40 °C (2 дня) и такие циклы воздействия указанной температуры повторять трижды. Для препаратов, которые должны храниться при температуре от +20 °C до +25 °C, рекомендуется изучать стабильность при кратковременном температурном воздействии при минус 20 °C (2 дня) и при +60 °C (2 дня). Если же дизайн исследования стабильности предусматривает изучение циклов температурного воздействия, то для указанных ЛС рекомендуется выполнять по три цикла воздействия при температурах минус 20 °C (2 дня) и при +40 °C (2 дня). Однако планирование всех испытаний должно основываться на свойствах препарата, т. е. если ожидается физико-химическая неустойчивость ЛС при указанных температурах, такие ЛС не следует включать в исследование при указанных температурах.

Мы считаем, что приведенные выше условия проведения тестов по изучению кратковременного температурного воздействия на ЛС нельзя рекомендовать как унифицированные. С нашей точки зрения, наиболее целесообразным является моделирование возможного температурного режима, который может наблюдаться в условиях реальной транспортировки с учетом

используемых транспортных средств, а также с учетом климатических условий конкретной местности, первичной упаковки, групповой и транспортной тары и пр. С учетом перечисленных факторов можно промоделировать условия «наихудшего случая» по кратковременному температурному воздействию и провести изучения стабильности с кратковременным (соответствующим предполагаемой длительности транспортировки) запланированным воздействием температуры на определенные серии ЛС, которые в дальнейшем подвергаются долговременному изучению стабильности. Безусловно, если проводимые в целях регистрации ЛС ускоренные изучения стабильности или изучения стабильности в промежуточном режиме охватывают указанные «наихудшие случаи» кратковременного температурного воздействия, необходимость в дополнительных исследованиях отпадает.

7. Фармакопейные подходы в отношении кратковременных температурных отклонений при хранении/транспортировке ЛС

Некоторые фармакопеи при нормировании условий хранения ЛС для обеспечения качества препаратов используют научно обоснованные подходы, основанные на МКТ. В иных фармакопеях указана лишь допустимая длительность температурных отклонений, например не более 24 часов (допускается однократное отклонение, за исключением препаратов, требующих постоянного хранения в холодном месте), как приведено в общей статье ОФС.1.1.0010.18 «Хранение лекарственных средств» Государственной фармакопеи XIV Российской Федерации [20]. При этом не указывается величина допустимого температурного воздействия.

8. Подход Фармакопеи США к кратковременным температурным отклонениям при хранении/транспортировке ЛС

Наиболее подробное и практически применимое использование научно обоснованных подходов, основанных на использовании МКТ, включено в монографию <1079> Good Storage and Distribution Practices for Drug Products USP [21]. В монографии отмечается, что ЛС в цепочке поставок могут храниться при температурах, выходящих за температурные пределы, указанные в маркировке (эти пределы определяют при проведении соответствующих исследований стабильности). Таким образом, температура, воздействующая на ЛС, хранящиеся как в складских условиях, так и

в транспортных средствах, в принципе может выходить за пределы нормируемого диапазона температур. Каждое отклонение от нормативных температурных пределов следует оценивать, чтобы определить их конечное влияние на качество ЛС. Средства оценки должны быть научно обоснованными с документально подтвержденным техническим обоснованием того, что качество ЛС не было нарушено. Отмечается, что одним из методов оценки воздействия на ЛС, хранящееся вне нормативных условий хранения, указанных в маркировке, является использование расчета МКТ.

Поскольку МКТ выражает совокупный тепловой стресс, который испытывает ЛС, она считается приемлемой практикой для мониторинга условий хранения ЛС, и, следовательно, МКТ следует использовать также для оценки кратковременных температурных отклонений в процессе транспортировки ЛС. Расчет должен быть обоснован для применения его в оценке температурных отклонений в процессе дистрибуции ЛС путем подтверждения того, что характеристика деградации ЛС следует кинетике первого порядка во всем диапазоне исследуемых температур. Отмечается, что анализ МКТ может использоваться для случаев регистрации температуры, которая превысила допустимые параметры для ЛС в течение короткого периода времени, и что подход МКТ не предназначен для использования в качестве средства для обоснования температуры для длительного хранения.

В монографии приводится рассмотренная нами выше формула (6) для расчета средней кинетической температуры, которая ссылается на уравнение Аррениуса, при этом подчеркивается, что МКТ не является простым средним арифметическим температуры. В монографии указывается, что значения температур, используемых для расчета МКТ, могут быть получены с помощью электронных устройств, которые измеряют температуру через частые интервалы (например, каждые 15 минут). Отмечается, что для мест выдачи ЛС, таких как аптеки и больницы, где использование указанных инструментов может быть невозможно, целесообразно использовать иные устройства, например максимальные/минимальные термометры, способные показывать еженедельные максимальные и минимальные температуры. Затем при вычислении МКТ используется среднее арифметическое значение максимальной и минимальной температуры за неделю. Отметим, что, по нашему мнению, такой подход применим лишь при хранении ЛС при температуре

«не выше +25 °С» или «не выше +30 °С», но не применим к низкотемпературному хранению ЛС.

Указанная монография ссылается на документы ICH [16] и Health Canada [15], которые были охарактеризованы нами выше.

Знание МКТ для допущенных температурных отклонений является важным для оценки их потенциального воздействия на качество ЛС. Однако также важно знать верхний и нижний температурные пределы любого отклонения. Если эти наблюдаемые экстремальные температуры выходят за рамки имеющихся данных о стабильности ЛС, представляется маловероятным достоверно предсказать влияние отклонения на качество ЛС (независимо от вычисления значения МКТ). Несмотря на то, что более высокие температуры имеют больший вес в расчетах, расчет величины МКТ для замороженного продукта, который в процессе хранения/транспортировки замораживается в течение любого промежутка времени, может не привести к приемлемой температуре, хотя продукт может оставаться пригодным. При более высоких температурах кинетика разложения может измениться или могут возникнуть новые реакции разложения. В случае же воздействия более низких температур (близких к замерзанию) может произойти фазовый переход, который, как известно, оказывает негативное влияние на качество некоторых ЛС (например, некоторых белков и вакцин).

Практическое применение подходов, основанных на использовании МКТ, включено в монографию General Chapter <659> Packaging and Storage Requirements USP [22]. Под термином «контролируемая комнатная температура» в монографии понимается температура от 20 °С до 25 °С, при этом следующие отклонения являются допустимыми. Средняя кинетическая температура не должна превышать 25 °С. Допустимыми являются отклонения температуры от 15 °С до 30 °С, которые наблюдаются в аптеках, больницах и складах, а также во время транспортировки. При условии что МКТ не превышает 25 °С, допустимыми являются отклонения до 40 °С, если их длительность не превышает 24 ч. Отклонения температуры выше 40 °С допускаются только в том случае, если это разрешено производителем ЛС. Со своей стороны добавим, что такое разрешение должно основываться на предварительно проведенных исследованиях стабильности, что подробно разбиралось нами выше.

Из изложенного материала видно, что оценка кратковременных температурных отклонений,

основанная на вычислении МКТ и сравнении ее с критериями приемлемости, применима к ЛС, хранящимся при температуре не выше $+25^{\circ}\text{C}$. Однако при этом остается неясным, какой период мониторинга (день, неделя, месяц, год) следует брать за основу при оценке МКТ. Еще больше вопросов по практическому использованию МКТ возникает в ходе оценки температурных отклонений при хранении/транспортировке термолабильных ЛС, требующих хранения при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+8^{\circ}\text{C}$. Вопросы эти связаны с тем, какой временной промежуток рассматривается для вычисления МКТ, какие пределы следует использовать и с какой частотой следует производить измерения температуры при мониторинге. Ответ на часть этих вопросов можно найти в недавней публикации, которая стимулирует процесс пересмотра монографий USP [23]. В публикации были рассмотрены два основных вопроса, связанных с кратковременными температурными отклонениями при хранении/транспортировке ЛС, хранящихся при температуре не выше $+25^{\circ}\text{C}$ и хранящихся при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+8^{\circ}\text{C}$. Для первой категории ЛС авторы, используя примеры из реальной практики хранения и критерии General Chapter <659> USP [22], показали, что в вычисление МКТ целесообразно включать 30-дневный интервал. Это связано с таким же средним временем нахождения ЛС на складе до их дальнейшей дистрибуции (данные из практики обращения ЛС в США). В то же время вычисление МКТ из результатов мониторинга на складе в течение 52 недель, т. е. 1 года, является нецелесообразным. Также для данной категории ЛС нецелесообразно вычислять МКТ, основываясь на результатах мониторинга температуры в течение одного отдельно взятого дня хранения. Для термолабильных ЛС, требующих хранения в холодном месте, напротив, целесообразно вычислять МКТ, базируясь на мониторинге температуры в течение 24 часов. При этом среднее значение МКТ за весь период хранения/транспортировки (включая время, в течение которого наблюдалось превышение температуры выше $+8^{\circ}\text{C}$) не должно превышать $+8^{\circ}\text{C}$. Предлагается ограничить величину воздействия повышенной температуры пределом «не выше $+15^{\circ}\text{C}$ », а длительность воздействия — не более 24 часов. Необходимым условием является накопление достаточно большого массива данных мониторинга температуры с последующей обработкой этих данных для вычисления величины МКТ за весь период транспортировки. Для этого предлага-

ется обеспечить мониторинг температуры с измерением этого параметра не реже одного раза в 15 мин.

Рассмотренная публикация, хотя и не является фармакопейной монографией, проясняет целый ряд вопросов, связанных с применением МКТ. Рекомендации, изложенные в публикации [23] и обсужденные выше, вошли в недавно опубликованную монографию USP-NF <1079.2> Mean Kinetic Temperature in the Evaluation of Temperature Excursions During Storage and Transportation of Drug Products [24], которая является дополнением цитируемой выше монографии <1079> Good Storage and Distribution Practices for Drug Products USP. Это касается допустимых температурных отклонений (включая допустимый период и величину температурного воздействия), требований к предельным значениям МКТ, периодов температурного мониторинга для оценки величин МКТ и периодичности выполнения измерений температуры. При этом дополнение <1079.2> включает указанные требования в отношении ЛС, хранящихся при комнатной контролируемой температуре и хранящихся в холодных условиях. Как отмечается в монографии <1079.2>, она применяется к каждому звену в цепочке поставок ЛС от производителя к потребителю (за исключением пациента), при которых осуществляется транспортировка и/или хранение готовых лекарственных препаратов. К субъектам, на деятельность которых распространяется данная монография (т. е. ее требования являются обязательными при хранении и транспортировке ЛС), относятся: производители ЛС, в т. ч. осуществляющие операции по переупаковке; учреждения здравоохранения; дистрибьюторы; аптеки; импортеры и экспортеры; поставщики логистических услуг, участвующие в транспортировке и/или хранении ЛС. Положения указанной монографии могут применяться также производителями субстанций, косметических средств, изделий медицинского назначения и иной продукции, не являющейся готовыми ЛС.

Таким образом, изложенные выше требования, основанные на оценке МКТ, уже по сути стали фармакопейными и актуальным является вопрос имплементации рассмотренных научно обоснованных подходов в ГФУ в ходе дальнейшего процесса ее фармакопейного развития.

Выводы

Настоящий обзор посвящен анализу имеющейся научной, рекомендательной и нормативной базы, а также ожиданий регуляторов

по отношению к кратковременным температурным отклонениям с их экстраполяцией на качество лекарственных средств. Анализ существующих тенденций и их обобщение поможет выработать рациональные подходы к допустимым температурным отклонениям в процессе хранения и транспортировки медикаментов. Такие подходы могут послужить основой разработки фармакопейных рекомендаций, методических указаний или иных нормативных документов в сфере обращения лекарственных средств. Показана целесообразность разработки и внедрения национальных фармакопейных текстов, которые в дальнейшем могут использоваться фармацевтическими производителями и дистрибьюторами для оценки влияния кратковременных температурных отклонений на качество лекарственных средств. Эти подходы могут помочь производителям и дистрибьюторам оптимизировать свои технологические решения по обеспечению и контролю температурных условий хранения и транспортировки ЛС. Актуальным является вопрос имплементации рассмотренных научно обоснованных подходов в ГФУ в ходе дальнейшего процесса ее фармакопейного развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Система качества и надлежащие практики в фармацевтике / Ю. В. Подпруджников и др. Киев: Наш формат, 2017. 652 с.
2. The rules governing medicinal products in the European Union. Volume 4. EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. URL: http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm.
3. Guidelines of 5 November 2013 on Good Distribution Practice of medicinal products for human use (2013/c 343/01). 28 p.
4. Guide to good storage practices for pharmaceuticals (Annex 9). WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-seventh Report. Geneva, World Health Organization, 2003: 125 – 136 (WHO Technical Report Series, № 908).
5. Guidelines of 19 March 2015 on principles of Good Distribution Practice of active substances for medicinal products for human use. *Official Journal of the European Union*. 21.3.2015. P. 95/1-95/9.
6. Good trade and distribution practices for pharmaceutical starting materials. World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 996, 2016, Annex 6, p. 211-226.
7. Model guidance for the storage and transport of time- and temperature – sensitive pharmaceutical products. World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 961, 2011, Annex 9, P. 324-372.
8. Guide to good manufacturing practice for medicinal products. PIC/S GMP Guide. PE 009-14. URL: <https://www.picscheme.org/en/publications>.
9. Лікарські засоби. Належна виробнича практика: Настанова СТ – Н МОЗУ 42 – 4.0:2020 / М. Ляпунов, О. Безугла, Н. Тахтаулова та ін. Київ, МОЗ України, 2020. 338 с.
10. PIC/S Guide to good distribution practice for medicinal products. PE 011-1. URL: <https://www.picscheme.org/en/publications>.
11. Настанова СТ – Н МОЗУ 42 – 5.0:2014 Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції / М. Ляпунов, О. Безугла, Ю. Підпруджников та ін. Київ, МОЗ України, 2014. 51 с.
12. Good distribution practices for pharmaceutical products World Health Organization WHO Technical Report Series, No. 957, 2010, Annex 5, P. 235-264.
13. Настанова СТ – Н МОЗУ 42 – 5.1:2011 Лікарські засоби. Належна практика зберігання / О. Соловйов, І. Демченко, О. Кропивний та ін. Київ, МОЗ України, 2011. 26 с.
14. EMA CPMP/QWP/609/96/Rev 2. Guideline on declaration of storage conditions.
15. Guidelines for Temperature Control of Drug Products during Storage and Transportation GUI-0069. Health Canada. Health Products and Food Branch Inspectorate.
16. ICH Q1A(R2) Stability testing of new drug substances and drug products.
17. Guide to Control and Monitoring of Storage and Transportation Temperature Conditions for Medicinal Products and Active Substances IA-G0011-3, 02 October 2020. Health Products Regulatory Authority. Ireland.
18. Guidance for Industry. Stability Testing of Drug Substances and Drug Products. Draft guidance U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), June 1998.
19. Technical Report No. 39. Cold Chain Guidance for Medicinal Products: Maintaining the Quality of Temperature-Sensitive Medicinal Products Through the Transportation Environment. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. September/October 2005. Supplement. Volume 59. No. S-3.
20. ОФС.1.1.0010.18 Хранение лекарственных средств Государственной фармакопеи Российской Федерации, XIV издание, Т. 1.
21. <1079> Good storage and distribution practices for drug products USP.
22. <659> Packaging and Storage Requirements USP.
23. Chris Anderson, Robert Seevers, Desmond Hunt. The Use of Mean Kinetic Temperature to Aid Evaluation of Temperature Excursions: Proper and Improper Application. Stimuli to the revision process.
24. <1079.2> Mean Kinetic Temperature in the Evaluation of Temperature Excursions During Storage and Transportation of Drug Products. USP-NF.

Подпруджников Юрий Васильевич. Д. фарм. н., профессор. Главный научный сотрудник ООО «Химическая компания "Сполука"». ORCID iD: 0000-0001-6923-0806.

Podpruzhnykov Yurii Vasyliovych. Sc. D. in Pharmacy, Full Professor. Chief Scientific Officer at Spoluka Chemical Company LLC. ORCID iD: 0000-0001-6923-0806.

Підпруджников Юрій Васильович. Д. фарм. н., професор. Головний науковий співробітник ТОВ «Хімічна компанія "Сполука"». ORCID iD: 0000-0001-6923-0806.

Леонтьев Дмитрий Анатольевич. Д-р фарм. наук. Ст. науч. сотр. Зам. директора по научной работе, начальник отдела валидации и стандартных образцов ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». Руководитель научных направлений ГФУ «Стандартные образцы», «Верификация аналитических методик», «Метрологическое обеспечение качества результатов анализа». Профессор кафедры фармацевтической химии Национального фармацевтического университета. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.

Leontiev Dmytro Anatoliiovych. Sc. D. in Pharmaceutical Sciences (2016). Senior Researcher. Deputy Director of Science, Head of the Department of Validation and Reference Standards at Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines. Head of the SPhU research areas «Reference Standards», «Verification of analytical procedures», and «Metrological assurance of the quality of analysis results». Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry at National University of Pharmacy. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.

Леонт'єв Дмитро Анатолійович. Д-р фарм. наук. Ст. наук. співроб. Заст. директора з наукової роботи, начальник відділу валідації та стандартних зразків ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Керівник наукових напрямів ДФУ «Стандартні зразки», «Верифікація аналітичних процедур», «Метрологічне забезпечен-

ня якості результатів аналізу». Професор кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.

Гризодуб Александр Иванович. Д-р хим. наук, профессор. Гл. науч. сотр. отдела ГФУ ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Gryzodub Oleksandr Ivanovych. Sc. D. in Chemical Sciences. Full Professor. Chief Scientific Officer of the Department of the State Pharmacopoeia at Ukrainian SE «Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Гризодуб Олександр Іванович. Д-р хім. наук. Професор. Голов. наук. співроб. відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

УДК 615.07

Гризодуб А. И., Дмитриева М. В., Леонтьев Д. А.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», Харьков, Украина

Количество дозированных единиц фармацевтического препарата, достаточное для проведения теста «Количественное определение»: фармакопейные аспекты

Проведен анализ метрологической корректности использования в фармакопейных монографиях на дозированные фармацевтические препараты (ДФП) различного количества дозированных единиц (n) для количественного определения (КО). Показано, что $n \geq 20$ (рекомендации ГФУ) является метрологически обоснованным для любых допусков содержания при условии обязательного соблюдения теста «Однородность дозированных единиц» (ОДО). Использование для КО количества единиц ДФП $n < 20$ требует соответствующего расширения допусков содержания. Предложен подход к расчету минимальной ширины допусков содержания в зависимости от числа используемых для КО дозируемых единиц препарата. Использование в монографии Фармакопеи $n = 10$ или результатов ОДО стадии 1 (L1) для расчета результата теста «Количественное определение» требует расширения допусков содержания до 92.5–107.5%. Для того чтобы соответствовать требованиям ИСН к допускам содержания 95.0–105.0% для КО при выпуске фармацевтического препарата и использовать при этом усреднение из менее чем 20 единиц дозированного препарата, производитель может соответствующим образом ужесточать требования к RSD в тесте ОДО в своих спецификациях. Такое ужесточение требований приемлемо для большинства производителей. Предложен подход к расчету требований к RSD теста ОДО в зависимости от числа используемых для КО дозируемых единиц препарата.

Ключевые слова: дозированные лекарственные средства, фармакопейные монографии, однородность дозированных единиц, количественное определение, неопределенность результатов анализа, стратегия усреднения для количественного определения.

UDC 615.07

Summary

Gryzodub O. I., Dmitrieva M. V., Leontiev D. A.
State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv, Ukraine

The number of dosage units sufficient for an Assay test: pharmacopoeial aspects

An assessment of the metrological correctness of different numbers of dosage units (n) prescribed in pharmacopoeial monographs on pharmaceutical dosage preparations (PDP) for the Assay tests was carried out. The use of $n \geq 20$ dosage units recommended by the State Pharmacopoeia of Ukraine was shown to be metrologically correct for any specification limits provided the requirements for the *Uniformity of Dosage Units* test (UDU) are fulfilled. The use of $n < 20$ PDP units for Assays requires broadening of the specification range. An approach to the calculation of the minimum specification range width depending on the number of dosage units used for the Assay is proposed. The use of $n = 10$ dosage units or the UDU results (Stage 1, L1) in pharmacopoeial monographs for the Assay result calculation requires broadening of the specification range to 92.5–107.5%. To comply with the ICH recommendations to the release specification range of 95.0–105.0% for Assays of pharmaceutical preparations while using averaging of $n < 20$ dosage units, a manufacturer may correspondingly tighten the UDU requirements for RSD in specifications. Such tightening is acceptable for most of the manufacturers. An approach to the calculation of the UDU requirements for RSD subject to the number of dosage units used for the Assay is proposed.

Keywords: dosage forms, pharmacopoeial monographs, uniformity of dosage units, assay, uncertainty of measurement results, averaging strategy for assay.

УДК 615.07

Резюме

Гризодуб О. І., Дмитрієва М. В., Леонтьєв Д. А.
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», Харків, Україна

Кількість дозованих одиниць фармацевтичного препарату, достатня для проведення тесту «Кількісне визначення»: фармакопейні аспекти

Проведений аналіз метрологічної коректності використання в фармакопейних монографіях на дозовані фармацевтичні препарати (ДФП) різної кількості дозованих одиниць (n) для кількісного визначення (КВ). Показано, що $n \geq 20$ (рекомендації ГФУ) є метрологічно обґрунтованою для будь-яких допусків вмісту за умови обов'язкового виконання тесту «Однорідність дозованих одиниць» (ОДО). Використання для КВ кількості одиниць ДФП $n < 20$ вимагає відповідного розширення допусків вмісту. Запропонований підхід для розрахунку мінімальної ширини допусків вмісту залежно від числа дозованих одиниць препарату, який використовується для КВ. Використання в монографії Фармакопеї $n = 10$ або результатів ОДО стадії 1 (L1) для розрахунку результату тесту «Кількісне визначення» вимагає розширення допусків вмісту до 92.5–107.5%. Для того щоб відповідати вимогам ИСН до допусків вмісту 95.0–105.0% в КО під час випуску фармацевтичного препарату і одночасно використовувати усереднення з менш ніж 20 одиниць дозованого препарату, виробник може відповідним чином встановлювати жорсткіші вимоги до RSD у тесті ОДО у своїх специфікаціях. Такий підхід є прийнятним для більшості виробників. Запропонований підхід для розрахунку вимог до RSD тесту ОДО залежно від числа дозованих одиниць препарату, який використовується для КВ.

Ключові слова: дозовані лікарські засоби, фармакопейні монографії, однорідність дозованих одиниць, кількісне визначення, невизначеність результатів аналізу, стратегія усереднення для кількісного визначення.

Количественное определение (КО) является одним из основных показателей качества фармацевтических препаратов [1-2]. В случае дозированных фармацевтических препаратов (ДФП) его задача — определить среднее значение содержания активного фармацевтического ингредиента (АФИ) в единице ДФП. Учитывая важность теста КО, его метрологическое обеспечение в фармакопейных монографиях и спецификациях производителя на ДФП является необходимой задачей.

Несмотря на близость по форме фармакопейных монографий и спецификаций производителя на дозированные фармацевтические препараты, задачи у этих документов разные.

Задача спецификаций производителя — обеспечить надлежащий контроль качества дозированных фармацевтических препаратов именно данного производителя. При этом требования спецификаций производителя должны быть не ниже требований фармакопейных монографий, которые считаются обязательными и достаточными. Но ничто не мешает требованиям спецификаций отдельных (но не всех) производителей быть гораздо выше требований фармакопейных монографий, что отражает политику данных предприятий в области качества. Поэтому требования спецификаций разных производителей могут существенно различаться между собой, хотя и отвечать требованиям фармакопейных монографий.

Задача фармакопейных монографий — обобщить требования спецификаций различных производителей дозированных фармацевтических препаратов, находящихся на рынке, и установить их граничные значения с учетом требований общих статей и общих монографий фармакопеи и национального опыта.

Различие между задачами фармакопейных монографий и спецификаций производителя приводит к различиям в стандартизации их метрологического обеспечения. В данном соощении рассматриваются метрологические аспекты количественного определения именно фармакопейных монографий на дозированные фармацевтические препараты.

1. Процедуры пробоподготовки, используемые в фармакопейных монографиях для проведения теста «Количественное определение» дозированных фармацевтических препаратов

В фармакопейных монографиях на дозированные фармацевтические препараты, а также в спецификациях производителей используются следующие процедуры пробоподготовки (ПП) для проведения КО.

ПП-1. Определенное количество (n) таблеток взвешивают, рассчитывают среднюю массу одной таблетки и растирают в порошок. В случае капсул содержимое n капсул объединяют, взвешивают, рассчитывают среднюю массу содержимого одной капсулы и перемешивают. Навеску полученного порошка (желательно близкую к массе одной таблетки или содержимого одной капсулы, что делает результаты КО сопоставимыми с результатами теста на однородность дозированных единиц) используют для проведения КО. Полученные результаты содержания АФИ пересчитывают на среднюю массу одной таблетки или содержимого одной капсулы.

Преимущество ПП-1 — небольшой объем испытуемого образца, что уменьшает дальнейшие разбавления и, соответственно, уменьшает связанную с ними неопределенность. Небольшая навеска и хорошо гомогенизированный образец сводят к минимуму недоэкстракцию АФИ из образца.

Данная процедура пробоподготовки ранее была основной. В частности, она описана в ГФ X [3], ГФ XI [4] и перенесена в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ) [1, 2]. ПП-1 не вызвала особых сомнений, пока не появились таблетки, покрытые оболочкой. Для них риск получения неоднородного порошка — за счет неопределенности критериев однородности — существенно увеличился.

ПП-2. Количество n целых таблеток или n капсул помещают в колбу, заливают растворителем, гомогенизируют (например, ультразвуком), фильтруют, доводят до заданного объема и соответствующие разбавления используют для КО. Полученные результаты содержания АФИ пересчитывают на 1 таблетку или содержимое 1 капсулы.

Преимуществом ПП-2 является отсутствие неопределенности, связанной с неоднородностью порошка растертых таблеток, что особенно важно для покрытых оболочкой таблеток.

Недостатком ПП-2 является необходимость работать с большими количествами испытуемого образца дозированного фармацевтического препарата (5-12 единиц — см. Табл. 1-2). Так, если масса таблетки составляет 0.50 г, то масса анализируемого образца может достигать 6 г. Это приводит к необходимости больших дальнейших разбавлений с соответствующим ростом неопределенности пробоподготовки. Возрастают также риски, связанные с недоэкстракцией АФИ и возможными потерями при фильтрации.

ПП-3. Для расчета среднего содержания АФИ в одной единице дозированного фармацевтического препарата используют результаты теста на однородность дозированных единиц (ОДО) [5]. При этом для расчетов обычно используют результаты первого этапа ($n = 10$ единиц).

ПП-3 лишена недостатков ПП-1 и ПП-2 и является оптимальной процедурой получения среднего содержания АФИ в одной единице ДФП. Важный недостаток — большой объем эксперимента. Однако при учете обязательности ОДО [5] этот недостаток исчезает. Еще одним недостатком ПП-3 является ее ограниченность: процедура не применима в том случае, когда для ОДО применяется расчетно-весовой метод [5].

ПП-1, ПП-2 и ПП-3 широко применяются в Британской Фармакопее (см. Табл. 1). Для Фармакопеи США характерным является применение ПП-1 и ПП-2 (см. Табл. 2). При этом разные монографии используют для проведения КО разное число ($n = 5-20$) единиц ДФП. Насколько метрологически корректными являются данные величины n ?

Учитывая, что монографии ГФУ на ДФП разрабатываются на основе общих требований Европейской Фармакопеи (ЕФ) (в которой практически отсутствуют монографии на твердые дозированные фармацевтические препараты), а также требований Фармакопей Британии и США (с которыми у Фармакопейного центра Украины заключены договора о сотрудничестве), вопросы метрологической корректности ПП-1, ПП-2 и ПП-3, вводимых в монографии ГФУ, требуют соответствующего анализа.

2. Проблема достаточного количества единиц, используемого в фармакопейных монографиях для проведения теста «Количественное определение» дозированных фармацевтических препаратов

Общая монография ГФУ «Фармацевтичні препарати» [1] не указывает, какое минимальное количество единиц (n) дозированного фармацевтического препарата необходимо брать для проведения КО. Указано только, что допуски содержания должны быть обоснованы, а методики валидированы. Никаких рекомендаций по этому поводу не дает и европейская часть монографии на дозированную форму «Таблетки» [2], а также другие монографии на дозированные формы.

Это согласуется с общим подходом ЕФ, которая ранее содержала монографии только на специфические препараты (вакцины, сыворотки и препараты крови) и в которой монографии

на распространенные готовые лекарственные формы, такие как таблетки, начали появляться совсем недавно: все допуски и условия анализа дозированного фармацевтического препарата в спецификации (а количество единиц n — это условие анализа) должен обосновывать сам производитель исходя из специфики аналитической задачи. Таким образом, каждый производитель может обосновывать использование разного количества единиц (n) для проведения КО в своей спецификации на дозированный фармацевтический препарат.

В ГФ X СССР (1968 г.) для КО таблеток использовали ПП-1: анализ проводился из порошка $n \geq 10$ растертых таблеток [3]. В ГФ XI СССР (1990 г.) число растертых таблеток ПП-1 для проведения КО увеличилось до $n \geq 20$ таблеток [4], что отражало накопленный опыт применения теста КО для контроля качества фармацевтических препаратов. Данное количество единиц ($n \geq 20$) перенесено в качестве рекомендации и в национальную часть статьи «Таблетки» ГФУ [2].

Одной из причин «молчания» ЕФ по поводу количества единиц (n), используемого для количественного определения, является то, что в последние годы тест КО становится все менее и менее нужным. Ситуация повторяется аналогично монографиям на субстанции. Для них появление принципа «прозрачности монографий» сделало фактически ненужным количественное определение, поскольку содержание АФИ можно легко рассчитать вычитанием содержания примесей из 100 %. Поэтому тест КО для субстанций в настоящее время во многом играет роль дополнительной (хотя и довольно эффективной) идентификации.

Для дозированного фармацевтического препарата подобную роль сыграла стандартизация и обязательность испытания на однородность дозированных единиц (ОДО) [5]. Действительно, какой смысл использовать ПП-1 для проведения КО из порошка растертых таблеток (критерии однородности для которого не ясны), если среднее содержание АФИ в одной единице можно гораздо проще и объективнее рассчитать из результатов ОДО — из 10 или даже 30 таблеток, анализ которых все равно уже сделан (для малых дозировок)? Данная проблема особенно актуальна для таблеток, покрытых пленочной оболочкой, для которых риски неоднородности порошка растертых таблеток гораздо выше, чем для обычных таблеток. При этом критерии достаточной однородности порошка (ПП-1) не всегда ясны и требуют в некоторых случаях значительного увеличения массы порошка для КО [6].

Широкое распространение твердых капсул, пленочных покрытий для таблеток и отсутствие критериев однородности порошка растертых таблеток и критериев однородности смеси содержимого капсул привели к необходимости использовать ПП-2 и ПП-3 для КО ДФП в монографиях Британской Фармакопеи [7] и Фармакопеи США [8] — двух мировых лидеров в области фармакопейной стандартизации фармацевтических препаратов (см. Табл. 1 – 2).

Учитывая, что ЕФ в общих статьях не приводит число единиц дозированного фармацевтического препарата, требуемых для проведения КО, Британская Фармакопея (БФ) (член

ЕФ) указывает это число (n) в разделе «Количественное определение» индивидуальных монографий на ДФП (см. Табл. 1). Например, это число равно: Cefuroxime Axetil Tablets — $n = 5$, Alimantazine tablets и Amitriptylyne tablets — $n = 10$, Anastrazole tablets (< 2 мг/2 % АФИ) — результаты ОДО, используют результаты испытания на однородность содержания для таблеток с содержанием менее 2 мг/2 % АФИ, Loperamide orodispersible tablets — $n = 20$ АФИ [7], а для Clonazepam Tablets (> 2 мг/2 %) число таблеток вообще не указано (т. е. оставлено на усмотрение пользователя).

Таблица 1

Количество единиц дозированного фармацевтического препарата (n), используемое для количественного определения в некоторых монографиях Британской Фармакопеи [7]

Наименование	Допуски содержания, %	Количество единиц, n	Процедура пробоподготовки
Chlorpromazine Tablets	92.5 – 107.5	10	ПП-2
Cefuroxime Axetil Tablets	92.5 – 105.0	5	ПП-2
Alimentazine tablets	92.5 – 107.5	10	ПП-2
Amitriptylyne tablets	99.0 – 110.0	10	ПП-2
Anastrazole tablets, < 2 мг/2 %	95.0 – 105.0	10	ПП-3
Anastrazole tablets, > 2 мг/2 %	95.0 – 105.0	10	ПП-2
Clemastine tablets, < 2 мг/2 %	93.0 – 105.0	10	ПП-3
Clemastine tablets, > 2 мг/2 %	93.0 – 105.0	20	ПП-1
Clonazepam Tablets, < 2 мг/2 %	95.0 – 105.0	10	ПП-3
Clonazepam Tablets, > 2 мг/2 %	95.0 – 105.0	Не указано	ПП-1
Loperamide orodispersible tablets	95.0 – 105.0	20	ПП-1

Таблица 2

Количество единиц дозированного фармацевтического препарата (n), используемое для количественного определения в некоторых монографиях Фармакопеи США [8]

Наименование	Допуски содержания, %	Количество единиц, n	Процедура пробоподготовки
Lamotrigine tablets	90.0 – 110.0	≥ 20	ПП-1
Indomethacin Extended-Release Capsules	90.0 – 110.0	≥ 20	ПП-1
Omeprazole Delayed-Release Capsules	90.0 – 110.0	20	ПП-1
Topiramate Tablets	90.0 – 110.0	≥ 12	ПП-2
Acyclovir tablets	90.0 – 110.0	≥ 10	ПП-1
Loratadine orally disintegrating tablets	95.0 – 105.0	10	ПП-2
Almotriptan tablets	90.0 – 110.0	≥ 8	ПП-2
Amoxicillin and Clavulanic acid extended-release tablets	90.0 – 110.0	≥ 6	ПП-1
Mercaptopurine tablets	93.0 – 110.0	≥ 5	ПП-2
Mycophenolate Mofetil tablets	94.0 – 105.0	5	ПП-2
Amlodipine and Benazepril hydrochloride capsules	90.0 – 110.0	5	ПП-2
Alfuzosin hydrochloride extended release tablets	90.0 – 110.0	Подходящее количество	ПП-2
Clarithromycin extended-release tablets	90.0 – 110.0	4 – 8, в зависимости от дозы	ПП-1
Nifedipine extended-release tablets	90.0 – 110.0	5 – 14, в зависимости от дозы	ПП-1

Аналогично поступает Фармакопея США [8]: Acyclovir Tablets — $n \geq 10$, Almotriptan Tablets — $n \geq 8$, Amoxicillin and Clavulanic Acid Extended-Release tablets — $n \geq 6$, Amlodipine and Benazepril Hydrochloride capsules — $n \geq 5$, Alfuzosin Hydrochloride Extended Release Tablets — используют «подходящее количество» единиц (см. Табл. 2) (так же как и Clonazepam Tablets в Британской Фармакопее). Официальные рекомендации для стратегии усреднения в Фармакопее США отсутствуют.

Возникает вопрос, насколько метрологически корректными являются приведенные выше количества единиц (n) с точки зрения введения их в монографию Фармакопеи.

Одним из главных показателей качества дозированного фармацевтического препарата является испытание на однородность дозированных единиц (ОДО) [5], которое проводится в 2 этапа: 1-й этап — 10 таблеток, 2-й этап (если 1-й этап не выдерживается) — дополнительно еще 20 единиц. Критерии приемлемости ОДО позволяют оценить метрологическую корректность КО для каждого производителя ДФП и ввести достаточное количество единиц (n) в свою спецификацию.

Данные вопросы были подробно рассмотрены ранее [9-12] для процессов отработки технологии получения таблеток. Было показано, что требования к минимально достаточному количеству единиц (n) зависят от генерального относительного стандартного отклонения однородности дозированных единиц ($RSD_{\text{ОДО}}$) и для так называемых беспроблемных [9] технологий ($RSD_{\text{ОДО}} \leq 2.0\%$) могут составлять 1–2 единицы. Полученные рекомендации позволяют обосновать минимально достаточное количество единиц (n) дозированного фармацевтического препарата для введения в спецификацию производителя.

Однако монография Государственной Фармакопеи Украины — это не спецификация конкретного производителя. Она, как это уже указывалось выше, должна содержать общие минимальные требования для всех производителей, в частности к ОДО [5]. При этом допустимые генеральные значения $RSD_{\text{ОДО}}$ могут быть гораздо выше ($\leq 7.5\%$), чем для беспроблемных технологий ($RSD_{\text{ОДО}} \leq 2.0\%$), что ставит под сомнение величины количества дозированных единиц $n = 5-10$, указанные в монографиях Фармакопей Британии и США (см. выше).

Поэтому вопрос о достаточном количестве единиц дозированного фармацевтического препарата (n), необходимого для КО, и возможность использования результатов теста ОДО

требуют отдельного рассмотрения с точки зрения возможности введения их в монографии Фармакопеи.

3. Используемые допущения

Предполагается, что технология производства дозированного фармацевтического препарата валидирована. В противном случае ОДО разных серий может существенно варьировать, что делает невозможной оценку метрологической корректности КО. Валидированность технологии означает, в частности, что:

— относительные стандартные отклонения однородности содержания (RSD , %) разных серий единиц дозированного фармацевтического препарата могут различаться между собой, но они не превышают некоторое максимально допустимое значение $RSD_{\text{ОДО}}$, % (которое можно считать генеральным для данной технологии), т. е.:

$$RSD \leq RSD_{\text{ОДО}}; \quad (1)$$

— генеральное среднее каждой серии равно 100 % от номинального значения, т. е.:

$$X_{\text{ср}, 0} = 100\%; \quad (2)$$

— генеральное среднее анализа n отдельных единиц дозированного фармацевтического препарата равно генеральному среднему результату анализа порошка из n единиц дозированного фармацевтического препарата;

— требования общей статьи 2.9.40 [5] к ОДО (неважно, на какой стадии — первой или по результатам двух стадий) безусловно выполняются.

Соотношение (2) означает, что закладка субстанции в фармацевтический препарат проводится в перерасчете на (100 % — сумма примесей и воды), а не на результаты количественного определения субстанции (мы не рассматриваем здесь случай, когда целевое значение отличается от 100 %). Закладка субстанций в пересчете на результаты количественного определения еще нередко сохраняется на некоторых предприятиях (как дань традиции) и может учитываться на стадии отработки технологии и спецификации конкретного производителя. Однако, в общем случае, такая практика является метрологически некорректной и не может применяться при разработке фармакопейных требований и рекомендаций.

При проведении теста на ОДО результаты анализа выражают в процентах к номинальному значению. Учитывая соотношение (2), стандартное отклонение, полученное в соответствии со статьей 2.9.40 [5], в этом случае совпадает с RSD .

Соотношения (1-2) позволяют использовать при разработке фармакопейных требований к минимально достаточному числу единиц дозированного фармацевтического препарата (n) не статистику Стьюдента, а Гаусса.

4. Минимально необходимое количество дозированных единиц, необходимое для проведения теста «Количественное определение»

Основным фактором, влияющим на величину n , является генеральное относительное стандартное отклонение однородности дозированных единиц. Рассчитаем минимальное количество единиц дозированного фармацевтического препарата, которое необходимо взять для КО, чтобы эффекты неоднородности не влияли на принятие решений о качестве. Для этого используем требования статьи 2.9.40 к ОДО [5], а также рекомендации для установления гарантирующих допусков в спецификации [14].

Согласно 2.9.40, приемочное число AV не должно превышать $L1$, т. е.:

$$AV \leq L1. \quad (3)$$

Величина $L1$ представляет собой максимально допустимый доверительный интервал ОДО для вероятности 95 %, а AV — фактический (экспериментально полученный) доверительный интервал. При отработке технологии производства дозированного фармацевтического препарата конкретного производителя величина $L1$ может быть выбрана любая. Фармакопея устанавливает максимальное значение $L1$ [5]:

$$L1 = 15.0 \%. \quad (4)$$

Учитывая соотношения (1–2), отклонение от 100 % фактического среднего значения $X_{ср}$ результатов анализа любого количества (n) единиц дозированного фармацевтического препарата ($|X_{ср} - 100|$ %) связано исключительно с эффектами неоднородности содержания АФИ в отдельных единицах дозированного фармацевтического препарата. Это означает, что [14]:

$$|X_{ср} - 100| \leq L1 / \sqrt{n}. \quad (5)$$

Допуски содержания АФИ по спецификации равны $(100 \pm B)$ %. В случае использования гарантирующих допусков [14] величина B включает в себя, кроме величины $|X_{ср} - 100|$, еще и максимально допустимую неопределен-

ность методики анализа $\max \Delta_{As}$, т. е. [14, соотношение (6.15)]:

$$B = |X_{ср} - 100| + \max \Delta_{As}. \quad (6)$$

Учитывая, что [14]:

$$\max \Delta_{As} = 0.32 \times B, \quad (7)$$

из соотношений (5-7) получим:

$$|X_{ср} - 100| = 0.68 \times B \leq L1 / \sqrt{n}. \quad (8)$$

Из соотношения (8) получим выражение для минимально допустимого числа единиц ДФП, необходимого для проведения КО:

$$n \geq [L1 / (0.68 \times B)]^2. \quad (9)$$

Соотношения (4) и (9) позволяют получить минимально допустимое количество единиц ДФП (n) для разных допусков содержания АФИ (см. Табл. 3).

Как видно из Табл. 3, количество единиц $n \geq 20$ является достаточным для всех фармакопейных допусков (B) содержания АФИ в ДФП. Это значение совпадает с рекомендацией ГФУ [2]. Таким образом, значение $n \geq 20$ является метрологически корректным для любых $RSD_{ОДО}$ при условии, что выполняются требования 2.9.40 к однородности дозированных единиц [5]. Данный вывод является важным с той точки зрения, что он не использует специфику технологии конкретного дозированного фармацевтического препарата, а опирается только на фармакопейные требования. Именно значение $n \geq 20$ необходимо использовать во всех сомнительных случаях на стадии арбитражного или государственного контроля качества дозированного фармацевтического препарата.

Кроме того, видно, что в общем случае (т. е. без предъявления таких дополнительных требований к $RSD_{ОДО}$) использование результатов ОДО для $n = 30$ (т. е. по результатам 2 этапов теста ОДО [5]) в фармакопейных монографиях на дозированные фармацевтические препараты является метрологически корректным. В то же время использование в монографии результатов только первого этапа ($n = 10$) требует расширения допусков содержания АФИ (см. ниже) для обеспечения согласованности тестов КО и ОДЕ.

Значения $n \geq 10$ требуют допусков $B = 7.5 \%$, а значения $n \geq 5$ требуют допусков $B = 10.0 \%$.

Таблица 3

Минимальное количество единиц дозированного фармацевтического препарата (n), необходимое для проведения теста «Количественное определение», для разных допусков содержания АФИ (B) при $L1 = 15.0 \%$

$B, \%$	5.0	7.5	10.0	15.0	20.0
n	19.5	8.7	4.9	2.2	1.2

При допусках $B = 15.0\%$ возможно КО из $n \geq 3$, а при $B = 20.0\%$ — даже из $n \geq 2$ единиц дозированного фармацевтического препарата. Данные значения и можно рекомендовать для введения в монографии Фармакопеи.

5. *Согласование с требованиями ИСН*

В то же время в соответствии с рекомендациями ИСН [13] количественное определение (КО) при выпуске фармацевтического препарата должно находиться в пределах (95.0 – 105.0) % от номинального значения, т. е.:

$$B = 5.0\% \tag{10}$$

Из Табл. 3 видно, что это отвечает $n \geq 20$ единиц дозированного фармацевтического препарата. Как же поступать производителю, у которого технология позволяет обойтись меньшим количеством n или он хочет использовать результаты ОДО ($n = 10$)?

Рекомендации ИСН установлены для спецификаций производителя, а не для монографий Фармакопеи. Монография Фармакопеи не запрещает использование более жестких требований в спецификациях производителя. В частности, ничто не мешает установить более жесткие внутренние требования к приемочному числу $L1$ (см. соотношение (9)).

Рассчитаем, каким требованиям должно отвечать приемочное число $L1$ при выполнении рекомендаций ИСН (10) для разных чисел n . Поскольку у нас используется статистика Гаусса, то соотношение между максимально допустимым доверительным интервалом $L1$ и генеральным относительным стандартным отклонением $RSD_{одо}$ (см. соотношение (1)) имеет вид [14]:

$$L1 = 2.0 \times RSD_{одо} \tag{11}$$

Тогда из соотношений (9-10) получим:

$$L1 \leq 3.4 \times \sqrt{n} \tag{12}$$

Из соотношений (11-12) тогда следует:

$$RSD_{одо} \leq 1.7 \times \sqrt{n} \tag{13}$$

Соотношения (12 – 13) позволяют получить требования к $L1$ и $RSD_{одо}$ для разных значений n . Результаты таких расчетов приведены в Табл. 4.

Сочетание требований Табл. 3-4 позволяет удовлетворить как требования монографий Фармакопеи по допускам содержания АФИ (Табл. 3), так и рекомендации ИСН [13].

Как видно из Табл. 4, для беспроблемных технологий ($RSD_{одо} \leq 2.0\%$ [9]) для количественного определения во внутренних спецификациях достаточно применения даже $n = 2$ единиц дозированного фармацевтического препарата. Использование же результатов ОДО (т. е. $n = 10$) возможно для подавляющего большинства производителей ($L1 \leq 10.8, RSD_{одо} \leq 5.4\%$).

Выводы

1. Рекомендации ГФУ для использования при количественном определении не менее 20 единиц дозированного фармацевтического препарата являются метрологически корректными для любых допусков содержания.

2. Использование в монографии Фармакопеи результатов теста «Однородность дозированных единиц» в качестве теста «Количественное определение» требует расширения допусков содержания до 92.5-107.5 %.

3. Дальнейшее уменьшение количества единиц дозированного фармацевтического препарата, которое используется для количественного определения в монографиях Фармакопеи, требует соответствующего расширения допусков содержания.

4. Для того чтобы соответствовать требованиям ИСН к допускам содержания 95.0-105.0 % для количественного определения при выпуске

Таблица 4

Требования внутренних спецификаций производителя к максимальным значениям приемочного числа $L1$ и генерального относительного стандартного отклонения $RSD_{одо}$ для разных значений n ($B = 5.0\%$)

n	$L1$	$RSD_{одо}$	n	$L1$	$RSD_{одо}$
1	3.4	1.7	11	11.3	5.6
2	4.8	2.4	12	11.8	5.9
3	5.9	2.9	13	12.3	6.1
4	6.8	3.4	14	12.7	6.4
5	7.6	3.8	15	13.2	6.6
6	8.3	4.2	16	13.6	6.8
7	9.0	4.5	17	14.0	7.0
8	9.6	4.8	18	14.4	7.2
9	10.2	5.1	19	14.8	7.4
10	10.8	5.4	20	15.2	7.6

фармацевтического препарата и использовать при этом усреднение из менее чем 20 единиц дозированного препарата, производитель может соответствующим образом ужесточать требования к RSD в тесте ОДО в своих спецификациях. Такое ужесточение требований приемлемо для большинства производителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармацевтичні препарати (Лікарські засоби) // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. 2015. Т. 1. С. 1031; 2018. Доповнення 3. С. 219.
2. Таблетки // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. 2015. Т. 1. С. 1121; 2018. Доповнення 3. С. 243.
3. 654. Таблетки // Государственная Фармакопея СССР. X издание. Москва : Медицина, 1968. 1079 с.
4. Таблетки // Государственная Фармакопея СССР. XI издание. Выпуск 2. Москва : Медицина, 1990. С. 154.
5. 2.9.40. Однорідність дозованих одиниць // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. 2015. Т. 1. С. 490; 2018. Доповнення 3. С. 85.
6. A study of the influence of the test sample inhomogeneity on variability in assay results of desloratadine in film-coated tablets / D. Leontiev, V. Petrus, N. Volovyk, O. Gryzodub. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 5 (27). P. 43-51. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2020.215287>.
7. British Pharmacopoeia. 2020. Online.
8. The United States Pharmacopeia and National Formulary. 2020. Online.
9. Количественное определение и однородность дозированных единиц: эффекты неоднородности и обеспечение качества / Леонтьев Д. А., Петрус В. В., Гризодуб А. И., Воловик Н. В. *Фармаком*. 2018. № 2. С. 45-55.
10. Критерий приемлемости минимально допустимого числа таблеток для расчета результатов количественного определения / Леонтьев Д. А., Гризодуб А. И., Воловик Н. В., Петрус В. В. *Научный форум: медицина, биология и химия*. 2018. № 1 (9). С. 72-78.
11. Прогноз технологічного варіювання для промислового випуску таблеток дезлоратадину / Петрус В. В., Леонтьев Д. А., Воловик Н. В., Гризодуб О. І. *Фармаком*. 2019. № 1/2. С. 37-47.
12. Применение дисперсионного и регрессионного анализа для оценки технологического варьирования при производстве таблеток дипиридамола / Гризодуб А. И., Петрус В. В., Леонтьев Д. А., Воловик Н. В. *Фармаком*. 2020. № 1/2. С. 24-36.
13. Specifications and Control Tests on the Finished Product: ICH Topic 3AQ11a / The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. London : EMEA, 1991. P. 83-94.
14. 5.3.N.1. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. 2015. Т. 1. С. 881; 2018. Доповнення 2. С. 77; 2020. Доповнення 4. С. 32.

Гризодуб Александр Иванович. Д-р хим. наук, профессор. Гл. науч. сотр. отдела ГФУ ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». Руководитель научных направлений ГФУ «Валидация» и «Статистические методы». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Gryzodub Oleksandr Ivanovych. Sc. D. in Chemical Sciences. Full Professor. Chief Scientific Officer of the Department of the State Pharmacopoeia at SE «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». Head of the SPhU research areas «Validation» and «Statistical methods». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Гризодуб Олександр Іванович. Д-р хім. наук. Професор. Голов. наук. співроб. відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Керівник наукових напрямів ДФУ «Валідація» і «Статистичні методи». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Дмитриева Марина Васильевна. Канд. фарм. наук, ст. науч. сотр.. Начальник отдела стандартизации лекарственных средств и профессионального тестирования лабораторий, ученый секретарь ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». Руководитель научных направлений ГФУ «Физические и физико-химические методы», «Фармако-технологические испытания», «Монографии на фармацевтические препараты», «Монографии на дозированные формы».

Dmitrieva Maryna Vasylivna. Ph. D. in Pharmaceutical Sciences. Senior Researcher. Head of the Department of Medicinal product standardization and Proficiency Testing of Laboratories, Scientific Secretary at SE «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». Head of the SPhU research areas «Physical and physico-chemical methods», «Pharmaceutical technical procedures», «Monographs on pharmaceutical preparations», and «Monographs on dosage forms».

Дмітрієва Марина Василівна. Канд. фарм. наук, ст. наук. співроб. Начальник відділу стандартизації лікарських засобів і професійного тестування лабораторій, учений секретар ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Керівник наукових напрямів ДФУ «Фізичні та фізико-хімічні методи», «Фармако-технологічні випробування», «Монографії на фармацевтичні препарати», «Монографії на дозовані форми».

Леонтьев Дмитрий Анатольевич. Д-р фарм. наук. Ст. науч. сотр. Зам. директора по научной работе, начальник отдела валидации и стандартных образцов ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». Руководитель научных направлений ГФУ «Стандартные образцы», «Верификация аналитических методик», «Метрологическое обеспечение качества результатов анализа». Профессор кафедры фармацевтической химии Национального фармацевтического университета. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.

Leontiev Dmytro Anatoliiovych. Sc. D. in Pharmaceutical Sciences. Senior Researcher. Deputy Director of Science, Head of the Department of Validation and Reference Standards at SE «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». Head of the SPhU research areas «Reference Standards», «Verification of analytical procedures», and «Metrological assurance of the quality of analysis results». Professor of the Department

of Pharmaceutical Chemistry at National University of Pharmacy. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.

Леонтъев Дмитро Анатолійович. Д-р фарм. наук. Ст. наук. співроб. Заст. директора з наукової роботи, начальник відділу валідації та стандартних зразків ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Керівник наукових

напрямів ДФУ «Стандартні зразки», «Верифікація аналітичних процедур», «Метрологічне забезпечення якості результатів аналізу». Професор кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.072

Леонтьев Д. А., Петрус В. В., Воловик Н. В., Гризодуб О. І.
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», Харків, Україна
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

Аналіз підходів до трансферу аналітичних методик

Проведений критичний аналіз регуляторних керівництв і рекомендацій щодо організації трансферу аналітичних методик і передумов до їх або виникнення. Показана відсутність науково обґрунтованих критеріїв прийнятності й прикладів дизайну експерименту з трансферу й актуальність розробки науково обґрунтованих принципів трансферу аналітичних методик шляхом поєднання загально визнаного підходу до валідації та сильних сторін концепції життєвого циклу. Застосування метрологічного підходу Державної Фармакопеї України може бути доцільним для забезпечення надійності ухвалення рішення щодо відповідності аналітичних методик своєму призначенню.

Ключові слова: валідація методики, трансфер методики, цільова невизначеність, життєвий цикл.

UDC 615.072

Summary

Leontiev D. A., Petrus V. V., Volovyk N. V., Gryzodub O. I.
State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Kharkiv, Ukraine
National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

An analysis of approaches to the transfer of analytical procedures

The paper aims to provide critical analysis of the regulatory guidelines and recommendations for the organization of the transfer of analytical procedures and prerequisites for their occurrence. Lack of scientifically sound acceptance criteria and examples of the transfer experiment design is shown. Development of science-based principles of the transfer of analytical procedures based on the generally accepted approach to validation and strong points of the life cycle concept is of current interest. The metrological approach of the State Pharmacopoeia of Ukraine can provide a scientific basis for assuring the reliability of the decision on the suitability of analytical procedures for the intended use.

Keywords: method validation, method transfer, target uncertainty, life cycle.

УДК 615.072

Резюме

Леонтьев Д. А., Петрус В. В., Воловик Н. В., Гризодуб А. И.
Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», Харьков, Украина
Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Анализ подходов к трансферу аналитических методик

Проведен критический анализ регуляторных руководств и рекомендаций по организации трансфера аналитических методик и предпосылок к их возникновению. Показано отсутствие научно обоснованных критериев приемлемости и примеров дизайна эксперимента по трансферу и актуальность разработки научно обоснованных принципов трансфера аналитических методик путем комбинации общепризнанного подхода к валидации и сильных сторон концепции жизненного цикла. Применение метрологического подхода Государственной Фармакопеи Украины может быть целесообразным для обеспечения надежности принятия решения о соответствии аналитических методик своему назначению.

Ключевые слова: валидация методики, трансфер методики, целевая неопределенность, жизненный цикл.

Відповідно до вимог регуляторних органів трансфер аналітичної методики є обов'язковою процедурою, яка має забезпечувати коректне функціонування методики під час рутинного використання. У наявних регуляторних керівництвах і рекомендаціях (FDA, WHO, USP, ISPE, ASTM) задекларовано, що трансфер має відповідати своєму призначенню, проте науково обґрунтовані критерії не надаються, а запропоновані експерименти (WHO, ISPE, ASTM) мають формальний характер. Через це фармацевтичні підприємства використовують різні емпіричні процедури трансферу, які беруть за основу методологію, запропоновану ISPE, але

відрізняються у своїх обґрунтуваннях і критеріях прийнятності, що викликало публікацію багатьох наукових робіт, які присвячені критичі запропонованих підходів.

Тому доцільним є аналіз сильних і слабких сторін існуючих підходів до трансферу аналітичних методик. Такий аналіз може бути корисним для подальшого формулювання науково обґрунтованих принципів трансферу аналітичних методик.

Криза класичного підходу до валідації

Результати аналізу лікарських засобів (ЛЗ) на відповідність специфікаціям фактично визначають, якісним або ні є ЛЗ. Тому ризик

ухвалення некоректного висновку щодо відповідності специфікаціям є дуже вагомим як для виробників ЛЗ, так і для контролювальних органів. Коректність прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям насамперед визначається якістю результатів аналізу, яку потрібно забезпечити.

Сучасні підходи до забезпечення якості результатів аналізу у фармацевтичному секторі доцільно розглядати з урахуванням історії їх розвитку. У фармацевтичному секторі в 90-х роках ХХ століття була наголошена ідея демонстрації придатності своєму призначенню для процесу або продукту. Також було наголошено, що така демонстрація має бути науково обґрунтована [1-7]. Ця ідея широко застосовується в регуляторних вимогах, зокрема для методики аналізу (процесу) і її результату (продукту). Процес демонстрації придатності процесу своєму призначенню отримав назву «валідація». У Фармакопеї США (USP) XXI видання (1989 р.) була опублікована загальна монографія <1225> «Валідація фармакопейних методик аналізу», в якій була запропонована термінологія і методологія проведення валідації. Ця монографія була взята за основу документа ІСН Q2 «Керівництво щодо валідації методик аналізу», який зі змінами й доповненнями використовується сьогодні як міжнародно гармонізовані вимоги регуляторних органів до валідації методик. У цьому керівництві надані рекомендації щодо характеристик методики, які варто вивчати в процесі валідації, — валідаційні характеристики, такі як правильність, лінійність й інші, і параметри, які застосовуються для оцінювання цих характеристик, — валідаційні параметри (наприклад, для лінійності — коефіцієнт кореляції, для правильності — ступінь витягання). Також у ІСН Q2 були надані деякі рекомендації щодо організації експерименту. Ключовим положенням є те, що валідація має бути експериментальним вивченням придатності методики і не може бути замінена будь-яким теоретичним обґрунтуванням. Важливо, що авторами монографії USP <1225> передбачалося, що цей підхід має використовуватись сумісно з науковим обґрунтуванням, для того щоб визначити адекватне наповнення експерименту для кожного конкретного випадку. Тобто запропоновані валідаційні характеристики не розглядалися як обов'язкові або достатні для кожного випадку [5]. Також важливо, що критерії придатності демонстрації методики своєму призначенню або підходи щодо формулювання таких критеріїв не були сформульовані. Передбачалося, що ці критерії має обґрунтувати сам розробник ме-

тодики для кожного конкретного випадку, зважаючи на специфіку об'єкта аналізу. Вимоги до валідації методик аналізу почали використовуватись регуляторними органами дуже послідовно — під час реєстрації препарату й під час інспектування виробництва [8-10]. Тому кожне фармацевтичне підприємство було змушене надавати такі критерії придатності. Зрозуміло, що далеко не всі фармацевтичні підприємства мали достатній потенціал для наукового обґрунтування таких критеріїв. Це призвело до ситуації, коли підприємства затверджували такі критерії в документації лише з огляду на те, що ці критерії можуть бути виконані на практиці. Регуляторні органи, за відсутності офіційно визнаних критеріїв (а їх розробка не входить до компетенції цих органів), не завжди могли провести коректну експертизу валідаційних документів. Фактично після оголошення ідеї відповідності своєму призначенню ми не бачимо жодного обґрунтування або посилання на наукове обґрунтування в керівництвах регуляторних органів для концепції валідації, яка була проголошена в ІСН Q2, аж до появи концепції Державної Фармакопеї України (ДФУ) і концепції життєвого циклу (розглядаються далі як етапи еволюції концепції валідації). Тому у фармацевтичному секторі відбулася «бюрократизація» процесу валідації. З одного боку, регуляторні органи почали вважати обов'язковим вивчення всіх валідаційних характеристик, які згадуються в керівництві ІСН Q2. З іншого — надання результатів експерименту, який відповідав за наповненням вимогам керівництва ІСН Q2, почало вважатися достатнім для демонстрації придатності методики своєму призначенню. Тобто ідеї придатності своєму призначенню і наукового обґрунтування так і не були реалізовані. Замість цього почався процес стандартизації — була зроблена спроба розробити рекомендації для валідаційних критеріїв, які залишалися непов'язаними з призначенням методики, але визначалися як «найкраща практика» [11]. Треба підкреслити, що вимога відповідності своєму призначенню застосовується як регуляторна вимога до всіх елементів аналітичної системи, зокрема до стандартних зразків (СЗ) [12], аналітичного обладнання [13] й інших. Однак оскільки вимоги до аналітичної методики з огляду на її призначення так і не були сформульовані, ці вимоги не могли бути сформульовані і для цих елементів аналітичної системи. Саме таку ситуацію можна характеризувати як кризу концепції придатності.

У цей час також склалася така практика, що у зв'язку з великим обсягом досліджень валіда-

цію методики почали виконувати спеціалізовані лабораторії. Це здебільшого контрактна лабораторія іншої організації або лабораторія фармацевтичного підприємства, яка зазвичай займається фармацевтичною розробкою нових препаратів (прийнята термінологія — Sending Unit, або SU). Розроблена й валідована в SU методика передається в лабораторію, яка буде використовувати її для аналізу якості лікарських засобів (прийнята термінологія — Receiving Unit, або RU). Регуляторні органи звернули увагу на те, що методика, розроблена в іншій лабораторії, може не відтворюватись у лабораторії, яка її використовує в рутинному аналізі. Тому була запропонована процедура «трансфер аналітичної методики», яка сьогодні є обов'язковою вимогою Належної виробничої практики (GMP) [9, 14]. Ця процедура полягає в демонстрації коректності відтворення валідованої методики саме в тій лабораторії, яка буде її використовувати [15]. SU передає не лише методику, але й усі потрібні знання і контролює коректність відтворення методики в RU. Можна зазначити, що центральною ідеєю трансферу є те, що RU не має проводити валідаційні дослідження в повному обсязі як SU, а лише виконувати ті дослідження, які необхідні для експериментального підтвердження коректного відтворення методики.

Трансфер може розглядатися як формально незалежна від валідації процедура або як її складова частина. Але в будь-якому разі трансфер спирається на результати валідації, і досягнення мети трансферу повністю залежить від того, чи була досягнута мета валідації. Тому нижче питання забезпечення якості трансферу розглядається сумісно з питанням забезпечення якості для валідації.

Оскільки науково обґрунтовані підходи до демонстрації придатності методики своєму призначенню були відсутні, вони були відсутні також і для трансферу.

З часом з'явилися керівництва від різних компетентних органів, які надавали рекомендації з деяких конкретних аспектів валідації і трансферу аналітичних методик [4, 16-18]. Але в жодному з них проблема відповідності своєму призначенню не була вирішена, оскільки була відсутня відповідна метрологічна база, тобто ідея, як це можна зробити. У фармацевтичному секторі питання придатності призначенню методики також залишалися невирішеними. Ситуація принципово змінилася з появою концепції невизначеності результатів вимірювань.

Концепція невизначеності результатів вимірювань

Концепція невизначеності результатів вимірювань розглядає невизначеність результату аналізу (тобто інтервал, у межах якого з високою надійністю є «істинне» значення) як інтегральну характеристику якості результату аналізу. Перший документ, який формально встановлював загальні правила оцінювання невизначеності результатів вимірювань, був опублікований Міжнародною організацією зі стандартизації (ISO) у співробітництві з іншими організаціями в 1993 р. [19], і офіційне керівництво саме для хімічного аналізу — у 1995 р. [20].

Можна стверджувати, що концепція невизначеності розглядає процес виконання аналізу в іншому напрямку відносно ланцюга вимірювань, як порівняти з класичним метрологічним підходом. Метрологічний підхід починає розглядати процес аналізу з визначення одиниць вимірювання і далі йде в напрямку до результату аналізу. Концепція невизначеності починає розглядати процес аналізу зі специфікацій і вимог до надійності результату аналізу для забезпечення надійності рішення щодо відповідності специфікаціям. Можна стверджувати, що саме до цього питання класичний метрологічний підхід так і не дійшов.

Фактично концепція невизначеності поставила питання придатності результату аналізу для прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям, що є більш широким і більш конкретним формулюванням питання придатності методики своєму призначенню. Однак концепція невизначеності, на відміну від простого декларування потреби «відповідності», запропонувала метрологічний підхід щодо вирішення цього питання. Концепція невизначеності була сформульована й визнана як офіційна в фармацевтичному секторі [21]. Однак оскільки вона вирішувала нагальну проблему фармацевтичного сектора, почалися спроби її використання і в фармацевтичному секторі.

Адаптація концепції невизначеності у фармацевтичному секторі

Спосіб застосування концепції невизначеності залежить від того, як сконструйовані специфікації, а саме: як під час прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям враховується невизначеність результату аналізу. У фармацевтичному секторі було правило, назване «фармакопейне правило прийняття рішення щодо відповідності межах вмісту» [22]. Ідея цього правила полягає в тому, що невизначеність результату аналізу, характерна для нор-

мальної аналітичної практики, вже врахована в межах вмісту. Тому рішення щодо відповідності специфікаціям ухвалюється лише зважаючи на те, відповідає або ні результат аналізу специфікаціям. Це правило вперше з'явилося в Європейській Фармакопеї (Ph. Eur.) 3-го видання (1997 р.), том 1, у розділі «Загальні зауваження» [23] і в незмінному вигляді є в актуальному виданні Ph. Eur. [24]. Аналогічне висловлювання увійшло до USP [25] і Міжнародної Фармакопеї Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) [26]. Отже, це правило є міжнародно визнаним.

Таке правило прийняття рішення відомо й у нефармацевтичному секторі й вважається найпростішим. Для того щоб рішення щодо відповідності специфікаціям було надійне з використанням такого найпростішого правила, фактична невизначеність результату аналізу має бути достатньо мала, як порівняти із шириною меж для двостороннього нормування вмісту (тобто має бути незначуща) [27].

Отже, для того щоб декларований фармакопеями підхід працював, потрібно визначити, яке значення для невизначеності є максимально допустимим (тобто чому дорівнює цільова, або максимально допустима невизначеність — $\max \Delta_{As}$). Але нічого цього не було зроблено. Також важливо підкреслити, що зазначений фармакопеями підхід спирається на нормальну аналітичну практику. Для того щоб різні лабораторії (наприклад, лабораторія виробника й державна контролювальна лабораторія, які виконують аналіз однієї і тієї самої серії лікарського засобу) могли з прийнятною надійністю приймати рішення щодо відповідності специфікаціям, вони мають порівняти фактичну невизначеність для свого результату аналізу з такою оцінкою, яка спирається на нормальну аналітичну практику. Зрозуміло, що така оцінка має бути узгоджена між усіма лабораторіями, без чого лабораторія фактично не може захистити своє рішення з позиції концепції невизначеності. Це також не було зроблено. Отже, наголошений принцип врахування невизначеності в межах вмісту практично не працював і теж був тільки декларований.

Підхід Ph. Eur. до визначення цільової невизначеності для кількісного визначення в субстанціях

Прорив у вирішенні питання застосування концепції невизначеності у фармацевтичному секторі відбувся в 1997 р., коли Ph. Eur. наголосила, що для кількісного визначення (КВ) у субстанціях (які потенційно можуть бути 100% чи-

стоти), для яких верхня межа вмісту пов'язана лише з невизначеністю результату аналізу, таке перевищення над 100 % і є цільовою невизначеністю [28, 29]. Незважаючи на свою простоту, цей підхід має дуже вагоме підґрунтя.

По-перше, незадовго до цього Ph. Eur. проголосила принцип прозорості монографій, який має застосовуватися для всіх нових монографій [30]. Це означає, що всі домішки, які можуть бути наявні, є відомими й контролюються тестами монографії. Це призводить до того, що коли субстанція відповідає специфікаціям на вміст домішок, результат КВ не може не відповідати специфікаціям, якщо фактична невизначеність результату відповідає нормальній аналітичній практиці. Крім того, вміст діючої речовини є відомим і без тесту КВ він може бути розрахований за масовим балансом (різниця між 100 % й сумою домішок). Це зробило прийнятною ситуацію, коли для симетричних меж вмісту (відносно 100 %) уся ширина специфікацій обумовлена припустимим аналітичним варіюванням. Однак це означає, що результат тесту КВ для такого випадку не несе ніякої інформації щодо фактичного вмісту, а лише підтверджує, що істинний вміст знаходиться в межах специфікацій. Така ситуація була неприйнятною, коли домішки не контролювалися, і тому завданням тесту КВ було оцінити реальний кількісний вміст.

По-друге, відповідно до концепції невизначеності, надійність результату забезпечується тим, що невизначеність достатньо мала порівнюючи з допусками вмісту [27]. Але ж підхід Ph. Eur. наголошує, що максимально допустима невизначеність може дорівнювати ширині специфікацій, а не є «достатньо малою, щоб бути незначущою». Такий підхід Ph. Eur. є коректним, тому що для субстанцій вміст основної речовини фізично не може бути більше 100 %. Так само «істинний» вміст основної речовини фізично не може бути нижче, ніж нижня межа вмісту, якщо домішки коректно контролюються і нижня межа вмісту була встановлена з урахуванням максимально допустимого вмісту домішок. Тому «істинний» вміст є абсолютно центрованим відносно меж вмісту і не може відхилитися від номінального значення на будь-яку випадкову величину (наприклад, дорівнювати 200 % або 10 %). Завдяки цьому співвідношення невизначеності й ширини специфікацій, таке як 1:1, для деяких субстанцій дійсно забезпечує надійність прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям. Таке співвідношення одержало назву «TEST / UNCERTAINTY RATIO» (TUR).

Спираючись на цю революційно нову концепцію ролі КВ, Ph. Eur. зробила наступний

крок, який можна характеризувати як дуже рішучий. У міжлабораторному експерименті, який був організований Ph. Eur., було визначено, що для методу кількісного визначення «рідина хроматографія» нормальна аналітична практика забезпечує невизначеність, за якої межі вмісту КВ є коректними, якщо вони не вужчі ніж $\pm 2\%$ [29]. Після цього для всіх монографій Ph. Eur. були переглянуті межі вмісту й розширені в зазначених вище випадках до 98-102%. Аналогічні рекомендації були зроблені для титрування (найвужчі межі вмісту 99.0-101.0% для кислотно-лужного титрування) [31] і спектрофотометрії (98.0-102.0% з використанням СЗ) [29].

Таке рішення Ph. Eur. ознаменувало прийняття підходу, який фактично є протилежним декларованому: межі вмісту надані заздалегідь і є стандартними (а не «конструюються» для кожного випадку). Це означає, що саме методику треба конструювати так, щоб вона відповідала передбаченим межам вмісту, а не навпаки — з огляду на метрологічні характеристики методики визначати прийнятні межі вмісту, як це розглядалося в наукових публікаціях того часу [32-34].

Треба зазначити, що для готового лікарського засобу (ГЛЗ) межі вмісту ще більш стандартизовані, ніж для субстанцій [35]. Але ГЛЗ принципово відрізняються від субстанцій тим, що вони зазвичай містять допоміжні речовини, тому «істинний» вміст діючої речовини може бути як у межах, так і поза межами специфікацій. Тобто вміст діючої речовини не є центрованим, на відміну від субстанцій, і підхід Ph. Eur. до субстанцій є незастосовним до ГЛЗ.

Створення метрологічної системи ДФУ на базі концепції невизначеності

Наступний суттєвий крок зробила ДФУ. У 2001 р. був сформульований принцип незначущості для співвідношення інтервалів, і з огляду на нього для КВ у ГЛЗ було рекомендовано співвідношення $max \Delta_{As}$ до ширини для симетричних меж вмісту (тобто TUR), яке становить 1:0.32 для рівня надійності 95% [36]. Цей принцип був уведений до ДФУ у 2004 р. в національний загальний текст «Валідація аналітичних методик і випробувань» [37]. Фактично цей був визначенням, що таке «достатньо мала невизначеність у відношенні до меж вмісту», що треба було визначити відповідно до підходу ISO [27]. На базі цього принципу були сформульовані рекомендації до $max \Delta_{As}$ інших основних фармакопейних тестів і випробувань [38, 39]. Отже, була реалізована необхідна умова для

коректного застосування концепції невизначеності — сформульовані рекомендації щодо цільової невизначеності ($max \Delta_{As}$).

Окрім того, на базі міжлабораторного експерименту, який був проведений ДФУ, було визначено, що таке нормальна аналітична практика для базових операцій пробопідготовки, і відповідні рекомендації були введені в ДФУ (2008 р.) [38]. Сумісно з метрологічними вимогами до збіжності паралельних вимірювань, які були також введені у ДФУ — для спектрофотометрії в ультрафіолетовому й видимому діапазоні ($2.2.25^N$) і для хроматографії (для ГЛЗ, $2.2.46^N$), це надало унікальну можливість прогнозувати збіжність для результатів аналізу відповідно до рекомендацій до нормальної аналітичної практики, зважаючи на текст методики, і оцінювати її придатність, порівнюючи одержане прогнозоване значення невизначеності з рекомендаціями до $max \Delta_{As}$. Тобто був реалізований принцип, проголошений (але не реалізований) провідними фармакопеями — враховувати нормальну аналітичну практику в межах вмісту для забезпечення надійності прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям. Однак він був реалізований з іншого напрямку — для заздалегідь встановленої ширини меж вмісту контролювалася придатність методики аналізу.

Методика почала «конструюватися» відповідно до вимог до невизначеності за рахунок оптимізації розведень і стратегії усереднення. Треба зазначити, що такий підхід взагалі дещо змінив направленість валідації. Якщо раніше прецизійність методики, пов'язана з виконанням розведень оператором, була не під контролем і її намагалися вивчати експериментально, то завдяки зазначеним вимогам до нормальної аналітичної практики ці чинники варіювання перейшли в розряд «стандартизованих у лабораторії», виконання вимог до яких є обов'язком лабораторії. Інша зміна напрямку валідації полягала в тому, що коли прецизійність може бути прогнозована на підставі вимог до стандартизованих операцій, то завданням валідації стає експериментальне виявлення значущих чинників варіювання, які не можна передбачити з огляду на наявні в методиці стандартні операції і попередній досвід про аналітичну техніку й об'єкт аналізу. Тобто варіювання за рахунок прецизійності не встановлюється, натомість перевіряється, чи не перевищує воно максимально допустимий рівень.

Оскільки критерій відповідності методики своєму призначенню був сформульований, на базі метрологічного підходу ДФУ була розро-

блена стандартизована процедура валідації [40], яка повністю відповідає формату керівництва ICH Q2. Тобто були запропоновані критерії для всіх валідаційних параметрів, які були наведені в ICH Q2. «Стандартизована процедура» фактично транслювала вимогу до цільової невизначеності в критерії для всіх валідаційних характеристик. Оскільки критерії залежать від формату експерименту, у стандартизованій процедурі пропонувався дизайн експерименту, з яким були пов'язані розраховані критерії. Стандартизована процедура валідації була вперше введена в ДФУ у 2008 р. [38], а у 2020 р. доповнена прикладами для основних фармакопейних тестів [41]. Фактично стандартизована процедура є концепцією валідації, яка спирається на класичну концепцію ICH Q2 і націлена на демонстрацію придатності методики своєму призначенню на базі концепції невизначеності, тобто зважаючи на ризик отримання некоректного рішення щодо відповідності специфікаціям.

Однак треба зауважити, що в межах прийнятої ДФУ стандартизованої процедури валідації концепція трансферу методики не була сформульована, хоча приклад експерименту для трансферу й був наведений. Це пов'язано з тим, що трансфер і, власне, валідація — все ж таки різні процедури. Тому трансфер потребує окремого розгляду й обґрунтування.

Удосконалення концепції забезпечення якості в сучасних належних практиках. Пігхіг USP до імплементації концепції невизначеності

Концепція забезпечення якості у фармацевтичному секторі отримала подальший розвиток з формулюванням так званих належних практик, які з різних боків, але системно розглядають питання забезпечення якості для будь-якого процесу. Так, настанова ICH Q9 «Управління ризиками з якості» [42] зосереджена на тому, що для будь-якого рішення має братися до уваги ризик для кінцевого користувача. У керівництвах ICH Q8 [42], Q9 [43], Q10 [44] і Q11 [45] увага зосереджена, зокрема, на тому, що будь-який процес потрібно розглядати з позиції його життєвого циклу, тобто його розробки, імплементації і рутинного використання. Такі належні практики суттєво покращують надійність будь-якого процесу, до якого вони застосовані. Але вони націлені на процес виробництва ЛЗ. Процес виконання аналізу, якщо і розглядається в цих керівництвах, то лише як допоміжний.

Тому під егідою USP було розпочато розробку нової концепції забезпечення якості саме для результатів аналізу, яка спирається

на концепції належних практик — концепції життєвого циклу результатів аналізу [5, 46]. У фармакопейному друкованому органі USP — журналі *Pharmaceutical Forum* — було розпочато публікацію серії статей, які ставлять за ціль обговорення нової концепції з фармацевтичною спільнотою і розробку й уведення до USP нових монографій, пов'язаних із забезпеченням якості результатів аналізу. Запропонований USP підхід спирається на концепцію невизначеності як на метрологічну базу забезпечення якості й об'єднує в єдине ціле розробку методики, її валідацію, трансфер і рутинне застосування.

Концепція життєвого циклу зосереджена на розв'язанні проблеми відповідності методики своєму призначенню. Для методики насамперед запропоновано розробляти «цільовий профіль» [47], в якому має бути чітко визначено призначення методики, аналіт, який вимірюють, матрицю, в якій аналіт мають вимірювати, цільову невизначеність тощо, а також в якій формі мають бути надані кінцеві результати аналізу, що будуть використовуватися для прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям.

Концепція життєвого циклу дозволила відкрити недоліки класичного підходу до валідації, пов'язані з тим, що останній не був спрямований на розуміння чинників варіювання і їх контроль на базі оцінювання ризиків саме для кінцевого користувача методики (у RU). Як наслідок, під час виконання валідації зусилля SU (й аналогічно зусилля RU під час проведення трансферу) були більше спрямовані на одноразове досягнення відповідності встановленим критеріям. Це могло призводити до неприйнятно високої частоти одержання некоректних результатів під час наступного рутинного використання методики [48]. Підхід ДФУ, який базується на класичному підході до валідації, також не акцентує уваги на багатьох аспектах, вирішення яких пропонує і навіть вимагає застосовувати підхід життєвого циклу [49].

Важливо, що USP запропонувала розробку нової концепції «з нуля», не спираючись на рекомендації керівництва ICH Q2 (класичний підхід до валідації, автором ідей якого теж була USP). Так, термінологія «валідація методики» і «трансфер методики» взагалі не використовуються в концепції життєвого циклу. Замість них розглядаються стадії існування методики: 1) дизайн методики (розробка й розуміння); 2) кваліфікація характеристик методики; 3) безперервна верифікація характеристик методики [5, 46]. Тобто в деяких важливих аспектах підхід життєвого циклу принципово відрізняється від класичного підходу до валідації.

У підході життєвого циклу всі роботи з етапу кваліфікації характеристик методики виконуються в RU. Найважливіше, що в RU проводиться вивчення прецизійності із застосуванням достатньо великого обсягу експерименту. Тобто концепція трансферу, коли інша лабораторія максимально заощаджує ресурси RU і виконує основну частину кваліфікації характеристик методики, взагалі відкинута. Ми вважаємо, що така пропозиція буде викликати опір у фармацевтичних підприємств, оскільки потребує суттєвого перерозподілу обов'язків і ресурсів між лабораторіями фармацевтичного підприємства (SU і RU). З іншого боку, якщо чинники варіювання зрозумілі і є під контролем (як цього вимагає концепція життєвого циклу), не можна вважати некоректним метрологічним підходом підтвердження в мінімальному експерименті відтворюваності методики в RU. А такий підхід фактично дозволяє повернутися до розподілу ресурсів у класичному підході на базі підходу життєвого циклу (тобто з акцентом на розуміння і контроль чинників варіювання) і в результаті мінімізувати навантаження RU [49].

Слід також зазначити, що проблеми трансферу методик тісно пов'язані з уведенням їх до специфікації. Це означає, що методика буде виконуватися не лише в RU, а також в офіційних лабораторіях контролю якості ЛЗ. А проте підхід життєвого циклу взагалі не розглядає це питання, на відміну від підходу ДФУ, прогноз невизначеності якого націлений на розв'язання проблеми відтворювання методики в іншій лабораторії.

Треба зауважити, що сьогодні існують проекти монографій USP, які базуються на концепції життєвого циклу [46], але вони поки що не є офіційними.

Короткий аналіз ситуації, яка склалася

Нині лунають пропозиції від науковців щодо поєднання переваг підходу життєвого циклу з форматом класичного підходу до валідації, щоб усунути недоліки останнього й зберегти його статус як міжнародно визнаного [50]. Такий крок здається дуже розумним, оскільки можна передбачити, що після введення в USP підходу життєвого циклу буде існувати перехідний період, коли не всі регуляторні органи зможуть визнавати цей підхід як повноцінну заміну класичному підходу до валідації. З іншого боку, зважаючи на всесвітнє визнання класичного підходу, можна очікувати, що він буде існувати як офіційно прийнятий паралельно з підходом життєвого циклу. Можна також очікувати, що їх комбінація, яка використовує сильні сторо-

ни обох підходів і компенсує їх слабкі сторони, буде прийнятою регуляторними органами вже зараз і буде залишатися прийнятною надалі.

Тому далі ми фокусуємося на критичному аналізі найбільш важливих, на нашу думку, підходів до трансферу для виявлення їх сильних сторін, які потрібно враховувати, і слабких сторін, які потрібно компенсувати, під час розробки сучасної концепції трансферу, яка має повноцінно забезпечувати прийняття коректного рішення щодо відповідності методик, які передаються в RU, специфікаціям з урахуванням сучасних концепцій забезпечення якості.

Pharmacopeial Forum — сучасна наукова платформа Фармакопеї США

Pharmacopeial Forum є найсучаснішою науковою платформою для обговорення проблем фармацевтичної якості й пропозицій для науково обґрунтованого розв'язання нагальних проблем. Тема трансферу, яка світовою науково-регуляторною спільнотою визнана важливою, була обговорена у *Pharmacopeial Forum* [51]. Проте запропонований загальний інформаційний текст не вирішив проблему трансферу, а лише підсумував можливі види трансферу (порівняльний аналіз, сумісна валідація, часткова валідація, відмова від трансферу).

Невдовзі експертна група USP з валідації та верифікації звернула увагу на головні недоліки менеджменту аналітичних процедур [5, 46, 47, 52, 53], а саме на те, що існуюча методологія «не забезпечує механізмів, які дозволяють користувачу надійно розуміти й контролювати чинники варіювання» [5]. Така сама проблема існує і для виробничих процесів. Розуміння цієї проблеми призвело до розробки пакета керівництв [42-45], які на практиці використовуються сумісно. Спираючись на досвід використання цих керівництв для процесів виробництва, USP переосмислила класичний підхід до валідації, верифікації і трансферу.

Передусім було зауважено відсутність взаємозв'язку між етапами життєвого циклу методики — розробкою, валідацією, трансфером або верифікацією — і запропоновано використовувати для процесу аналізу концепцію життєвого циклу. Метою було зазначено «цілісно узгодити варіювання результатів аналізу з вимогами до продукту, який аналізують, і покращити надійність результатів аналізу шляхом розуміння, зменшення впливу й контролю за чинниками варіювання», тобто використовувати концепцію якості шляхом дизайну (Quality by Design, або QbD) [42]. Процес управління життєвим циклом методики має забезпечити механізми для

визначення критеріїв якості результату аналізу і розробки методики, яка буде відповідати цим критеріям. Проголошено, що невизначеність результатів аналізу сумісно з іншими критеріями прийнятності має використовуватися для прийняття рішення щодо відповідності специфікаціям, із встановленим ризиком хибного рішення. Тобто в концепції життєвого циклу невизначеність є одним із ключових критеріїв, які забезпечують придатність методики своєму застосуванню. Підкреслюється, що для розуміння й управління чинниками варіювання результатів аналізу важливо розглядати ті, що пов'язані як із процесом виконання аналізу, так і з процесом виробництва.

Як результат USP запропонувала інтегрувати розробку методики, валідацію, трансфер і подальше рутинне використання методики в єдиний процес життєвого циклу, який управляється як ціле. Концепція життєвого циклу охоплює такі ключові блоки, які ми більш детально розглядаємо нижче: аналітичний цільовий профіль методики (Analytical Target Profile, або АТР), управління ризиками, стратегія контролю, управління знаннями.

Аналітичний цільовий профіль методики (АТР)

Треба зазначити, що використання АТР є перенесенням підходу з фармацевтичної розробки (ICH Q8), який зветься «цільовий профіль якості продукту». Для методики заздалегідь мають бути визначені цілі, відштовхуючись від яких встановлюють вимоги до характеристик методики (критерії придатності), які мають виконуватися в рутинному аналізі. Ці цілі в поєднанні з критеріями і є АТР. Зазвичай для показника КВ в АТР визначають:

- зразок, який аналізують;
- матрицю, в якій визначають аналіз;
- діапазон концентрацій аналізу в продукті (у ЛЗ);
- максимально допустиму невизначеність (або як її міру — прецизійність) і правильність результатів (bias);
- прийнятний рівень ризику прийняття хибного рішення.

АТР формують на підставі попередніх знань щодо можливості досягнення встановлених вимог до невизначеності й рівня ризику.

Управління ризиками

Для управління процесом аналізу використовується концепція управління ризиками, яка описана в керівництві ICH Q9 [42] для управління процесами виробництва. Основна ідея — методика з високою надійністю має генерува-

ти результати, які відповідають встановленому АТР, для всіх умов використання методики протягом усього життєвого циклу. Підкреслюється, що ризики мають враховуватися для всіх аспектів, пов'язаних з усіма етапами методики, а саме: відбір проб і пробопідготовка, вимірювання, підготовка результату аналізу (стратегія контролю, стратегія усереднення).

Підхід до класифікації чинників варіювання, відомий як CNX, вважається ефективним. Усі виявлені чинники класифікуються на такі, які потрібно контролювати або стандартизувати (Controlled — C), які мають вплив, який неможливо оцінити експериментально (Noise — N), і такі, вплив яких треба оцінювати експериментально (Experimental — X). Така класифікація має бути обґрунтованою.

Стратегія контролю

Це запланований набір контрольних випробувань (тестів, що підтверджують придатність методики під час рутинного використання), а саме — які розробляються на підставі знань про продукт (результат аналізу) і процес (виконання аналізу). Стратегія контролю є перенесенням підходу, який застосовується для процесу виробництва ЛЗ (ICH Q8). Контрольні випробування встановлюються з урахуванням усіх аспектів, які стосуються всіх етапів методики, беручи до уваги попередній досвід (знання) й одержані експериментальні результати. Контрольні випробування можуть стосуватися параметрів методики й аспектів, які зі свого боку стосуються зразків, котрі аналізують, пробопідготовки, стандартних зразків, реактивів, приміщень, аналітичного обладнання, умов виконання аналізу, попереднього досвіду, формату результату аналізу (усереднення) і частоти проведення моніторингу й контрольних випробувань.

Управління знаннями

Це системний підхід до одержання, аналізу, зберігання і передавання інформації, яка стосується продукту (ЛЗ), процесу виробництва і їх компонентів, таких як методики й результати аналізу. Управління знаннями забезпечує ефективність стратегії контролю. Стратегія управління знаннями має охоплювати всі етапи життєвого циклу методики. Так, знання, одержані в процесі розробки методики (пов'язані з експериментами, які виконують для розуміння методики, — початковий етап життєвого циклу), мають зберігатися і надаватися за потреби для наступних етапів життєвого циклу. Знання, пов'язані зі змінами й покращенням методики

(наступні етапи), також мають зберігатися разом з усіма іншими задокументованими знаннями, одержаними раніше.

Стадії життєвого циклу методики

Нижче розглядаються стадії життєвого циклу методики, які безпосередньо стосуються трансферу в класичній концепції валідації (стадії 1 і 2). Оскільки стадія 3 — безперервна верифікація характеристик методики (рутинне використання методики) — не стосується трансферу, вона не розглядається.

Стадія 1 — Дизайн методики

Етап 1.1. Розробка й розуміння методики

Цей етап еквівалентний процедурам класичного підходу «розробка методики» й «вивчення робасності» (що розглядається як складова частина валідації, яка може бути поєднана з розробкою методики). Мета цього етапу полягає в ідентифікації параметрів методики й потенційних чинників варіювання і їх експериментальному вивченні. Як тільки АТР методики встановлено, відповідальністю аналітика є вибір аналітичної техніки, яка потенційно може забезпечити виконання вимог АТР. Отже, АТР має бути трансльовано в ключові параметри методики і її критерії придатності.

Наступним кроком є досягнення теоретичного розуміння впливу чинників варіювання на критерії придатності методики. Для виконання цього завдання використовують інструменти оцінювання ризиків (ICH Q9).

Етап 1.2. Експериментальне вивчення робасності методики

Для вивчення «безперервних» параметрів методики (температура, рН) зазвичай використовують дизайн експерименту, націлений на виявлення прийнятного діапазону. Для «категоріальних» параметрів (напр., марка сорбенту) намагаються з'ясувати вплив цих параметрів на критерії прийнятності методики (невизначеність і правильність), хоча він може залишатися недооціненим для подальшого рутинного використання методики. За результатом вивчення робасності встановлюють набір контрольних випробувань (як частину стратегії контролю), які дозволяють контролювати чинники варіювання, класифіковані як «ті, що контролюються» та «експериментальні».

Етап 1.3. Накопичення знань і підготовка до наступного етапу

Призначення цього етапу — забезпечити, щоб конкретне місце, де буде застосовуватися методика (RU), було адекватно підготовлене

для її використання. Це перехідний крок між стадіями 1 і 2. Знання, накопичені в процесі розробки методики, мають бути передані для підтримки імплементації стратегії контролю в RU. Має бути передана вся інформація або резюме з неї про умови виконання методики й деталі про включені в методику контрольні випробування, а також усі знання щодо розуміння методики й історія досягнення критеріїв прийнятності.

Стадія 2 — Кваліфікація характеристик аналітичної процедури

Мета цієї стадії — демонстрація придатності методики своєму призначенню. Ця стадія підтверджує, що методика дозволяє одержувати відтворювані результати, які постійно відповідають критеріям, сформульованим в АТР, за умови що вплив від чинників варіювання, які оцінені як незначущі, уточнюються в процесі реального використання методики. Фактично ця стадія поєднує такі процедури класичного підходу, як валідація (за винятком робасності) і трансфер.

Така демонстрація придатності призначенню має охоплювати підтвердження, що методика генеруватиме коректні результати саме під час подальшого рутинного використання, а не лише на момент кваліфікації в стадії 2. Ця стадія пов'язана з експериментальним вивченням прецизійності методики в RU. Вона має бути науково обґрунтована й ґрунтуватися на оцінці ризиків, на попередніх знаннях і на розумінні методики. У результаті цієї стадії стратегія контролю має бути уточнена як результат уточнення знань щодо чинників варіювання.

Якщо аналітик вважає, що залишається ризик недооцінення чинників варіювання для подальшого рутинного використання методики, він може використати додаткові контрольні випробування, що націлені на контроль неприйнятного рівня варіювання результатів.

Практична реалізація підходу життєвого циклу

Далі обговорюються лише деякі аспекти підходу життєвого циклу, які важливі, на нашу думку, для критичного аналізу.

Запропоновано такий розподіл робіт між SU і RU. В SU відбувається вивчення робасності методики, специфічності, лінійності, чутливості (межі виявлення), а також перевірка правильності й попереднє вивчення прецизійності. Потім в RU відбувається підтвердження (confirming або qualifying) виконання вимог до АТР — це зазвичай стосується валідаційних

характеристик правильності й прецизійності, і здійснюється перевірка того, як працює розроблена стратегія контролю. Але фактично в RU відбувається не підтвердження, а саме вивчення прецизійності.

Як метрологічний інструмент широко використовуються толерантні інтервали [44], хоча зазначається, що можуть бути використані інші підходи. Їх ідея полягає в тому, що зважаючи на одержану оцінку прецизійності прогнозується прецизійність для результатів аналізу, який буде виконаний у майбутньому. Для толерантних інтервалів, на відміну від звичайних довірчих інтервалів, використовується додатковий параметр — фракція (процент) наступних результатів, які будуть знаходитися в заданому діапазоні (у нашому випадку — у межах специфікації). Запропоновано використовувати толерантні інтервали для обґрунтування цільової невизначеності, а також для оцінювання прецизійності в SU (попереднє вивчення для виявлення потенційних проблем) і потім в RU (остаточна кваліфікація методики).

Для обґрунтування цільової невизначеності запропоновано використовувати фракцію 60 % від ширини двосторонніх меж вмісту (у наведеному прикладі 95-105 % [47] від номінального вмісту для ГЛЗ; фракція 60 %, тобто цільова невизначеність, становить ± 3 %). Зазначається, що в ідеальному випадку цільова невизначеність має бути фракцією для толерантного інтервалу, яка дорівнює ширині специфікацій. Але фракція 60 % для наведеного прикладу [47] вважається прийнятною з огляду на такі міркування. Очікується, що ГЛЗ виробляється (треба розуміти, в умовах GMP) з істинним вмістом, який прагне до 100 %. Оскільки ефективність цього ГЛЗ була доведена в клінічних випробуваннях, головним ризиком є бракування кондіційної серії ГЛЗ. Такий підхід призводить до обґрунтування значення для цільової невизначеності ± 3 %.

Пропонується використовувати прогноз відповідності методики щодо встановленого значення цільової невизначеності, розраховуючи толерантний інтервал для різних значень фракції (у прикладі 90 % [47]), рівня надійності (в прикладі 90 % і 50 %), систематичного зміщення (bias — у прикладі 0 % і 1 %), числа паралельних визначень (у прикладі 6) і прецизійності (максимально допустиме відносне стандартне відхилення (*RSD*) (у прикладі від 1.0 % до 2.0 %).

Для оцінювання прецизійності в SU наведено наступний приклад [47] формату експерименту. Виконують по 6 визначень для рівнів концентрацій 80 %, 100 % і 120 %. У цьому разі

запропоновано використовувати фракцію 90 %, рівень надійності 50 % і число паралельних визначень 6. Стверджується, що використання 6 визначень є поширеною практикою в фармацевтичній промисловості.

Наведено приклад такого дизайну експерименту в SU [47]. Варіюють вміст ацетонітрилу в розчиннику для зразка, час обробки зразка ультразвуком, температуру колонки й відсоток (%) ацетонітрилу в рухомій фазі. Вивчення проводять для трьох рівнів — високий, середній (номінальний) і низький.

Для стадії кваліфікації методики в RU наведено такий приклад [47] підтвердження прецизійності: виконують 4 серії незалежних аналізів, по 6 визначень у кожній серії, де в межах серії аналіз виконує той самий аналітик, використовують той самий аналітичний прилад і аналіз виконують в один день. Для розрахунку толерантного інтервалу використовують фракцію 90 % і рівень надійності 50 %. Також розраховують внутрішньолабораторну прецизійність як оцінку сумарного варіювання в межах серії аналізів і між різними серіями аналізів із використанням дисперсійного аналізу.

Аналізуючи підхід життєвого циклу, зручно розглядати його з двох напрямків: застосування загальних принципів забезпечення якості й конкретна реалізація з використанням конкретних статистичних прийомів для обґрунтування критеріїв прийнятності й формату експерименту.

Можна бачити, що в підході життєвого циклу застосовані нові системні підходи, які були розроблені для процесів виробництва ЛЗ, складовою частиною яких є і процес аналізу, а саме: життєвий цикл процесу, цільовий профіль якості, управління ризиками якості, стратегія контролю, управління знаннями, концепція QbD, концепція невизначеності результатів вимірювань.

Поза всяким сумнівом, таке застосування нових системних підходів до забезпечення якості досягає мети — призводить до покращення якості результатів аналізу. Ці підходи можуть бути незалежно застосовані до класичного підходу до розробки, валідації і трансферу методики.

Підхід життєвого циклу також акцентує увагу на вивченні атрибутів об'єкта аналізу, які пов'язані з його власними властивостями, а також із властивостями, які обумовлені характеристиками технології. Оскільки в класичному підході такого акценту немає, цей аспект міг упускатися.

З погляду практичної реалізації концепції життєвого циклу ми вважаємо, що наголошені цілі не були досягнуті. Це передусім стосується формулювання науково обґрунтованих критеріїв прийнятності, які забезпечують придатність методики своєму призначенню. Ключовий критерій АТР, на який повинні спиратися інші критерії, — це цільова невизначеність. Під час обґрунтування цільової невизначеності в роботі [47] зазначено, що методика гарантує прийнятну надійність не просто для кондиційного ЛЗ, а лише для випадків, коли фактичний вміст наближається до номінального (100 %). Однак тоді ця методика нездатна генерувати коректні результати, коли вміст аналіту близький до меж вмісту. Тобто методика нездатна з високою надійністю розрізняти якісну й неякісну продукцію. Така методика не може використовуватися для контролю якості ЛЗ, що перебувають на ринку, офіційними лабораторіями. Така методика непридатна для цілей фармакопейної монографії. І така методика не має задовольняти виробника, оскільки результат GMP — випуск лише якісної продукції, де вміст діючої речовини наближається до номінального, — це кінцевий результат, який треба одержати в процесі фармацевтичної розробки. Для того щоб забезпечити й контролювати постійний випуск якісної продукції, якраз і потрібна методика, яка надійно розрізняє якісну й неякісну продукцію [49].

У підході життєвого циклу зазначається [47], що валідаційні характеристики класичного підходу до валідації (лінійність і діапазон, специфічність, чутливість та ін.) є важливими й мають вивчатися на стадії 1. Також наголошується, що АТР має бути трансльований у ключові характеристики придатності методики, але для класичних валідаційних характеристик зв'язок з АТР не є явним. Отже, сьогодні в підході життєвого циклу вивчення класичних валідаційних характеристик залишається необґрунтованим [49].

У концепції життєвого циклу наголошується, що запропонований підхід (стадія 2 — верифікація методики) може замінити класичну процедуру трансферу [44]. Але в запропонованому підході, з огляду на логіку й наведені приклади, RU виконує достатньо великий експеримент із вивчення прецизійності (не менший, ніж у SU). Такий розподіл робіт між SU і RU є нераціональним, як порівняти з класичним підходом [49].

Підхід до вивчення прецизійності (тобто випадкового варіювання), який використовують і в класичному підході до валідації, і в концепції

життєвого циклу, також викликає сумніви. Можна сформулювати, що мета вивчення прецизійності — надати оцінку варіювання від факторів, які не контролюються безпосередньо (тобто не як для чинників систематичного зміщення результатів, для яких може бути встановлена причина). Але ми можемо впливати на амплітуду випадкового варіювання, впливаючи на об'єкт, з яким воно пов'язане. Основними причинами (й об'єктами), які спричиняють випадкове варіювання, зазвичай є аналітик, який виконує операції розведення, і аналітичний інструмент. Для аналітика варіювання результатів залежать не тільки від об'єктивних причин — його досвіду і кваліфікації, але також і суб'єктивних — його фізичного стану (втомленість), особистого ставлення до аналізу (це рутинний аналіз або аналіз із підвищеною відповідальністю) тощо. Те саме стосовно інструмента — *RSD* паралельних вимірювань залежить від марки й технічного стану приладу. Зважаючи на природу чинників випадкового варіювання можна стверджувати, що варіювання для результатів аналізу, які будуть одержані протягом певного часу в тій самій лабораторії, можуть належати до іншої генеральної сукупності. Отже, характеристика прецизійності, яка одержана протягом короткого часу, не є надійною [49].

Більш коректним підходом є стандартизація випадкового варіювання об'єктів, тобто чинників такого варіювання. Для аналітика лабораторія має контролювати, що він працює відповідно до нормальної аналітичної практики (див. підхід ДФУ [54]), а для інструментів — нормувати максимально допустиме *RSD* у процедурі кваліфікації приладу, як це зроблено в ДФУ для спектрофотометрів у національній частині 2.2.25 «Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях» [55]. Якщо це зроблено, немає ніякого сенсу вивчати, як аналітик готує розведення і як працює аналітичний прилад. В SU достатньо перевіряти, чи існують невиявлені чинники варіювання, які не були передбачені з огляду на наші знання, а в RU — чи виконуються вимоги до цільової невизначеності й вимоги до нормальної аналітичної практики. Такий погляд змінює ціль вивчення прецизійності й дозволяє суттєво скоротити експерименти з перевірки прецизійності [49]. Реальна характеристика прецизійності може бути одержана під час подальшого рутинного використання методики або з результатів фармацевтичної розробки, яка триває достатньо довго й тому потенційно може надавати надійну характеристику прецизійності [56].

Використання толерантних інтервалів, приклади застосування яких для різних завдань наводяться в концепції життєвого циклу, може бути некоректним [49]. Прогноз варіювання в майбутньому експерименті з використанням толерантних інтервалів спирається на ідею, що всі результати, за якими оцінюють варіювання, і майбутні результати належать до однієї генеральної сукупності. З огляду на розуміння природи чинників варіювання можна очікувати, що майбутні результати не будуть належати до тієї самої генеральної сукупності, до якої належать одержані раніше результати.

Крім того, саме використання толерантних інтервалів є непрозорим. Задаючи різний рівень надійності й різну фракцію, можна варіювати ширину інтервалу, тобто маніпулювати прийняттям рішення щодо відповідності ширини інтервалу цільовій невизначеності. У наведених прикладах використовується фракція 60 % і 90 % і рівень надійності 90 % і 50 %. У них немає наукового обґрунтування для вибору ширини фракції і рівня надійності, скоріше вони вибираються такими, щоб одержані результати відповідали (або не відповідали) критеріям. Замість науково обґрунтованих критеріїв аналітик одержує від використання толерантних інтервалів статистичний інструмент для маніпулювання висновком щодо придатності методики [49]. Зважаючи на цю думку треба звернути увагу на таку рекомендацію [47]: якщо критерії, встановлені в АТР, не були досягнуті, як можливий крок пропонується переглянути вірогідність і рівень надійності. Можна передбачити такий наслідок: кожне підприємство може встановити свої критерії залежно від того, виконуються вони або ні для цієї конкретної лабораторії. Тобто ми повертаємося до ситуації кризи, як і в класичному підході до валідації.

Також здається недоцільним використання дисперсійного аналізу для виділення внутрішньолабораторного варіювання. По-перше, як обговорювалося вище, із часом амплітуда варіювання може суттєво змінюватися, тому така оцінка не є надійною. По-друге, застосування дисперсійного аналізу базується на передумові, що всі вибірки належать до однієї генеральної сукупності. Як йшлося вище, є підстави вважати, що результати, одержані різними аналітиками й на різних приладах, не належать до однієї генеральної сукупності. По-третє, взагалі немає сенсу вивчати, наскільки по-різному працюють різні прилади й різні аналітики. Методика має бути сконструйована так, щоб у разі дотримання аналітиком нормальної лабораторної практики й відповідності приладів вимогам щодо їх ква-

ліфікації для результатів аналізу забезпечувалися вимоги до цільової невизначеності. Тобто треба не вивчати реальне значення для прецизійності, а нормувати максимально допустиме і відстежувати виконання цієї вимоги [49].

Також викликає критику запропонований у роботі [52] дизайн експерименту. На підставі розуміння природи чинників варіювання від часу обробки ультразвуком випробовуваного зразка ніяк не пов'язане з варіюванням від температури колонки в хроматографі. Тому не має сенсу вивчати взаємозв'язок для цих чинників варіювання, що саме ставить за ціль дизайн експерименту. Крім того, якщо ми знаємо, що функція монотонна, то немає сенсу вивчати жодні додаткові рівні, а лише крайні — високий і низький. Так, температура колонки й вміст ацетонітрилу в рухомій фазі щодо ступеня розділення є монотонними функціями, тому використання дизайну експерименту із середнім рівнем суперечить нашим знанням. На нашу думку, тут достатньо двох експериментів: з максимальною температурою і максимальним вмістом ацетонітрилу й з мінімальними значеннями. Можна зробити висновок, що тут відбулася бюрократизація експерименту, як це сталося в класичному підході: дизайн експерименту використовується не в разі потреби, а тому що була надана рекомендація його використовувати.

Метрологічна концепція ДФУ і її застосування до валідації і трансферу

Підхід ДФУ є розвитком класичного підходу до валідації, в якому застосовано метрологічну концепцію невизначеності результатів вимірювань з урахуванням специфіки стандартизації у фармацевтичному секторі. Завдяки сформульованому принципу незначущості були запропоновані вимоги до цільової невизначеності, які дозволяють розрізняти якісний і неякісний ЛЗ на рівні надійності 95 %. Тому методика, яка відповідає вимогам ДФУ, придатна для введення у фармакопейну монографію, може бути застосована контролювальними лабораторіями й має влаштовувати виробника. Як порівняти з підходом життєвого циклу, вимоги до цільової невизначеності суттєво жорсткіші (для КВ у ГЛЗ 1.6 % замість 3.0 %). Ці вимоги використовувалися з 2003 р. як критерії відповідності результатів учасників Програми професійного тестування, провайдером якої є ДП «Фармакопейний центр» [57]. Тобто досяжність на практиці такого рівня невизначеності доведена в міжлабораторному експерименті.

Як і в підході життєвого циклу, у підході ДФУ критерії базуються на цільовій невизначеності й на максимально допустимому зміщенні результатів. Для порівняльних методів аналізу (хроматографія, спектрофотометрія) рекомендується, щоб зміщення було незначуще порівнюючи з цільовою невизначеністю.

Оцінюються одержані з валідаційних випробувань не толерантні інтервали, а довірчі інтервали для рівня надійності 95 %, що є логічним враховуючи природу чинників випадкового варіювання, які можуть мати іншу амплітуду в іншій лабораторії і з часом [49].

Суттєвим досягненням підходу ДФУ є те, що були визначені критерії нормальної аналітичної практики. Фактично були встановлені норми для типових об'єктів і операцій, з якими пов'язане випадкове варіювання. Відштовхуючись від рекомендації EDQM і за результатами міжлабораторного експерименту були встановлені вимоги до точності приготування концентрації об'ємним методом. Тобто були встановлені вимоги до цільової невизначеності під час виконання рутинних аналізів для взяття наважок, взяття аліквот і доведення до об'єму для мірного посуду [49].

Звичайно, ці рекомендації не застосовані для нестандартних випадків, наприклад для операцій із в'язкими рідинами (коли потрібно використовувати ваговий метод), для легколетких розчинників (коли потрібно використовувати спеціальну техніку внесення аліквоти) тощо.

Крім того, були визначені вимоги до збіжності паралельних вимірювань для аналітичних приладів — для спектрофотометра на підставі міжлабораторного експерименту [58] і для хроматографа для КВ у ГЛЗ на підставі ширини меж вмісту [59]. Також були встановлені вимоги до збіжності паралельних титрувань на підставі ширини меж вмісту для КВ у субстанціях і наведені рекомендації щодо досягнення таких вимог [39].

Наявність таких рекомендацій дозволила розв'язати досі не вирішене базове завдання для фармацевтичного сектора. Зважаючи на текст методики, стало можливим прогнозувати ту невизначеність, яку можна одержати в іншій лабораторії за умов дотримання нормальної лабораторної практики.

З огляду на те, що підхід ДФУ нормує вплив від систематичних чинників, такий прогноз може бути коректно застосований до більшості методик контролю якості ЛЗ.

Цей підхід не застосовний для методик, в яких використовуються операції, невизначеність яких може бути встановлена лише екс-

периментально (наприклад, екстракція, одержання похідних хімічної реакції тощо). Але таких методик існує не дуже багато. Отже, підхід ДФУ дозволив уперше вирішити наголошений фармакопеями базовий принцип — враховувати аналітичне варіювання, яке характерне для нормальної аналітичної практики, у межах вмісту.

На підставі вимог до цільової невизначеності в підході ДФУ була дуже послідовно проведена трансляція всіх рекомендацій ІСН Q2 щодо валідаційних характеристик у критерії прийнятності [60]. Тобто підхід ДФУ повністю відповідає рекомендаціям ІСН Q2. Це вдалося, зокрема, завдяки використанню нормалізованих координат, тобто всі розрахунки проводяться для значень «введено» і «знайдено» у відсотках від номінального вмісту.

У частині експерименту підхід ДФУ пропонує одночасне вивчення лінійності, правильності й прецизійності. Для цього експерименту розроблено стандартний формат і саме для цього формату рекомендовані критерії. Для того щоб одержати статистично надійні результати, рекомендується використовувати 9 різних концентрацій, які рівномірно перекривають діапазон застосування методики. Цей формат експерименту й критерії застосовуються в усіх випадках вивчення методик КВ. Інші валідаційні експерименти є менш стандартизованими.

Підхід ДФУ використовує такий підхід до вивчення прецизійності. Оскільки основні чинники випадкового варіювання є під контролем, в SU на статистично репрезентативному експерименті (одночасне вивчення лінійності, правильності, прецизійності — 9 модельних розчинів + внутрішньолабораторна прецизійність) здійснюється перевірка, чи є невиявлені чинники варіювання. В RU на дуже невеликому експерименті підтверджується, що під час використання нової методики виконуються вимоги до цільової невизначеності.

Підхід ДФУ реалізовано для основних кількісних показників якості (КВ, однорідність дозованих одиниць, розчинення і вивчення профілів, визначення домішок) і для основних методів аналізу (спектрофотометрія, хроматографія, титрування). Приклади застосування підходу ДФУ оформлені як «стандартизовані процедури валідації» [61] і введені в ДФУ [41].

Передусім потрібно зауважити, що в підході ДФУ була досягнута ціль: результати валідації науково обґрунтовано демонструють придатність методики своєму призначенню. Єдине припущення, на яке спирається підхід ДФУ для встановлення вимог до цільової невизначенос-

ті, — 95% надійність одержання коректного результату [49]. Такий підхід є загальноприйнятим у хімічному аналізі й у фармацевтичному секторі й тому не викликає сумнівів. Експеримент і критерії для валідаційних характеристик послідовно виходять із міжнародно визнаних правил стандартизації у фармацевтичному секторі.

Можна стверджувати, що підхід ДФУ випередив деякі ідеї, які були розвинуті в належних практиках і використані в підході життєвого циклу. Так, прогноз невизначеності спрямований саме на оцінювання коректності наступного використання методики в рутинному аналізі. Крім того, у підході ДФУ сформульовані основні параметри АТР — вимоги до цільової невизначеності й правильності результатів.

Але підхід ДФУ був збудований на базі класичного підходу до валідації, тому він успадкував і деякі його недоліки. Фактично підхід ДФУ наголошує таку ціль: результати, одержані у валідаційних випробуваннях певного обсягу, повинні продемонструвати, що вони відповідають заздалегідь визначеним критеріям для заздалегідь визначеного формату експерименту. Тобто, як і класичний підхід, він залишається формальним, одноразовим випробуванням [5].

Можна зазначити, що, як і для класичного підходу, почалася певна бюрократизація підходу ДФУ, яку ми пов'язуємо з тим, що підхід ДФУ не акцентує уваги на розумінні природи чинників варіювання (підхід QbD, реалізований у життєвому циклі). Так, запропонований ДФУ експеримент для одночасного вивчення лінійності, правильності й прецизійності є коректним для переважної більшості випадків. Тому він, а з ним й інші запропоновані ДФУ підходи до організації експерименту й критеріїв почали розглядатися як «необхідні і достатні». Але ж трапляються випадки, коли формальна відповідність цим критеріям за результатами валідаційного експерименту призводить до некоректного висновку щодо придатності методики [62]. Так, під час апробації методики КВ глюкози (монографія Ph. Eur. «Розчини для перитонеального діалізу» [63]) було виявлено, що завдяки тому, що важко візуально визначати точку переходу забарвлення в йодометричному титруванні з додаванням крохмалю, паралельні визначення, які зроблені в одній серії експерименту, мають дуже добру збіжність (за рахунок суб'єктивного фактора), але одночасно можуть відхилятися від істинного значення значно більше (у проведеному експерименті — до 2.94 %) ніж на максимально допустимому невизначеності (1.6 % у цьому випадку). За рахунок того, що *RSD*

і довірчі інтервали згладжують такі відхилення, одержані результати для 9 модельних розчинів витримують вимоги ДФУ до ширини довірчого інтервалу. Але, зважаючи на природу чинника варіювання (систематичний зсув у межах серії аналізів), можна вважати, що методика не дозволяє розрізняти якісні й неякісні ЛЗ із достатнім рівнем надійності. Отже, цей випадок демонструє, що існуючий підхід ДФУ має потребу в удосконаленні.

Підхід ДФУ використовує більш прогресивний підхід до вивчення прецизійності завдяки контролю за основними чинниками випадкового варіювання. Але можна стверджувати, що підхід ДФУ відкладає надійне вивчення чинників, які обумовлюють випадкове варіювання, на етап рутинного використання методики. Водночас валідована методика зазвичай починає використовуватися для фармацевтичної розробки, у процесі якої одержують достатню кількість результатів для надійного оцінювання чинників варіювання в реальних умовах використання методики. Оскільки підхід ДФУ не пов'язує всі етапи життєвого циклу методики в єдине ціле, така можливість вивчення прецизійності, яка є насправді завданням валідації методики, залишається поза увагою підходу ДФУ.

Оскільки підхід ДФУ не акцентує уваги на розумінні чинників варіювання, такий потужний інструмент, як прогноз невизначеності, не застосовується ефективно для ідентифікації чинників варіювання. Так, у процесі валідації можуть бути одержані результати, які відповідають вимогам до цільової невизначеності. Водночас прогнозоване значення невизначеності може бути суттєво менше. Наскільки нам відомо, оцінка фактичної невизначеності з результатів валідації не порівнювалась із прогнозованою невизначеністю для ідентифікації чинників варіювання.

Підхід ДФУ не розглядає системно всі стадії методики, а саме третю стадію — підготовка результату аналізу, яка фактично управляє пробовідбором (одержанням репрезентативної проби), усередненням на етапі пробопідготовки й усередненням на етапі вимірювань для одержання коректного кінцевого результату, який порівнюється з вимогами специфікації. Формально він розглядає лише пробопідготовку й кінцеву аналітичну операцію (вимірювання). Тому під час реалізації підходу ДФУ можуть випадати з поля зору деякі властивості об'єкта аналізу, які надає йому технологія і які не можуть бути вивчені на модельних розчинах. Це, наприклад, вплив оболонки таблетки на одержання однорідної проби розтертих таблеток

або вплив допоміжних речовин супозиторіїв на екстракцію домішки, яку визначають. Можна стверджувати, що в разі формального використання підходу ДФУ задовільні результати валідації можуть бути одержані лише з використанням модельних розчинів взагалі без використання реального об'єкта аналізу, навіть для ситуацій, де це критично.

Також поза увагою підходу ДФУ залишаються властивості об'єкта аналізу, пов'язані саме з технологією (наприклад, яке варіювання очікується між одиницями дозованого ГЛЗ і скільки одиниць ГЛЗ потрібно для одержання репрезентативної проби для КВ).

Окрім того, у підході ДФУ не розкрита концепція трансферу. Немає постановки завдання, не визначено, які завдання має вирішувати трансфер в RU і як пов'язаний трансфер із попередніми етапами — розробкою і валідацією методики в SU. Не розкрито, як трансфер пов'язаний зі специфікою об'єкта аналізу й із технологією його виробництва.

Аналіз існуючих підходів до трансферу аналітичної процедури в керівництвах регуляторних органів

Слід зазначити, що рекомендації до трансферу на початку були розроблені організацією International Societies of Pharmaceutical Engineers (ISPE) у співпраці з регуляторними органами — Food and Drug Administration (FDA), Maritime and Coastguard Agency (MCA), Health Promotion Board (HPB) й Academy of Applied Pharmaceutical Sciences (AAPS). Ці рекомендації ґрунтуються на порівняльному дослідженні. Потім підходи з цього документа, включно з рекомендаціями до дизайну експерименту й критеріями прийнятності, були введені до керівництва ISPE Guide Technology Transfer [16]. Згодом FDA розробило власне керівництво для промисловості [4], яке посилається в частині трансферу аналітичної процедури на керівництво ASTM [17]. Тому в подальшому ми розглядаємо обидва підходи, які описані в цих керівництвах.

Підхід ASTM

Стандарт ASTM спирається на так звані порівняльні дослідження, які є широко відомими й описані в багатьох наукових статтях [64-68]. Він націлений на те, щоб у результаті змін у методиці аналізу запобігти суттєвому зміщенню результатів або погіршенню робочих характеристик методики. Як одна з цілей розглядається еквівалентність лабораторій (трансфер). Для реалізації цього мають бути визначені допуски еквівалентності, які є «найгіршим», але прийнят-

ним випадком. Такі критерії встановлюються зазвичай у результаті досягнення консенсусу між експертами, які представляють зацікавлені сторони (SU і RU).

Цей стандарт зазначає, що потрібен чітко визначений заздалегідь критерій, що визначає, наскільки середнє значення і/або варіювання результатів можуть мати розбіжність. Декларовано, що критерії мають встановлюватися на підставі аналізу ризиків прийняття некоректного рішення щодо відповідності специфікаціям.

Дизайн експерименту заданий заздалегідь цим документом. Для розробки дизайну експерименту потрібна наявність попередньої інформації щодо меж еквівалентності, прийнятого ризику споживача й оцінки прецизійності методики.

Зазвичай прийнятним є ризик споживача на рівні надійності 95 %. Також контролюється ризик виробника, який залежить від довірчого інтервалу для одержаних у процесі трансферу результатів, який регулюється числом паралельних визначень. Рекомендується, щоб надійність коректного рішення (ризик виробника) була не менш ніж 90 %. У наведених прикладах використовується число паралельних вимірювань від 3 до 20.

Для порівняння двох середніх значень використовується модифікована статистика Стьюдента «два односторонніх тести» (TOST). Визначається статистична значущість того, що два середні значення розрізняються. Для порівняння прецизійності використовують відношення двох дисперсій (R) і нормується значення R. Зазвичай використовується критерій Фішера.

Можна бачити, що документ ASTM вимагає встановлення критерію прийнятності того, яке погіршення результатів у RU порівнюючи з SU є припустимим, але не надає ніяких рекомендацій, як встановлювати такі критерії. До того ж припускається, що такі критерії встановлюються як консенсус між SU і RU. Треба зазначити, що цільова невизначеність, яка встановлюється саме з огляду на ризик прийняття некоректного рішення щодо відповідності специфікаціям, є таким об'єктивним критерієм. Якщо ж вона не встановлена, то ми знову маємо ситуацію необґрунтованих критеріїв, які будуть різними в різних лабораторіях. Тобто замість підтвердження придатності методики під час трансферу ми одержуємо бюрократизовану процедуру, як це сталося з валідацією за відсутності науково обґрунтованих критеріїв.

Підхід ASTM не надає концепцію трансферу, а обмежується описом застосування статисти-

ки для конкретного експерименту — порівнянням результатів. У цьому порівнянні може бути врахована придатність методики, якщо обґрунтовано встановлений критерій. Але саме встановлення такого критерію цей документ залишає на розсуд користувачів.

Регуляторне керівництво USP

USP запропонувала загальну монографію <1224> до організації трансферу методики [15]. Ця монографія формулює ціль трансферу як «забезпечення того, що RU має достатні знання про методику і в змозі виконувати її як передбачалося». Монографія підсумовує можливі типи трансферу й зазначає, що найбільш поширеним видом трансферу є порівняльне дослідження. Також USP розглядає такі типи трансферу, як сумісна валідація — залучення RU до процесу валідації і ревалідація методики в RU (у повному обсязі або в скороченому). USP зазначила, що в цій монографії відсутні будь-які статистичні методи, що стосуються експерименту, тобто пропонується лише система якості й загальні принципи організації трансферу.

Також у монографії USP наводяться специфічні для трансферу елементи системи якості.

Для підходу USP застосовні такі самі зауваження, що й до підходу ASTM. Треба зазначити, що повноцінна концепція трансферу (за аналогією до проголошеної в концепції життєвого циклу) надає можливість транслювати мету й завдання трансферу в кінцевий результат — науково обґрунтований дизайн експерименту й критерії прийнятності. Зробити це, спираючись на підхід USP, неможливо. Як і у випадку з класичним підходом до валідації, USP декларує ціль і не визначає засобів її досягнення. Це призводить до того, що трансфер виконується формально, «відповідно до підходу USP», тобто також спричиняє бюрократизацію процедури. Концепція трансферу, яка базується на відповідності призначенню, відсутня.

Регуляторні вимоги FDA

Як зазначалося вище, FDA розробило керівництво для промисловості [4], яке рекомендує проводити порівняльне дослідження під час

трансферу методики, використовуючи ASTM E2935 для статистичної обробки результатів і спираючись на монографію USP <1224>.

До підходу FDA застосовні такі самі зауваження, що й до підходів ASTM і USP. Концепція трансферу, яка базується на відповідності призначенню, відсутня.

Рекомендації ISPE/WHO

Підхід ISPE і WHO потрібно розглядати як єдиний, тому що WHO розробило власне керівництво [18], в якому представило своє бачення щодо організації цієї процедури. Проте дизайн експерименту й відповідні критерії є повністю запозиченими з керівництва ISPE [16] для основних показників якості, зокрема для кількісного визначення (Табл. 1).

Треба зазначити, що наведений приклад експерименту й критеріїв WHO позиціонує не як рекомендації, а лише як приклад «найкращої практики».

Передусім потрібно звернути увагу, що в підході ISPE/WHO до КВ надані єдині рекомендації, тобто слід розуміти, що ISPE/WHO рекомендує застосовувати їх для КВ і в субстанціях, і в ГЛЗ, не враховуючи різницю у нормуванні меж вмісту — одnobічне («не менше») чи двобічне («від... до»), і не беручи до уваги ширину меж вмісту для двобічного нормування. Вимоги до цільової невизначеності на підставі призначення методики розрізняються для всіх перелічених випадків. Отже, наведена рекомендація суперечить призначенню методик КВ [49].

По-друге, необхідно звернути увагу на запропонований дизайн експерименту, а саме на те, що пропонується використовувати двох аналітиків, 3 серії ГЛЗ по 3 паралельних визначення, порівнюючи водночас середнє значення і варіабельність у двох лабораторіях. Схожий дизайн експерименту наводиться в підході життєвого циклу, де пропонується виділення внутрішньолабораторного варіювання. Оцінка прецизійності в цьому дизайні буде ненадійною, оскільки:

1. Амплітуда варіювання може суттєво змінюватися з часом.
2. Результати, одержані різними аналітиками й на різних приладах, не належать до однієї ге-

Таблиця 1

Дизайн експерименту й критерії прийнятності для трансферу методик кількісного визначення

Метод	Дизайн експерименту	Деталі експерименту	Критерії прийнятності	
Кількісне визначення	Кожна сторона 2 аналітики × 3 серії, у трьох повторюваннях (18 на сторону)	Використовувати різні аналітичні інструменти / колонки. Незалежне приготування розчинів	Порівняння середніх значень і варіабельності	TOST, з допустимою різницею у 2 %

неральної сукупності, тому застосування TOST для цієї ситуації буде некоректним.

3. Вивчення прецизійності роботи різних приладів й аналітиків не належить до завдань трансферу.

Розробка аналітичної процедури має бути виконана так, щоб для результатів аналізу забезпечувалися вимоги до цільової невизначеності під час виконання аналізу в умовах нормальної аналітичної практики й вимоги до відповідності аналітичної методики кваліфікаційному статусу. Тобто не потрібно вивчати прецизійність, а необхідно сформулювати максимально допустиму невизначеність і відстежувати виконання цієї вимоги.

Крім того, у науковій роботі [69] доведено, що запропонований дизайн і критерії прийнятності є прийнятними лише для відносно невеликих значень невизначеності аналітичних процедур. Тобто, якщо невизначеність методики становить більше 0.62 %, цей дизайн призводить до незадовільної ймовірності помилково позитивного висновку про успіх трансферу аналітичної процедури. Тобто доказовий підхід для цього дизайну не працює, а саме такий підхід закладений у методологію [70]. Результати роботи [71] також свідчать про високий ризик зміщення результатів аналізу під час трансферу методики через високу невизначеність.

Запропонований дизайн експерименту й критерії прийнятності є метрологічно необґрунтованими й не ставлять за ціль підтвердити відповідність призначенню аналітичної методики.

Підсумки аналізу існуючих підходів до трансферу

Наукові публікації [48, 72-75] звертають увагу на те, що наразі не існує офіційних науково обґрунтованих рекомендацій щодо концепції трансферу (тобто методології його організації), а наявні регуляторні вимоги й керівництва є ще більш неоднозначними, ніж ті, що наявні для валідації аналітичних процедур. Це спричинило негармонізовану ситуацію щодо організації трансферу аналітичних процедур на фармацевтичних підприємствах і, як наслідок, використання різних підходів до вибору дизайну експерименту, статистичних методів оцінювання та критеріїв прийнятності.

Наявні підходи до трансферу [16-18] викликали публікацію багатьох наукових робіт [70, 71, 74, 76-80], присвячених їх критиці. Можна бачити, що в цьому разі критерії можуть застосовуватися з огляду на принцип «ми використовуємо ці критерії, тому що вони завжди

виконуються», і такий підхід до встановлення критеріїв одержує назву «найкраща практика», як це наводиться в документі WHO [18]. Це призводить до непрозорої ситуації — трансфер може бути прийнятним на підставі одних критеріїв і неприйнятним на підставі інших.

Критичний аналіз класичного підходу трансферу й наукових робіт, присвячених його модернізації, дозволив сформулювати найголовніший недолік — у разі успішного висновку трансферу фактично відсутні об'єктивні докази придатності аналітичної процедури своєму призначенню. Це пов'язано з тим, що ці підходи використовують порівняльний аналіз, концепцію якого також висували раніше фахівці USP під назвою «еквівалентно або краще» [81], яка для трансферу аналітичних методик пропонує використовувати підхід еквівалентності результатів, ґрунтуючись на ключовому й критичному понятті в метрології, що порівнюватися можуть лише результати вимірювань, а не методики [82]. Однак у підході життєвого циклу, який USP розробила пізніше, вже заявляється твердження, що будь-яка методика відповідає своєму призначенню, якщо для результатів виконуються вимоги до цільової невизначеності [47]. Тобто з появою концепції цільової невизначеності USP фактично відмовилася від підходу «еквівалентно або краще».

Можна бачити, що для фармацевтичного сектора, де діє фармакопейне правило прийняття рішення, яке спирається на цільову невизначеність ($max \Delta_{As}$) [22], науково обґрунтоване використання підходу порівняльного аналізу й «еквівалентно або краще» знову повертає користувача до потреби встановлення $max \Delta_{As}$. Отже, ідея еквівалентності результатів з'явилася як компенсаторна ідея в ситуації, коли критерії придатності методики своєму призначенню були відсутні. Щойно такі критерії з'являються, більш коректним стає порівняння з ними результатів, одержаних у процесі трансферу, а порівняння з метрологічними характеристиками, які були одержані в SU, стає непотрібним [47].

Однак за відсутності науково обґрунтованих критеріїв прийнятності ідея еквівалентності не працює коректно. Якщо об'єктивні критерії придатності були відсутні, то немає доказів, що валідована в SU методика:

- 1) не має занадто велику $fact \Delta_{As}$ у порівнянні з $max \Delta_{As}$;
- 2) не має суттєво меншої $fact \Delta_{As}$ у порівнянні з $max \Delta_{As}$.

У першому випадку це призводить до того, що методика не дозволяє розрізняти з високою надійністю продукцію, яка відповідає і не

відповідає специфікаціям. Тобто фактично методика не працює, і формальна відповідність трансферу аналітичної методики не досягла цілі. У другому випадку до RU ставляться вимоги, які можуть бути недосяжними на практиці або вимагати витрати великих ресурсів, наприклад закупівлі лабораторного обладнання, яке має такі самі характеристики, як в SU. Така ситуація, коли SU в процесі валідації демонструє значно кращу прецизійність і правильність, ніж RU в рутинному аналізі, є типовою.

Отже, підхід «еквівалентно або краще» не вирішує проблеми відсутності обґрунтування відповідності призначенню. Фактично він повертає ситуацію в річище бюрократизації (будь-які критерії, які заявляються користувачем, приймаються) або стандартизації (критерії гармонізовані на рівні окремого компетентного органу, але вони залишаються необґрунтованими).

Висновки

У роботі проаналізовано еволюцію концепції придатності методики своєму призначенню, яка є провідним принципом для валідації і трансферу аналітичних методик. Широко застосований класичний підхід до валідації аналітичних методик не дозволяє надійно демонструвати придатність аналітичної методики своєму призначенню. Це завдання може бути вирішено із застосуванням метрологічної концепції ДФУ. Водночас підхід ДФУ має недоліки, які властиві класичному підходу до валідації, а саме, він розглядає трансфер як окрему процедуру, без урахування її подальшого використання у рутинному застосуванні, і не приділяє достатньої уваги розумінню і контролю джерел варіювання.

Підхід життєвого циклу пропонує використовувати загальні підходи до забезпечення якості, які мають очевидні сильні сторони (якість шляхом дизайну, життєвий цикл, управління ризиками якості тощо), тому їх застосування є доречним. Проте наразі відсутні науково обґрунтовані практичні приклади реалізації цих принципів — критерії прийнятності, статистичні прийоми й формат експерименту, які б доказово підтверджували придатність методики своєму призначенню.

Отже, актуальним завданням є розробка концепції трансферу аналітичних методик і її практична апробація. Доцільно, якщо така концепція буде будуватися на базі класичного підходу до валідації як міжнародно визнаного підходу й об'єднувати досягнення підходу ДФУ і підходу життєвого циклу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Process Validation: General Principles and Practices: Guidance for Industry / FDA, CDER etc. U.S. Department of Health and Human Services, 2011. 19 p.
2. Process validation for finished products — information and data to be provided in regulatory submissions: Guideline / EMA, CHMP etc. European Medicines Agency, 2016. 15 p.
3. Annex 15. Qualification and Validation: EudraLex, Volume 4, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. European Commission Directorate-General For Health And Food Safety, 2015. 16 p.
4. Analytical Procedures and Methods Validation: Guidance for Industry / FDA CDER etc. U.S. Department of Health and Human Services, 2015. 15 p.
5. USP Validation and Verification Expert Panel. Lifecycle Management of Analytical Procedures: Method Development, Procedure Performance Qualification, and Procedure Performance Verification. *Pharmacopeial Forum*, 2013. № 39 (5). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
6. Subpart I — Laboratory Controls, Sec. 211.160 (b) General requirements: Part 211. Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals. Food and Drug Administration Department of Health and Human Services, 2019.
7. Лабораторний контроль: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020. ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2020. 338 с.
8. Subpart I — Laboratory Controls, Sec. 211.165 (e) Testing and release for distribution: Part 211. Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals. Food and Drug Administration Department of Health and Human Services, 2019.
9. Subpart J — Records and Reports, 211.194 (a) (2) Laboratory records: Part 211. Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals. Food and Drug Administration Department of Health and Human Services, 2019.
10. Chapter 6. Quality Control, paragraph 6.15: EudraLex, Volume 4, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. European Commission Directorate-General For Health And Food Safety, 2014. 8 p.
11. Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller. Validierung analytischer Verfahren der fiktiven Firma «Muster» für die Arzneimittel-Herstellung: HPLC (inkl. Verwendung relativer Responsefaktoren), DC, Titration, GC, Dissolution Testing, Etablierung von Referenzstandards, Systemeignungstests, Verfahrenstransfer, Revalidierung. Bonn : Bundesverband der Arzneimittelhersteller, 2008. 224 s.
12. 5.12. Reference Standards. European Pharmacopoeia. European Directorate for the Quality of Medicines. 10th Ed. Strasbourg, 2020. P. 773-776.
13. <1058> Analytical Instrument Qualification. United States Pharmacopoeia. United States Pharmacopoeial Convention. 40 — NF 35. Rockville, 2017. P. 1137-1143.
14. Chapter 6. Quality Control, paragraphs 6.37 — 6.41: EudraLex, Volume 4, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. European Commission Directorate-General For Health And Food Safety, 2014. 8 p.
15. <1224> Transfer of Analytical Procedures. United States Pharmacopoeia. United States Pharmacopoeial Convention. 40 — NF 35. Rockville, 2017. P. 1778-1780.
16. Technology Transfer: ISPE Good Practice Guide. International Society for Pharmaceutical Engineering, 2003. 124 p.
17. ASTM E2935-17. Standard Practice for Conducting Equivalence Testing in Laboratory Applications. West Conshohocken : ASTM International, 2017. 23 p.
18. Transfer of technology in pharmaceutical manufacturing: WHO Technical Report Series, No. 961. World Health Organization, 2011. 25 p.

19. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. The Joint Committee for Guides in Metrology, 2008. 120 p.
20. EURACHEM/CITAC Guide CG 4 QUAM:2012.P1. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2012. 133 p.
21. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva : International Standard Organization, 2017. 30 p.
22. Leontiev D., Volovyk N. Specificity of application of the uncertainty concept to the decision on compliance of medicines. *Arh. farm.*, 2016. № 66. P. 207-208.
23. European Pharmacopoeia. European Directorate for the Quality of Medicines. 3rd Ed. Strasbourg, 1996. 1799 p.
24. European Pharmacopoeia. European Directorate for the Quality of Medicines. 10th Ed. Strasbourg, 2019. Available at: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>.
25. United States Pharmacopoeia. United States Pharmacopoeial Convention. 43 – NF 38. Rockville, 2020. Available at: <https://www.uspnf.com>.
26. The International Pharmacopoeia. World Health Organization. 9th Ed. Geneva, 2019. Available at: <https://apps.who.int/phint/en/p/about>.
27. EURACHEM/CITAC Guide STMU 2015. Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement, 2015. 24 p.
28. Daas A. G. J., Miller J. H. McB. Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 1). *Pharmeuropa*, 1997. № 9.1. P. 148-156.
29. Daas A. G. J., Miller J. H. McB. Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 2). *Pharmeuropa*, 1998. № 10.1. P. 137-146.
30. The Future Face of the European Pharmacopoeia Current concerns in Pharmaceutical analysis. Cannes, 8-9 February, 2001. 299 p.
31. Technical guide for the ELABORATION OF MONOGRAPHS. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2015. 67 p.
32. Rompay J. Van. How to construct and use the specification of chemical substances. *Pharmeuropa*, 1997. № 9.1. P. 135-139.
33. F.J. van de Vaart. Content limits – setting and using. *Pharmeuropa*, 1997. № 9.1. P. 139-143.
34. Ebel S. Assay content limits in the Pharmacopoeia. *Pharmeuropa*, 1997. № 9.1. P. 133-147.
35. 3AQ11a. Specifications and Control Tests on the Finished Product. London : EMA, 1991. P. 83-94.
36. Гризодуб А. И., Леонтьев Д. А., Левин М. Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ. *Фізіологічно активні речовини*, 2001. № 1 (31). С. 32-44.
37. VI. Додатки до діючих текстів ДФУ 1. Валідація аналітичних методик і випробувань^N. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Харків, 2004. С. 1-7.
38. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Доповнення 2. Харків, 2008.
39. 5.3.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015. Т. 1. С. 910-929.
40. Стандартизована процедура валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту / Гризодуб А. И. и др. *Фармаком*, 2004. № 3. С. 3-17.
41. Державна Фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 4. Харків, 2020.
42. Quality Risk Management Q9 Current Step 4 version: ICH Harmonised Tripartite Guideline. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005. 19 p.
43. Pharmaceutical Development Q8 Current Step 4 version: ICH Harmonised Tripartite Guideline. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2009. 24 p.
44. Pharmaceutical Quality System Q10 Current Step 4 version: ICH Harmonised Tripartite Guideline. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2008. 17 p.
45. Development And Manufacture Of Drug Substances (Chemical Entities And Biotechnological/Biological Entities) Q11 Current Step 4 version: ICH Harmonised Tripartite Guideline. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2012. 26 p.
46. Proposed New USP General Chapter: The Analytical Procedure Lifecycle <1220> / Gregory P. et al. *Pharmacopeial Forum*, 2017. № 43 (1). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
47. Analytical Target Profile: Structure and Application Throughout the Analytical Lifecycle / Kimber L. et al. *Pharmacopeial Forum*, 2017. № 42 (5). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
48. Nethercote P., Ermer J. Quality by design for analytical methods: implications for method validation and transfer. *Pharmaceutical Technology*, 2012. № 36. P. 74-79.
49. Development of an advanced strategy on the assay method transfer / Volovyk N. et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 2020. № 6 (28) (in print).
50. Nethercote P., Ermer J. Analytical Validation within the Pharmaceutical Lifecycle. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A guide to Best Practice*, 2015. P. 1-9.
51. Transfer of Analytical Procedures: A Proposal for a New General Information Chapter / Quattrocchi O. et al. *Pharmacopeial Forum*, 2009. № 35 (5). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
52. Analytical Control Strategy / Kovacs E. et al. *Pharmacopeial Forum*, 2017. № 42 (5). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
53. Proceedings of the Workshop on Lifecycle Approach of Analytical Procedures / Mark Argentine et al. *Pharmacopeial Forum*, 2017. № 43 (6). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
54. Volovyk N., Leontiev D., Denisenko N. Development of a procedure for personnel qualification by UV-Vis spectrophotometry. Innopharm 3: Proc. 3rd International Conference on Academic and Industrial Innovations: Transitions in Pharmaceutical, Medical and Biosciences (22-23 October 2018, Goa, India). P. 48.
55. Державна Фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015.
56. Precision from drug stability studies Investigation of reliable repeatability and intermediate precision of HPLC assay procedures / Ermer J. et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005. № 38. P. 653-663.
57. Результати третього раунду програми професійного тестування лабораторій «Фарма-Тест» в системі Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств МЗ Украины / Сур С. В. и др. *Вісник фармакології і фармації*, 2003. № 7-8. С. 45-57.
58. 2.2.25.N. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях. Державна Фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015. Т. 1. С. 78-81.
59. 2.2.46.N. Методи хроматографічного розділення. Державна Фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство

- «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015. Т. 1. С. 135.
60. Validation of the spectrophotometric procedure for desloratadine assay in tablets applying the uncertainty concept of the State Pharmacopoeia of Ukraine / Leontiev D. et al. *EUREKA: Health Sciences*, 2020. № 6. P. 74-87. <https://doi.org/10.21303/2504-5679.2020.001527>.
61. Гризодуб А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», 2016. 396 с.
62. Оцінка коректності результатів аналізу кількісного визначення глюкози в розчинах для перитонеального діалізу / Леонтьєв Д. А. та ін. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.)*. С. 129-130.
63. Peritoneal dialysis, solutions for 01/2019:0862. European Pharmacopoeia. European Directorate for the Quality of Medicines. 10th Ed. Strasbourg, 2020. P. 3515-3517.
64. Analytical Method Equivalency An Acceptable Analytical Practice / Chambers D. et al. *Pharmaceutical Technology*, 2005. № 29. P. 64-80.
65. Thomas A. Equivalence Testing for Comparability. *BioPharm International*, 2015. № 28. P. 45-48.
66. Lung R. Statistical method for the determination of equivalence of automated test procedures. *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry*, 2003. № 25. P. 123-127.
67. Unified Approach for Design and Analysis of Transfer Studies for Analytical Methods / Kringle R. et al. *Drug Information Journal*, 2001. № 35. P. 1271-1288.
68. Schuirman D. A. Comparison of the Two One-Sided Tests Procedure and the Power Approach for Assessing the Equivalence of Average Bioavailability. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 1987. № 15. P. 657-680.
69. Schepers U., Watzig H. Application of the equivalence test according to a concept for analytical method transfers from the International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005. № 39. P. 310-314.
70. ASTM E2935-16. Standard Practice for Conducting Equivalence Testing in Laboratory Applications. West Conshohocken: ASTM International, 2016. 15 p.
71. Schepers U., Watzig H. Application of the equivalence test for analytical method transfers: Testing precision using the United States Pharmacopoeia concept <1010>. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006. № 41. P. 290-292.
72. Transfer of drug dissolution testing by statistical approaches: Case study / Mohammed Amood AL-Kamarany et al. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2012. № 20. P. 93-101.
73. Fontenay G. Analytical method transfer: new descriptive approach for acceptance criteria definition. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008. № 46. P. 104-112.
74. Analytical method transfer: Improving interpretability with ratio-based statistical approaches / Fr mke C. et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013. № 74. P. 186-193.
75. Methodologies for the transfer of analytical methods: A review / Rozet E. et al. *Journal of Chromatography B*, 2009. № 877. P. 2214-2223.
76. Okamoto M. Assay Validation and Technology Transfer: Problems and Solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2013.06.028>.
77. Kaminski L., Schepers U., Watzig H. Analytical method transfer using equivalence tests with reasonable acceptance criteria and appropriate effort: Extension of the ISPE concept. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010. № 53. P. 1124-1129.
78. Transfer of analytical procedures: A panel of strategies selected for risk management, with emphasis on an integrated equivalence-based comparative testing approach / Agut C. et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011. № 56. P. 293-303.
79. Scypinski S., Young J. Analytical methodology transfer. *Separation Science and Technology*, 2011. № 10. P. 507-526. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-375680-0.00013-9>.
80. The transfer of a LC-UV method for the determination of fenofibrate and fenofibric acid in Lidoses: Use of total error as decision criterion / Rozet E. et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006. № 42. P. 64-70.
81. Acceptable, Equivalent, or Better: Approaches for Alternatives to Official Compendial Procedures / W. W. Hauck et al. *Pharmaceutical Forum*, 2009. № 35 (3). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>.
82. Measurement Science for Food and Drug Monographs: Toward a Global System / Koch W. et al. *Pharmaceutical Research*, 2010. № 27. P. 1203-1207. DOI:10.1007/s11095-010-0118-6.
- Леонтьєв Дмитро Анатолійович.** Д-р фарм. наук. Ст. наук. співроб. Заст. директора з наукової роботи, начальник відділу валидації та стандартних зразків ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Професор кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.
- Leontiev Dmytro Anatoliiovych.** Sc. D. in Pharmaceutical Sciences. Senior Researcher. Deputy Director of Science, Head of the Department of Validation and Reference Standards at SE «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry at National University of Pharmacy. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.
- Леонтьєв Дмитрій Анатольєвич.** Д-р фарм. наук. Ст. науч. сотр. Зам. директора по научной работе, начальник отдела валидации и стандартных образцов ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». Профессор кафедры фармацевтической химии Национального фармацевтического университета. ORCID iD: 0000-0003-1129-8749.
- Петрус Василь Васильович.** Аспірант Національного фармацевтичного університету. ORCID iD: 0000-0002-9380-8927.
- Petrus Vasylyiovych.** Postgraduate student of the Department of Pharmaceutical Chemistry at National University of Pharmacy. ORCID iD: 0000-0002-9380-8927.
- Петрус Василий Васильевич.** Аспирант Национального фармацевтического университета. ORCID iD: 0000-0002-9380-8927.
- Воловик Наталя Валеріївна.** Канд. фарм. наук. Заст. начальника відділу валидації та стандартних зразків ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». ORCID iD: 0000-0002-9660-8162.
- Volovyk Natalia Valeriivna.** Ph. D. in Pharmaceutical Sciences. Deputy Head of the Department of Validation and Reference Standards at SE «Ukrainian Scientific

Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». ORCID iD: 0000-0002-9660-8162.

Воловик Наталья Валерьевна. Канд. фарм. наук. Зам. начальника отдела валидации и стандартных образцов ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». ORCID iD: 0000-0002-9660-8162.

Гризодуб Александр Иванович. Д-р хим. наук. Профессор. Головной науч. співроб., директор ДП «Український науковий фармакопейний центр

якості лікарських засобів». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Gryzodub Oleksandr Ivanovych. Sc. D. in Chemistry. Full Professor. Chief Scientific Officer, Director at SE «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Гризодуб Александр Иванович. Д-р хим. наук, профессор. Гл. науч. сотр., директор ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств». ORCID iD: 0000-0002-6029-7825.

Фармакологічні дослідження

УДК 615.451.16:582.635.38

Владимирова І. М., Шумова Г. С.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна

Фармакологічні властивості фітоестрогенів і напрями їх клінічного застосування

У статті представлена характеристика порушень гормонального фону як однієї з найбільш поширених причин розвитку гострих і хронічних захворювань жіночої статеві системи. Насамперед гормональні порушення можуть бути спадковими й обумовлені генетично. У цьому разі лікування буде тривале й складне. Серед основних зовнішніх причин порушень гормонального фону виділяють постійні стреси й переживання, приймання гормональних препаратів, ускладнення після перенесеного інфекційного захворювання, хвороби органів ендокринної системи, неправильне харчування тощо. Тому метою цієї роботи був аналітичний огляд аспектів застосування фітоестрогенів як одного з основних напрямів корекції гормонального фону в жінок і застосування фітоестрогенів у лікуванні порушень гормонального балансу, для профілактики, а також у складі комплексної терапії (поряд із гормональними препаратами). Встановлено, що виділяють три класи фітоестрогенів: лігнани, стилбени і флавоноїди. До лігнанів належать секоізолярицирезинол і метаірезинол, до стилбенів — ресвератрол. Представники флавоноїдних фітоестрогенів поділяються на чотири групи: ізофлавонони, ізофлавонони, ізофлавонони і куместани. Ізофлавонони й ізофлавонони є метаболітами даїдзеїну і можуть бути виявлені тільки в організмах тварин. Найбільш відомими й дослідженими фітоестрогенами є флавоноїди (ізофлавонони) і лігнани. Представлено рослинні джерела фітоестрогенів залежно від хімічного класу сполук. Зважаючи на потенційну здатність цього класу сполук впливати на різні системи організму подібно ендогенним гормонам, представлено широку перспективу їх застосування як безпечної альтернативи гормонозалежній терапії в періодах пери- й постменопаузи, пременопаузи, показаний їх вплив на фертильність і статевий розвиток, на щитоподібну залозу та її функцію, на центральну нервову систему й імунну систему, у разі остеопорозу, на серцево-судинну систему, на можливий розвиток гормонозалежних пухлин. Обґрунтовано можливості застосування фітоестрогенів як активних інгредієнтів лікарських засобів для лікування розладів, пов'язаних із віковими змінами жіночого організму.

Ключові слова: гормональні порушення в жінок, фітоестрогени, класифікація, фармакологічні ефекти.

UDC 615.451.16:582.635.38

Summary

Vladymyrova I. M., Shumova H. S.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Pharmacological properties and the possibility of the clinical use of phytoestrogens

The article presents the characteristics of hormonal disorders as one of the most common diseases of the female reproductive system. Hormonal disorders are mainly caused by genetical reasons, resulting in long-lasting and complex treatment. Continuous stress and anxiety, the use of hormonal drugs, complications after infections, diseases of the endocrine system, unhealthy diet, etc. are primary external causes of the hormonal disorders. The aim of this work was an analytical review of the aspects of the use of phytoestrogens as one of the main directions for the correction of the hormonal level in women and their use in the treatment of hormonal imbalance for prophylaxis, as well as part of complex therapy (along with hormonal drugs). It has been established that there are three classes of phytoestrogens: lignans, stilbenes, and flavonoids. Lignans include secoisolariciresinol and metairesinol, and stilbenes include resveratrol. Flavonoid phytoestrogens are categorised into four groups: isoflavones, isoflavonones, isoflavans, and coumestans. Isoflavonones and isoflavans are metabolites of daidzein; they can only be found in animals. The most well-known and studied phytoestrogens are flavonoids (isoflavones) and lignans. Plant sources of phytoestrogens are presented, depending on the chemical class of compounds. In view of the potential ability of phytoestrogens to act as endogenous hormones, a broad prospect of their use as a safe alternative to hormone replacement therapy (HRT) in the peri-, pre- and postmenopause is presented. Their effect on fertility and sexual development, the thyroid gland and its function, the central nervous system, the immune system, the cardiovascular system, the possible development of hormone-dependent tumours, and their use in osteoporosis are shown. The possibilities of using phytoestrogens as active ingredients of medicines to treat disorders associated with age-related changes in the female body have been substantiated.

Keywords: hormonal disorders in women, phytoestrogens, classification, pharmacological effects.

УДК 615.451.16:582.635.38

Резюме

Владимирова И. Н., Шумова А. С.

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца, Киев, Украина

Фармакологические свойства фитоэстрогенов и направления их клинического применения

В статье представлена характеристика нарушений гормонального фона как одной из наиболее распространенных причин развития острых и хронических заболеваний женской половой системы. В первую очередь гормональные нарушения могут быть наследственными и обусловлены генетически. В этом случае лечение будет длительным и сложным. Среди основных внешних причин нарушений гормонального фона выделяют постоянные стрессы и переживания, прием гормональных препаратов, осложнения после перенесенного инфекционного заболевания, заболевания органов эн-

докринной системы, неправильное питание и т. д. Поэтому целью данной работы был аналитический обзор аспектов применения фитоэстрогенов как одного из основных направлений коррекции гормонального фона у женщин и применения фитоэстрогенов в лечении нарушений гормонального баланса, для профилактики, а также в составе комплексной терапии (наряду с гормональными препаратами). Установлено, что выделяют три класса фитоэстрогенов: лигнаны, стильбены и флавоноиды. К лигнанам относятся секоизоларицирезинол и метаирезинол, к стильбенам — ресвератрол. Представителей флавоноидных фитоэстрогенов делят на четыре группы: изофлавоны, изофлавононы, изофлаваны и куместаны. Изофлавононы и изофлаваны являются метаболитами дайдзеина и могут быть обнаружены только в организмах животных. Наиболее известными и исследованными фитоэстрогенами являются флавоноиды (изофлавоны) и лигнаны. Представлены растительные источники фитоэстрогенов в зависимости от химического класса соединений. Ввиду потенциальной способности данного класса соединений влиять на разные системы организма подобно эндогенным гормонам, представлена широкая перспектива их применения в качестве безопасной альтернативы гормонозависимой терапии в периодах пери- и постменопаузы, пременопаузы, показано их влияние на фертильность и половое развитие, на щитовидную железу и ее функцию, на центральную нервную систему и иммунную систему, при остеопорозе, на сердечно-сосудистую систему, на возможное развитие гормонозависимых опухолей. Обоснованы возможности применения фитоэстрогенов в качестве активных ингредиентов лекарственных средств для лечения расстройств, связанных с возрастными изменениями женского организма.

Ключевые слова: гормональные нарушения у женщин, фитоэстрогены, классификация, фармакологические эффекты.

Порушення гормонального фону є однією з найбільш поширених причин розвитку гострих і хронічних захворювань жіночої статеві системи. На правильне функціонування ендокринної системи, яка відповідає за вироблення гормонів, має вплив центральна нервова система. Тому коли нервова система перевантажена безліччю стресів і потрясінь, то ризик гормональних порушень сильно зростає [1]. У цьому разі першою страждає репродуктивна функція — порушується процес дозрівання фолікулів [2]. Причиною проблем із гормональним фоном також може стати поганий імунітет, а отже, і постійні ГРЗ і ГРВІ. Ослаблення імунітету частими хворобами або стресами, неправильним харчуванням, паразитами або перевтомою теж найперше негативно впливає на репродуктивну систему жінки. Також до гормонального збою можуть призвести перенесені інфекції, зокрема й інфекції, що передаються статевим шляхом, а також паразити, які знижують імунний захист організму й водночас виділяють токсини [3].

Найважливішими жіночими гормонами є прогестерон й естроген: їх взаємодія формує менструальний цикл, сприяє розвитку вторинних статевих ознак і регулює складні процеси в організмі жінки протягом усього репродуктивного періоду. Після настання клімаксу продукування естрогену припиняється з одночасним закінченням виробництва зрілих яйцеклітин. Найчастіше жінки помічають порушення досить пізно, вже на етапі розвитку хронічних захворювань, до яких належать полікістоз, ендометріоз, поява поліпів, міома матки, гіперплазія ендометрію [3, 4].

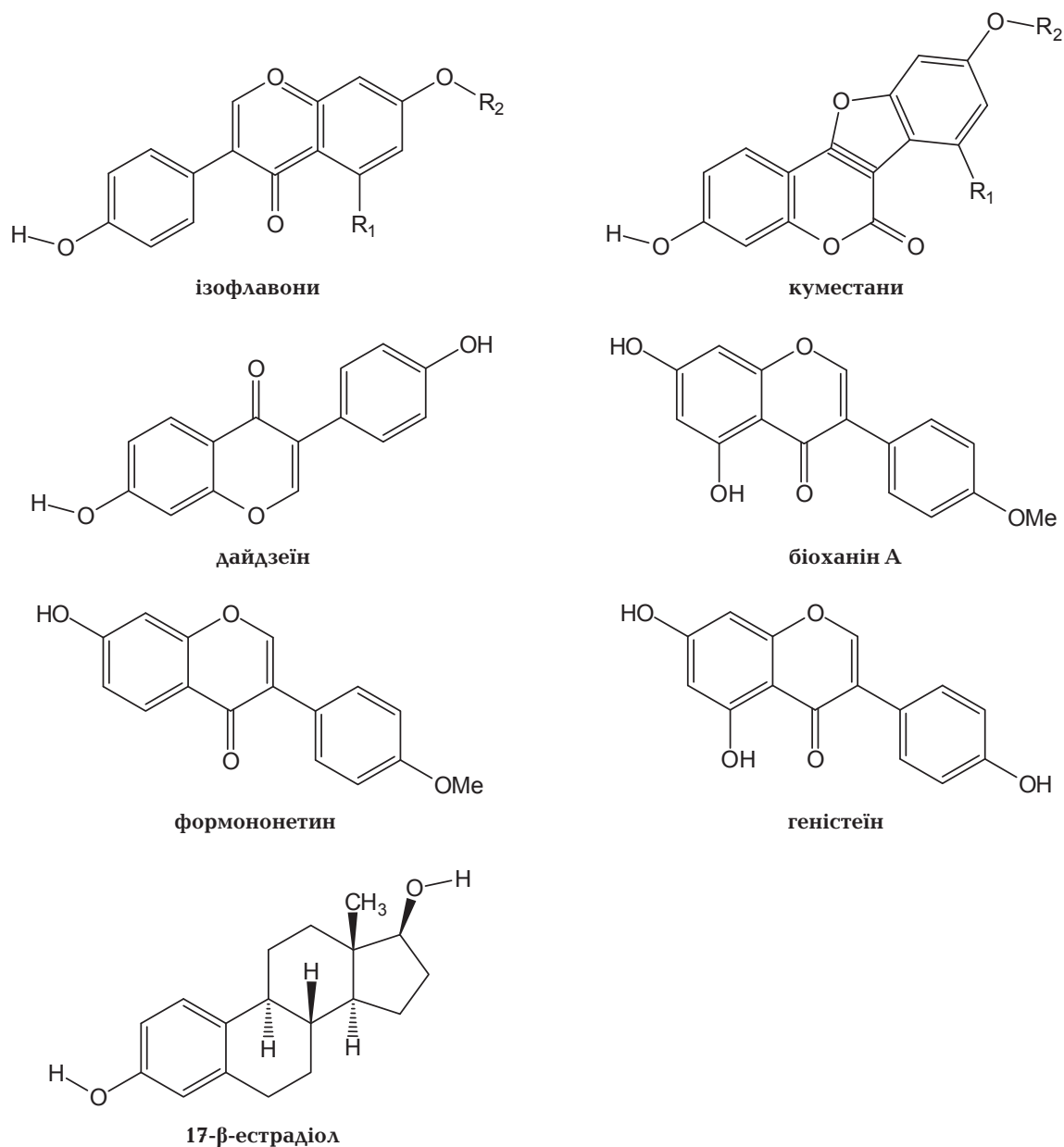
Тому усунення порушень гормонального балансу буде ефективно на початковому етапі їх виявлення. Здебільшого виправити ситуацію й нормалізувати рівень гормонів цілком можливо, сучасна медицина здатна успішно виліку-

вати як генетично обумовлені порушення, так і проблеми, що виникли в результаті впливу на організм зовнішніх факторів. У разі дефіциту прогестерону застосовують «Утрожестан», «Дюфастон» або їх аналоги, у разі нестачі естрогену — «Овестин», «Норколут» й інші препарати подібної дії. Призначення конкретного препарату здійснює лікар з урахуванням результатів аналізів, анамнезу пацієнтки й інших чинників, здатних вплинути на хід лікування [5].

У лікуванні порушень гормонального балансу, для профілактики, а також у складі комплексної терапії (поряд із гормональними препаратами) широко застосовуються лікарські рослини й засоби на їх основі. Основним напрямом корекції гормонального фону є застосування фітогормонів і фитоэстрогенів — низькомолекулярних органічних речовин із високою біологічною активністю [6-8].

Фитоэстрогени є гетерогенною групою рослинних сполук нестероїдної структури. Їх хімічна будова відрізняється від подібного природного естрогену, що секретується яєчниками в організмі жінки. До найбільш важливих властивостей фитоэстрогенів, які містяться в організмі людини, належать естрогенні, антиоксидантні й протекторні властивості. Виділяють три класи фитоэстрогенів: лігнани, стильбени і флавоноїди. До лігнанів належать секоізоларицирезинол і метаірезинол, до стильбенів — ресвератрол. Представників флавоноїдних фитоэстрогенів поділяють на чотири групи: ізофлавоны, ізофлавононы, ізофлаваны і куместаны. Ізофлавононы й ізофлаваны є метаболітами дайдзеїну і можуть бути виявлені тільки в організмах тварин. Найбільш відомими й дослідженими фитоэстрогенами є флавоноїди (ізофлавоны) і лігнани. Фитоэстрогени у рослинах зазвичай представлені у формі глікозидів (Рис. 1) [4, 9, 10, 11].

Рисунок 1



Хімічна структура фітоестрогенів порівнюючи з 17-β-естрадіолом

Серед найбагатших рослинних джерел ізофлавонів виділяють циміцифугу, сою, горох, боби, чечевицю, гранат, фініки, шпинат, конюшину, злаки, хміль; лігнанів — злаки, горіхи, овочі (морква, часник, броколі), льон, соняшник, гарбуз, чай, каву, яблука; флавононів — бобові, горіхи, червоні й жовті овочі; флавононів — цитрусові; куместанів — пророщені боби, сою, люцерну, конюшину; халконів — солодку; дитерпенів — кавові зерна; тритерпенів — солодку, хміль; кумаринів — капусту, горіхи, шпинат, солодку; ациклічних фітоестрогенів — хміль [12, 13, 14].

В останні десятиліття було проведено чимало випробувань, в яких *in vivo* й *in vitro* вивчалися ефекти фітоестрогенів. Незважаючи на те, що в цих роботах було з'ясовано багато аспектів дії фітоестрогенів, все ще залишається низка невирішених питань щодо їх біодоступності, а також метаболізму в кишечнику й печінці. З огляду на це, є потреба детального й широкого вивчення фармакологічних властивостей фітоестрогенів. Адже потенційна здатність цього класу сполук впливати на різні системи організму подібно ендогенним гормонам відкриває широку перспективу їх застосуван-

ня як безпечної альтернативи гормонозалежній терапії (ГЗТ).

Застосування фітоестрогенів у періодах пери- й постменопаузи

Менопауза характеризується згасанням функції яєчників (порушенням овуляції), підвищенням концентрації в сироватці фолікулостимулювального гормону (ФСГ) й зниженням рівня естрадіолу.

Перименопаузальний перехід, який виникає за 1-5 років до менопаузи, характеризується порушенням менструального циклу з попереднім скороченням тривалості циклу і його переривчастістю. Упродовж цього періоду відбуваються коливання рівня естрогену, внаслідок чого жіночий організм відчуває цілу низку негативних симптомів, таких як припливи, депресія, м'язові й суглобні болі [15].

На сьогодні достеменно невідомо, наскільки ефективно фітоестрогени здатні мінімізувати негативні явища в разі гіпоестрогенії, обумовленої оваріектомією, менопаузою або іншими причинами. Результати Кокранівського огляду показали, що нині існують переконливі докази здатності фітоестрогенвмісних рослинних засобів ефективно знижувати частоту або тяжкість таких симптомів, як припливи й нічна пітливість. Автори іншої роботи дійшли висновку, що застосування фітоестрогенів, зокрема геністеїну, може уповільнювати процес старіння шкіри, а також сприяти синтезу гіалуронової кислоти (Estrogen and Hormonal Treatments, Pharmaxchange, 2011) [16].

Застосування фітоестрогенів у період премопаузи

Гормональні ефекти фітоестрогенів у премопаузальному періоді життя жінки спрямовані на потенційну здатність цих речовин продовжувати тривалість менструального циклу. Результати досліджень демонструють, що вживання ізофлавонів (20 мг/добу або 40 мг/добу) збільшувало тривалість менструального циклу в 60 % жінок (n = 42). Однак у 20 % досліджуваних жінок було зафіксовано зменшення тривалості менструального циклу. Відмінностей упродовж лютеїнової та фолікулярної фаз у сироватці естрадіолу не було [15].

Інше перехресне дослідження свідчить, що добове приймання 60 г соєвого білка (45 мг загальних ізофлавонів / доба) збільшувало фолікулярну фазу менструального циклу (p < 0.01) і загальну тривалість циклу в середньому на 2.5 дні (n = 6). Збільшення лютеїнової фази не було. Введення сої також знижувало люте-

їнізувальний (ЛГ) і фолікулостимулювальний (ФСГ) гормони (p < 0.05 і p < 0.01, відповідно) у середині циклу й підвищувало рівень естрадіолу в сироватці під час фолікулярної фази (p < 0.02). Будь-яких змін у рівні прогестерону, глобулінзв'язувального статевого гормону, тестостерону або естрадіолу під час лютеїнової фази або в середині циклу не було [17, 18].

Дослідження впливу фітоестрогенів на овуляторний цикл відображено в результатах подвійного сліпого дослідження, під час якого вживання премопаузальними жінками (n = 34) 100 мг ізофлавонів / добу або плацебо відбувалось упродовж 1 року. У зразках крові, які були зібрані перед початком дослідження, після кожного 5-го дня після овуляції, на 1, 3, 6 і 12-му місяцях, було кількісно визначено вміст естрогену, естрадіолу, естрогену сульфату, прогестерону, глобулінзв'язувального статевого гормону, ФСГ і ЛГ. Загалом харчове введення фітоестрогенів суттєво не вплинуло на тривалість менструального циклу й не спричинило значних змін у концентрації статевих гормонів [19].

Вплив фітоестрогенів на фертильність і статевий розвиток

Інформація щодо впливу фітоестрогенів на фертильність і розвиток людини є обмеженою. Проте відомо, що деякі сполуки рослинного походження здатні проявляти естрогенні ефекти. Прикладом цього є порушення менструального циклу в жінок, задіяних на заготівлі хмелю, і в жінок, які споживали цибулини тюльпанів [3, 12].

Клінічні дані щодо впливу фітоестрогенів на статевий розвиток у людей можуть бути розглянуті на прикладі досліджень соєвих молочних сумішей. Метою одного з досліджень було вивчення специфічних ефектів соєвих молочних сумішей, проте його результат не продемонстрував зв'язку між їх вживанням і явними побічними ефектами, за винятком незначного збільшення тривалості й дискомфорту менструації. Інше дослідження вивчало можливий зв'язок між низкою харчових і навколишніх факторів і передчасним розвитком молочних залоз у дівчат, у результаті якого було встановлено слабкий зв'язок цього розвитку із соєвим раціоном. Слід зазначити, що обидва дослідження базувались на опитуваннях і не були пов'язані з прямими вимірюваннями рівня гормонів або інших параметрів. Відомості щодо проведення інших подібних клінічних досліджень, зокрема вивчення потенційного впливу фітоестрогенів *in utero*, відсутні [20].

Вплив фітоестрогенів на щитоподібну залозу і її функцію

Щитоподібна залоза відповідає за продукування гормонів (трийодотиронін (T_3) і тироксин (T_4)), що відповідають за регулювання метаболізму, ваги тіла й споживання кисню, а також нормальний ріст і розвиток упродовж дитинства.

Уперше зобоганна активність фітоестрогенів була встановлена для соєвих бобів. Результати цього дослідження були опубліковані в 1930 р. і засвідчували збільшення щитоподібної залози в щурів у разі годування їх соєю. Вивчення і встановлення впливу соєвих продуктів на тиреоїдну функцію у тварин спричинили потребу у вивченні можливих ефектів ізофлавонової сої на щитоподібну залозу в людини [21].

Так, в одному з досліджень було встановлено, що вживання пременопаузальними жінками 128 мг ізофлавонової сої на добу знижувало концентрацію T_3 ($p = 0.02$). Проте впливу на рівень загального або вільного T_4 і тиреоїдстимулювального гормону не визначалося, що свідчить про відсутність фізіологічної важливості одержаних результатів дослідження [22].

У подвійному сліпому дослідженні постменопаузальних жінок із дієтою, доповненою соєвим протеїном (56 мг або 90 мг ізофлавонової сої / добу протягом 6 місяців), було зафіксовано збільшення концентрації T_4 в групі, яка отримувала 56 мг/добу ($p < 0.05$), і збільшення концентрації T_3 ($p = 0.03$) і тиреоїдстимулювального гормону ($p = 0.01$) у групі, яка отримувала 90 мг/добу, порівнюючи з контрольними групами відповідно. Автори дослідження припускають, що ізофлавонової сої можуть впливати на рівень гормонів щитоподібної залози, проте незначний рівень цієї зміни не надає проведеним дослідженням клінічного значення [23].

Зважаючи на потенційно можливу взаємодію між фітоестрогенами й щитоподібною залозою, існує вірогідність впливу дієти, збагаченої фітоестрогенами, або відповідних продуктів на зниження функції цієї залози.

Вплив фітоестрогенів на ЦНС й імунну систему

Естрогени є активними в деяких ділянках головного й спинного мозку, де вони можуть впливати на поведінку, рухливість, когнітивну функцію, больову чутливість і проявляти захисний ефект проти розвитку нейродегенеративних захворювань [24].

Результати деяких досліджень із визначення впливу фітоестрогенів на поведінку гризунів

дозволили припустити можливість зміни їхньої статевий поведінки під дією ізофлавонової дієти, а саме — зниження активності під час спарювання (самиці) і покращення (самиці) або погіршення (самці) візуально-просторової пам'яті. Крім того, дослідження продемонстрували здатність ізофлавонової сої змінювати структуру (об'єм) статевих диморфних ядер преоптичної зони — зони мозку гризунів, що контролює їхню статеву поведінку. Проте відсутність чітко визначеного еквівалента між статевими диморфними ядрами преоптичної зони гризунів і людини, що пов'язана із суттєво різною структурою гіпоталамуса, не дозволяє зробити подібні висновки стосовно до людини [8, 25].

Низка досліджень щодо впливу фітоестрогенів (ізофлавонової сої) на когнітивну функцію в людей демонструє деяку розбіжність результатів. Так, у результаті одного довготривалого дослідження було встановлено слабкий зв'язок між споживанням соєвих продуктів як обов'язкової складової раціону й когнітивними порушеннями [26].

Відомо, що статеві гормони здатні суттєво впливати на імунну систему й цілісність імунної функції. Як приклад, безпосередній вплив естрадіолу на розвиток лімфоїдної тканини й діяльність різних клітинних векторів імунної функції. Загалом жіночий організм демонструє більш агресивну імунну відповідь, як порівняти з чоловічим. Особливість цих гендерних відмінностей полягає в тому, що в багатьох випадках аутоімунні захворювання є більш характерними саме для жіночої статі [17, 27].

Низка проведених досліджень на тваринах стосовно впливу фітоестрогенів на імунну функцію дала суперечливі результати, зафіксувавши як стимулюючі, так і супресорні або взагалі відсутні ефекти на імунну систему. Тому актуальність цих досліджень стосовно здоров'я людини є невизначеною [18].

Аналіз досліджень впливу фітоестрогенів на імунну систему людини також має розбіжні результати. Так, одні дослідники демонструють негативний вплив соєвого харчування на імунітет малюків, а інші не визначають різниці в імунній відповіді організму при годуванні грудним молоком і при соєвому харчуванні. Рандомізоване перехресне дослідження впливу соєвої дієти на імунну функцію дорослих людей (23 чоловіки, 18 постменопаузальних жінок) зафіксувало підвищення концентрації інтерлейкіну-6 порівнюючи з контрольною групою лише в жіночій групі [11, 28].

Застосування фітоестрогенів у разі остеопорозу

Як і менопаузальний синдром, синдром остеопорозу пов'язаний зі зменшенням продукування гонадних стероїдів. Дефіцит естрогенів призводить до збільшення числа факторів, які сприяють утворенню остеокластів і резорбції кісткової тканини. Впливаючи на кісткові клітини, естрогени знижують чутливість кісткової тканини до резорбтивної дії паратгормону, блокують вивільнення інтерлейкіну-1 й інших цитокінів, які є потужними агентами резорбції кістки або напряду модулюють активність остеобластів [29].

Естрогенні ефекти фітоестрогенів передбачають їх використання для попередження резорбції та підвищення щільності кісткової тканини. У низці досліджень *in vitro* продемонстровано, що куместрол інгібував резорбцію та стимулював мінералізацію кістки, а геністеїн проявляв естрогеноподібний ефект у збереженні кісткової трабекулярної тканини. Дослідження, проведені на гризунах, послідовно засвідчили, що фітоестрогени відіграють сприятливу роль у попередженні втрати кісткової маси після оваріектомії, а ізофлавоної сої разом з іншими фітоестрогенами є ефективними протекторами кісток у моделях остеопорозу [8, 30, 31].

Встановлено, що іприфлавонон, який є основним компонентом препарату «Остеохін» (Sanofi, Франція), метаболізує в даїдзєїні, попереджує втрату кісткової маси в пацієнтів з остеопорозом. Вважають, що механізм остеотропної дії даїдзєїну полягає в його прямому впливі на остеобласти шляхом стимуляції експресії лужної фосфатази, синтезу колагену й клітинної проліферації.

Лімітована кількість проведених епідеміологічних досліджень зв'язку між вживанням жінками фітоестрогенів й остеопорозу свідчить про позитивний вплив фітоестрогенів на мінеральну щільність кісток [31].

Стан кісток у пре- й перипубертатному періоді є головним визначальним фактором остеопорозу в пізній фазі життя. Прикладом цього може бути різний характер і частота випадків остеопорозу й переломів шийки стегна, що спостерігається в популяції з традиційно високим вмістом сої в раціоні. Проте проведені інтервенційні дослідження в періоді статевої зрілості були короткотривалі й не розглядали можливого впливу вживання фітоестрогенів на ранніх стадіях життя на перспективну захисну функцію в пізніх періодах [29].

Вплив фітоестрогенів на серцево-судинну систему

Відомо, що в жінок концентрація ліпопротеїнів у крові корелює з функцією яєчників і під час менопаузи підвищується холестерин ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ) і знижується холестерин високої густини (ЛПВГ), що збільшує ризик розвитку уражень серцево-судинної системи [32]. Так само в експериментах на щурах продемонстровано, що видалення яєчників і дефіцит естрогенів, що виникає в цьому разі, викликає порушення мікроструктури міокарда й аорти з переважанням набряклості й лімітуванням цих порушень ГЗТ. Крім того, приймання естрогенів призводить до зниження холестерину ЛПНГ і підвищення холестерину ЛПВГ, що знижує ризик кардіоваскулярних порушень. Фітоестрогени є селективними модуляторами рецепторів естрогенів і проявляють схожу дію на метаболізм ліпідів [33, 34, 35].

Механізм вазо- й кардіопротекторної дії фітоестрогенів пов'язаний з їх впливом на активність тромбоцитів. Встановлено, що геністеїн гальмує агрегацію тромбоцитів, індуковану тромбіном, а також викликане їм підвищення вільних іонів Ca^{2+} у цитозі тромбоцитів. Аналогічна гальмівна дія на стимуляцію тромбоцитів тромбіном встановлена для даїдзєїну, апігеніну, глікозиду геністеїну й ресвератролу. Крім того, геністеїн здатний гальмувати агрегацію тромбоцитів, викликану хемокіном, що може пояснювати його гальмівну дію на виникнення атеросклеротичних уражень судин [17, 36, 37].

Вплив фітоестрогенів на розвиток гормонозалежних пухлин

Естрогени за певних умов здатні стимулювати ріст доброякісних і злоякісних гормонозалежних пухлин [38].

Так, розвиток раку молочної залози значною мірою залежить від гормонів, пов'язаних із функцією яєчників. І, власне, гормональні порушення в періоді пременопаузи або пубертатному періоді можуть обумовлювати постменопаузальний розвиток раку цієї залози. До цих гормонозалежних факторів ризику належать раннє менархе, пізня менопауза, відстрочений вік першої вагітності й підвищена концентрація вільного естрадіолу в постменопаузальних жінок [39, 40].

Низка епідеміологічних досліджень щодо впливу соєвої дієти на рак молочної залози підтверджує захисні властивості цих продуктів. Дослідження, які проводили з використанням біомаркерів, також зафіксували відповідну

канцеропротекторну дію лігнінів й ізофлаво-нів [40, 41, 42].

Роль ЕР α у передаванні проліферативної від-повіді клітин раку молочної залози фітоестро-генами підтверджено *in vitro* дослідженнями геністеїну на клітинах лінії MFC-7, одержаних із пухлини молочної залози людини. Показано, що геністеїн трансактивує ген-репортер люци-ферази, сполучений з ЕР α лігандз'єднувальним доменом. Іншим доказом дії геністеїну через ме-ханізм естрогенового рецептора є його вплив на експресію естрогенчутливого гена pS2 в куль-турі клітин MFC-7. Згідно з одержаними дани-ми, геністеїн у концентрації 1-10 мкМ збільшує експресію pS2 іРНК. Загалом, залежно від типу клітин і величини концентрації, фітоестрогени здатні інгібувати й/або стимулювати клітинну проліферацію [41, 42].

Рак ендометрію обумовлюється схожими гормональними факторами ризику, як і для ра-ку молочної залози. Дослідження за методом «випадок — контроль» демонструють, що ком-біновані оральні контрацептиви проявляють захисну функцію проти раку ендометрію. Од-нак існують тверді докази того, що моноестро-гензамісна терапія сприяє підвищенню ризику розвитку раку ендометрію [40].

Вплив фітоестрогенів на проліферативні про-цеси в ендометрії можна розглянути на прикладі проспективного плацебоконтрольованого дослі-дження мостменопаузальних жінок. Щоденне приймання 100 мг ізофлавоноїдів або плацебо протягом 6 місяців не спричинило стимуляції проліферації ендометрію [38].

Дослідження впливу фізіологічних кон-центрацій (0.1-10 рМ) геністеїну й даїдзеїну на клітинні лінії раку яєчників людини визна-чили дозозалежне зниження клітинної пролі-ферації ($p < 0.001$) і клітинної життєздатності ($p < 0.01$). Концентрація інтерлейкіну-6 була знижена, тоді як концентрація трансформу-вального фактора росту — $\beta 1$ (TGF-1) — бу-ла значно підвищена ($p < 0.05$). Модулюючий ефект обох ізофлавоноїдів на ці цитокіни зникав під дією антагоніста ЕР, тому припускають, що ЕР є потрібною складовою для досягнення за-значених ефектів [34, 37].

Отже, за останні роки уявлення про ефекти фітоестрогенів зазнало значних змін. Накопи-чена база експериментальних і клінічних да-них свідчить про наявність широкого спектра біологічних ефектів фітоестрогенів в організмі людини. Завдяки протипухлинній, антирезорб-тивній і гіполіпідемічній активності фітоестро-гени можуть застосовуватись у ревматології, кардіології й онкології. Крім того, препарати

геністеїну розглядаються як перспективні за-соби в гінекології в пацієток у перименопау-зальному періоді, також вони можуть уповіль-нювати процеси старіння шкіри.

Проявляючи різновекторні фармакологічні ефекти до ендогенних естрогенів, фітоестроге-ни обґрунтовано можна розглядати як активні інгредієнти лікарських засобів для лікування розладів, пов'язаних із віковими змінами жіно-чого організму. Особливу увагу водночас слід приділяти й можливим негативним реакціям, що можуть виникнути внаслідок вживання фі-тоестрогенів.

ЛІТЕРАТУРА

1. McEwen BS. Clinical review 108: The molecular and neuroanatomical basis for estrogen effects in the central nervous system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84:1790-1797.
2. Cardiovascular risk in women with premature ovarian insufficiency compared to premenopausal women at middle age / N. M. Daan et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016. Vol. 101, № 9. P. 3306-3315.
3. Sexuality and the menopause / L. Dennerstein et al. *J. Psychosom. Obstet. Gynecol.* 2009. Vol. 15. P. 59–66.
4. Ботоева Е. А. К вопросу о фитоэстрогенах (обзор литературы). *Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра.* 2010. № 2. С. 234-238.
5. Сметник В. П. Климактерические расстройства и методы их коррекции. *Consilium medicum.* 2007. Т. 9, № 6. С. 65-70.
6. Зайдиёва Я. З. Балан В. Е. Применение фитоэстрогенов для лечения гипоестрогенных состояний. *РМЖ.* 2000. № 3. С. 157-163.
7. Коренева Е. М. Фитоэстрогены. Влияние на репродуктивную систему. *Пробл. эндокрин. патологии.* 2007. № 3. С. 87-95.
8. Mei J., Yeung SS, Kung AW. High dietary phytoestrogen intake is associated with higher bone mineral density in postmenopausal but not premenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86:5217-5221.
9. Соколов С. Я. Фармакотерапия и фитотерапия: руководство для врачей. Москва: Медицина, 2000. 240 с.
10. Albert A., Altabre C., Baro F., Buendia E. Efficacy and safety of a phytoestrogen preparation derived from Glycine max (L.) Merr in climacteric symptomology: a multicentric, open, prospective and non-randomized trial. *Phytomedicine.* 2002, 9:85-92.
11. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability / D. C. Vitale et al. *Eur. J. Drug Metabol. and Pharmacokinet.* 2013. Vol. 38. № 1. P. 15-25.
12. Зузук Б. М. Куцик Р. В. Хмель вьющийся (син. хмель обыкновенный). *Провизор.* 2004. № 13. С. 13-14.
13. Тагиева А. В. Фитотерапия в гинекологии. *Гинекология.* 2004. № 5, Т. 6. С. 219-222.
14. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications / R. J. Nijveldt et al. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001. Vol. 74. P. 418-425.
15. Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women / Duncan AM et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84:192-197.
16. Brincat M. P., Baron Y. M., Galea R. Estrogens and the skin. *Climacteric.* 2005. Vol. 8. P. 110-123.
17. Balk JL, Whiteside DA, Naus G., DeFerrari E., Roberts JM. A pilot study of the effects of phytoestrogen supplementation on postmenopausal endometrium. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2002, 9:238-242.
18. Immune status of infants fed soy-based formulas with or without added nucleotides for 1 year: part 2: immune cell

- populations / Cordle CT et al. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2002, 34:145-153.
19. A randomized isoflavone intervention among premenopausal women / Maskarinec G. et al. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002; 11:195-201.
20. Exposure to soy-based formula in infancy and endocrinological and reproductive outcomes in young adulthood / Strom BL et al. *JAMA.* 2001, 286:807-814.
21. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women / Nestel P. J. et al. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol.* 1997. V. 17. № 12. P. 3392-3398.
22. T. C. Okeke, U. B. Anyaehie, C. C. Ezenyeaku. Premature menopause. *Ann. med. health sciences research.* 2013. Vol. 3, № 1. P. 90-95.
23. Schnatz P. F., Banever A. E., Greene J. F. Menopausal symptoms in clinical population: a pilot study. *Menopause.* 2005. Vol. 12, № 5. P. 623-629.
24. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States / Jacobson DL et al. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1997, 84:223-243.
25. Immune status of infants fed soy-based formulas with or without added nucleotides for 1 year: part 1: vaccine responses, and morbidity / Ostrom KM et al. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2002, 34:137-144.
26. Visual spatial memory is enhanced in female rats / Lund TD et al. *BMC Neurosci.* 2001, 2:1-13.
27. Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J. Comp. Neurol.* 1997, 388:507-525.
28. Morabito N., Crisafulli A., Vergara C. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomised double-blind placebo-controlled study. *J. Bone Min. Res.* 2002, 17:1904-1912.
29. Ito M., Nashida A., Uetani M., Hayashi K. Osteoporosis in the Japanese population. *Sem. Musculoskel. Radiol.* 2001, 5:121-126.
30. Manolagas S. C. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocrine reviews.* 2010. Vol. 31, № 3. C. 266-300.
31. Osteoarthritis associated with estrogen deficiency / J. A. Roman-Blas et al. *Arthritis research & therapy.* 2009. Vol. 11, № 5. P. 1-14.
32. Abi-Younes, Sauty A., Mach F. et al. The stromal cell-derived factor-1 chemokine is a potent platelet agonist highly expressed in atherosclerotic plaques. *Circ. Res.* 2000. V. 86. № 2. P. 131-138.
33. Berthezene F. Oestrogenes et metabolisme des lipoproteins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1988. V. 66. P. 140-146.
34. Genistein modulates immune responses and increases host resistance to B16F10 tumor in adult female B6C3F1 mice / Guo TL et al. *J. Nutr.* 2001, 131:3251-3258.
35. Difference in effective dosage of genistein on bone and uterus in ovariectomized mice / Ishimi Y. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000, 274:697-701.
36. Liu W., Song Z. L., Liang N. C. Effects of genistein on aggregation and cytosolic free calcium in pig platelets. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao.* 1998. V. 19. № 6. P. 450-542.
37. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats / Picherit C. et al. *J. Nutr.* 2000, 130:1675-1681.
38. Chen X., Anderson JJB. Isoflavones inhibit proliferation of ovarian cancer cells *in vitro* via and estrogen receptor-dependent pathway. *Nutr. Cancer.* 2001, 41:165-171.
39. Estrogen receptor (ER) and ER-related receptor expression in normal and atrophic human vagina / A. Cavallini et al. *Maturitas.* 2008. Vol. 59, № 3. C. 219-225.
40. Fishman J., Osborne M. P., Telang NT. The role of estrogen in mammary carcinogenesis. *Ann. NY Acad. Sci.* 1995, 768, 91-100.
41. Estrogenic effects on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells *in vitro* and *in vivo* / Hsieh CY et al. *Cancer Res.* 1998, 58:3833-3838.
42. Estrogen receptor alpha mediates the proliferative but not the cytotoxic dose-dependent effects of two major phytoestrogens on human breast cancer cells / Maggiolini M. et al. *Mol. Pharmacol.* 2001, 60:595-602.
- Владимирова Інна Миколаївна.** Д-р фарм. наук, доцент кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету. ORCID iD: 0000-0002-6584-4840.
- Vladymyrova Inna Mykolaivna.** Sc. D. in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy at National University of Pharmacy. ORCID iD: 0000-0002-6584-4840.
- Владимирова Інна Николаевна.** Д-р фарм. наук, доцент кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету. ORCID iD: 0000-0002-6584-4840.
- Шумова Ганна Сергіївна.** Канд. фарм. наук, асистент кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця. ORCID iD: 0000-0002-0860-2220.
- Shumova Hanna Serhiivna.** Ph. D. in Pharmaceutical Sciences, Assistant Professor of the Department of Pharmaceutical, Biological and Toxicological Chemistry at Bogomolets National Medical University. ORCID iD: 0000-0002-0860-2220.
- Шумова Анна Сергеевна.** Канд. фарм. наук, ассистент кафедры фармацевтической, биологической и токсикологической химии Национального медицинского университета им. А. А. Богомольца. ORCID iD: 0000-0002-0860-2220.



XI МІЖНАРОДНА ВИСТАВКА PHARMATECHEXPO

ОБЛАДНАННЯ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ



II МІЖНАРОДНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ КОНГРЕС

19–21 жовтня 2021 року

УВАГА! НОВЕ МІСЦЕ ПРОВЕДЕННЯ



**Виставковий Центр «КиївЕкспоПлаза»
Київська область, с. Березівка, вул. Амстердамська, 1**

За підтримки:



• Міністерства охорони здоров'я України
• Державної служби України з лікарських засобів і контролю за наркотиками

• ДП «Державний експертний центр МОЗ України»
• ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

• Національної академії медичних наук України
• ДП «Український фармацевтичний інститут якості»

Організатори:



Співорганізатор виставки
PHARMAtechEXPO:



Партнер виставки
«Упаковка та Маркування»:



Офіційне видання
виставки:



**МІЖНАРОДНА СПЕЦІАЛІЗОВАНА ВИСТАВКА
«УПАКОВКА ТА МАРКУВАННЯ»**



**МІЖНАРОДНА СПЕЦІАЛІЗОВАНА ВИСТАВКА
ТЕХНОЛОГІЇ «ЧИСТИХ ПРИМІЩЕНЬ»**

З питань участі у виставках:

+38 (067) 647-67-06
+38 (099) 532-40-35
pharm@lmt.kiev.ua



З питань участі у Конгресі:

+38 (067) 427-38-86
marketing@pharmatechexpo.com.ua

WWW.PHARMATECHEXPO.COM.UA

ISSN 2414-9195



9 772414 1919001

17