

# Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2015

*О. А. Матвеева, Е. Л. Ковалева*

## СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ СОДЕРЖАНИЯ ГЕНОТОКСИЧНЫХ ПРИМЕСЕЙ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ (ОБЗОР)

ФГБУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения" Минздрава России, Россия, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8; e-mail: matveeva@exppmed.ru

В обзоре рассматриваются международные подходы к оценке содержания генотоксичных примесей (органических растворителей, неорганических и органических примесей) в лекарственных средствах. Проведен сравнительный анализ зарубежных и отечественных нормативных документов, определяющих требования к классификации, контролю и токсикологической оценке риска потенциальных генотоксичных примесей в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Обосновано использование высокочувствительных и специфичных методов анализа для обнаружения генотоксичных примесей в лекарственных средствах. Показана необходимость совершенствования отечественной нормативной базы по контролю генотоксичных элементных примесей (тяжелых металлов) и подготовки методических материалов по оценке органических примесей, обладающих генотоксичным потенциалом, в лекарственных средствах.

**Ключевые слова:** генотоксичные примеси; лекарственные средства; порог токсикологической угрозы (ТТС).

В последние годы за рубежом большое внимание уделяется определению и нормированию генотоксичных (мутагенных) примесей в лекарственных средствах (ЛС), которые оказывают крайне негативное влияние на здоровье человека, так как даже в незначительных (в концентрации 1 ppm) количествах могут инициировать генетические мутации, хромосомные разрывы, перестройку хромосом и способны провоцировать возникновение онкологических заболеваний [1]. К проявлению генотоксичности следует отнести любые повреждения молекулы ДНК (включая мутагенность) и связанные с ней повреждения клеточных компонентов (например, веретена деления) или ферментов (например, топоизомеразы) [2], которые вызывают изменения в генетическом материале соматических клеток (мутации передаются от одного поколения клеток к другому) и зародышевых клеток (мутации передаются к потомству пострадавших лиц) [3]. Повреждения молекулы ДНК приводят к таким явлениям, как канцерогенез, мутагенез, тератогенез и цитотоксичность. Медицинскими последствиями мутаций в зародышевых клетках являются наследственные болезни, мутаций в зародышевых и соматических клетках — злокачественные новообразования, старение клеток и нарушение иммунитета. Генотоксичные поражения эмбриональных и зародышевых клеток вызывают врожденные пороки развития, бесплодие и спонтанные аборт [4]. Контроль и мониторинг генотоксичных примесей в лекарственных средствах (ЛС) является важнейшим вопросом при разработке и про-

изводстве лекарственных препаратов (ЛП) и фармацевтических субстанций.

Химические примеси, в том числе генотоксичные, в фармацевтических субстанциях и ЛП можно разделить на следующие группы: остаточные органические растворители, неорганические примеси и органические примеси.

Органические растворители могут использоваться в процессе синтеза фармацевтических субстанций и на стадии их очистки, а также при производстве ЛП. В ряде случаев возможно образование органических растворителей при синтезе фармацевтических субстанций.

В ГФ XII включена ОФС 42-0057-07 "Остаточные органические растворители", в которой классификация и требования по контролю остаточных количеств органических растворителей приведены в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи (ЕФ) и Фармакопеи США (ФСША) и определяются степенью их возможного риска для здоровья человека [5 – 7]. Генотоксичные (канцерогенные) растворители отнесены к высокотоксичным растворителям 1 класса, которые могут применяться в фармацевтическом производстве в исключительных случаях, когда нельзя избежать их использования (бензол, 1,1-дихлорэтан, 1,2-дихлорэтан, 1,1,1-трихлорэтан, четыреххлористый углерод) [5]. Требования к контролю и нормированию высокотоксичных растворителей 1 класса в РФ соответствуют международным.

Источниками неорганических примесей являются используемые в химическом синтезе сильные кислоты и основания, катализаторы, исходное сырье, реактивы, остатки фильтрующих материалов, конструкционные элементы аппаратуры, содержащие металлы [8]. Наиболее часто встречающимися примесями в фармацевтических субстанциях являются катионы металлов. Показатель “Тяжелые металлы” вводят для ограничения содержания свинца, ртути, висмута, сурьмы и других металлов, оказывающих токсическое действие. Согласно руководству ICH (International Conference on Harmonisation, Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для использования у человека) Q3D (“Guideline for Elemental Impurities, Q3D” Руководство по элементам примесей) к генотоксичным металлам относятся мышьяк, кадмий, никель, родий, рутений и ванадий [9]. В ГФ XII для определения тяжелых металлов (свинца, ртути, висмута, сурьмы, олова, кадмия, серебра, меди, молибдена, ванадия, рутения, платины и палладия) предусмотрено использование неспецифичных методов, основанных на образовании окрашенных сульфидов (реакции осаждения), с установлением нормы “не более 0,001 %” [5]. В ЕФ, ФСША, руководстве ICH Q3D предлагается иной подход — при установлении нормы учитывается допустимая суточная доза для отдельных металлов и способ применения ЛП [6, 7, 9]. Предполагается для определения элементных примесей использование специфичных методов с применением оптической эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой (монография ФСША <233> “Примеси элементов — методики”) [7]. Из ФСША 38 издания исключена статья <231> “Тяжелые металлы (реакции осаждения)”, использующая неспецифичные методы анализа [7].

В настоящее время в РФ применяется неспецифический метод оценки тяжелых металлов, что не позволяет гарантировать уровень безопасности ЛС в соответствии с современными международными подходами.

В ЛС источниками органических генотоксичных примесей являются исходные материалы, побочные продукты, промежуточные продукты, продукты деградации и реагенты.

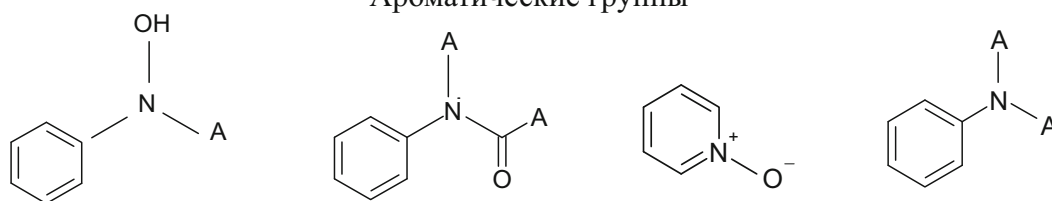
За рубежом до 2000 г. не было специальных документов по контролю органических генотоксичных примесей в ЛС, в руководствах ICH приводились лишь упоминания о соединениях с необычной токсичностью [10]. В руководствах ICH “Примеси в новых лекарственных субстанциях, Q3A” (Impurities in New Drug Substances, Q3A) и “Примеси в новых лекарственных препаратах, Q3B” (Impurities in New Drug Products, Q3B) приводились пороговые значения для идентификации, регистрации и квалификации органических примесей [11, 12]. Испытания, которые применялись для квалификации примесей, включали тесты

по определению генотоксичности примесей: как минимум тест на индукцию генных мутаций и тест на индукцию хромосомных аббераций (оба исследования должны проводиться *in vitro*). Хотя в руководствах ICH и были представлены рекомендации относительно видов исследований, которые следует проводить, в них отсутствовали конкретные указания, что необходимо предпринимать в случае, если оба исследования генотоксичности оказывались положительными; рекомендации ограничивались лишь утверждением о необходимости проведения дополнительных исследований, устранением примесей или снижением их содержания до безопасного уровня, значение которого не было приведено.

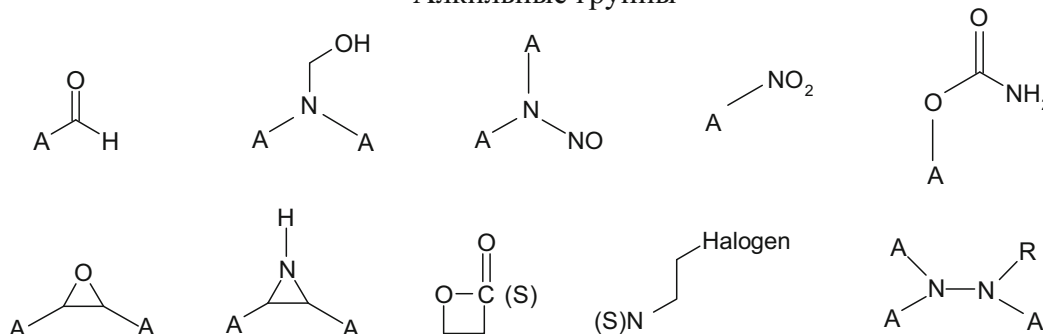
В связи со сложившейся ситуацией потребовалась разработка нормативных документов, определяющих подходы к контролю генотоксичных примесей в ЛС. ЕМА (The European Medicines Agency — Европейское агентство по лекарственным препаратам) было одним из первых регуляторных органов, разработавших основные принципы для оценки генотоксичных примесей в ЛС. В соответствии с руководством ЕМА по нормированию содержания генотоксичных примесей (Guideline on the limits of genotoxic impurities) примеси рекомендуются разделить на 2 класса: “генотоксичные соединения с достаточным (экспериментальным) подтверждением наличия пороговых механизмов” и “генотоксичные соединения без достаточного (экспериментального) подтверждения наличия пороговых механизмов” [13].

Генотоксичные примеси 1 класса оцениваются в соответствии с принципами, описанными в руководстве ICH “Примеси: руководство по остаточным растворителям” (Impurities: Guideline for Residual Solvents, Q3C) [14] для растворителей 2 класса токсичности, т. е. с учетом “допустимой суточной дозы” (PDE, Permissible Daily Exposure), рассчитанной исходя из значения NOEL (No-Observed-Effect-Level, максимальная доза препарата, не оказывающая эффекта) или значения LOEL (Lowest Observed Effect Level, минимальная доза препарата, оказывающая эффект). Для оценки генотоксичных примесей 2 класса предложено использовать принцип ALARP (As Low As Reasonably Practicable, “практически достижимый низкий уровень”). Согласно принципу ALARP, должны предприниматься все возможные меры, чтобы избежать образования в процессе синтеза фармацевтической субстанции генотоксичных примесей. Если это невозможно, необходимо предпринять технические усилия по удалению данных примесей в процессе производства (например, на стадии очистки). Поскольку полное устранение примесей из фармацевтической субстанции часто бывает недостижимым, в руководстве ЕМА для контроля генотоксичных примесей введено использование подхода, основанного на пороге токсикологической угрозы (Threshold of Toxicological Concern — TTC). Для большинства ЛС значение TTC,

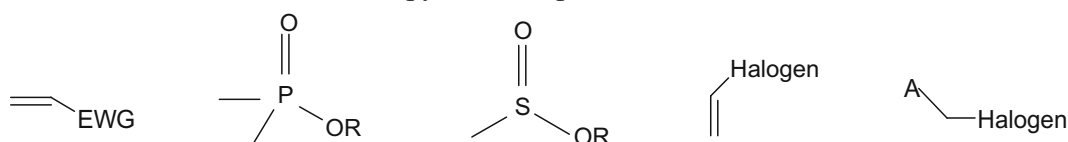
### Ароматические группы



### Алкильные группы



### Группы гетероатомов



Радикалы: A = алкил, арил или H

Halogen (галоген) = F, Cl, Br, I

EWG (electron-withdrawing group) = Акцепторные группы (CN,

C=O, сложные эфиры и др.)

Функциональные группы, обладающие мутагенным действием.

равное 1,5 мкг/сут потребления генотоксичной примеси, рассматривается в качестве допустимого риска (дополнительный риск развития рака < 1 случая на 100 000 пациентов). Исключением являются генотоксичные примеси, содержащие структурные группы, для которых была установлена необычайно высокая активность, что значительно повышает канцерогенный риск даже в дозах, не превышающих ТТС [13]. К данной группе сильнодействующих мутагенных канцерогенов относятся афлатоксиноподобные, N-нитрозо- и азоксисоединения, к которым правила использования ТТС не применяются [15].

К потенциальным генотоксичным (канцерогенным) соединениям относятся вещества, содержащие “известные” функциональные группы (ароматические, алкильные, группы гетероатомов), которые могут взаимодействовать с молекулой ДНК, повреждая ее. Примеры функциональных групп, обладающих мутагенным действием на молекулу ДНК, приведены на рисунке (данный список не является исчерпывающим) [16].

Ассоциацией разработчиков и производителей лекарственных препаратов (PhRMA, Pharmaceutical Research and Manufacturers of America) в 2004 г. была сформирована рабочая группа для обсуждения вопро-

сов по определению, классификации, контролю и токсикологической оценке риска потенциальных генотоксичных примесей в ЛС [16].

PhRMA представила 2 инновационные концепции [16]. Была предложена классификация примесей с выделением 5 классов:

1 класс — примеси, являющиеся известными генотоксичными соединениями с установленным канцерогенным потенциалом. Группа включает известные канцерогены животных с доказанным генотоксичным механизмом, и канцерогены человека.

2 класс — примеси, являющиеся известными генотоксичными соединениями с неустановленным канцерогенным потенциалом. В данную группу входят примеси с продемонстрированной мутагенностью в тестах на генотоксичность, например, положительная проба на мутагенность в испытаниях на бактериях или другие положительные данные по мутагенности, указывающие на химическую активность, характерную для генных мутаций в ДНК (например, признаки генной мутации в условиях *in vivo*).

3 класс — примеси со структурой, содержащей функциональные группы, приведенные на рисунке, не

родственные структуре фармацевтической субстанции, для которых данные о мутагенности отсутствуют.

4 класс — примеси со структурой, содержащей функциональные группы, приведенные на рисунке, аналогичные структуре фармацевтической субстанции, прошедшей исследование на генотоксичность и не признанной мутагенной.

5 класс — примеси с обычной структурой или структурой, приведенной в классах 3 и 4, для которых доказано отсутствие мутагенных свойств. Примеси, входящие в данную группу, должны рассматриваться как обычные органические примеси в соответствии с руководствами ICH Q3A и ICH Q3B.

На основе приведенной системы классификации примесей была предложена стратегия по оценке генотоксичных примесей в ЛС.

Установлено, что значение ТТС может быть изменено в зависимости от режима дозирования и продолжительности клинических исследований ЛС (так называемая “поэтапная концепция ТТС”). При применении ЛС в высоких дозах должно быть установлено более низкое значение ТТС для примесей и, наоборот, может быть установлено более высокое значение ТТС для примесей, если ЛС применяется непродолжительное время [16]. Такой подход к оценке генотоксичных примесей является оправданным, поскольку клинические исследования проводятся с установленным режимом дозирования и общее время воздействия непродолжительно. “Поэтапная концепция ТТС” должна применяться на всех стадиях разработки ЛС и для каждого соединения по отдельности в тех случаях, когда в ЛС присутствует несколько генотоксичных примесей. В дальнейшем “поэтапная концепция ТТС” была включена в руководства EMA, FDA (Food and Drug Administration — Управление по контролю за продуктами и лекарствами, США) и ICH.

Повышенный интерес к изучению органических генотоксичных примесей возник в 2007 г. после резонансного события, связанного с обнаружением в некоторых сериях ЛП “Вирасепт” (нелфинавир) производства “Ф. Хоффманн Ля Рош Лтд” (Швейцария) генотоксичной примеси этилового эфира метансуль-

фоновой кислоты (этилмезилата), обладающей мутагенным и тератогенным эффектами [17]. Появление этилмезилата в образцах ЛП было связано с нарушением правил надлежащей производственной практики производства фармацевтической субстанции нелфинавира мезилата [18]. Компанией “Рош Регистрейшен Лтд” было принято решение о полном отзыве из обращения всех серий ЛП “Вирасепт” (нелфинавир) из всех стран мира. В РФ государственная регистрация ЛП “Вирасепт, порошок для приема внутрь 50 мг/г” и “Вирасепт, таблетки, покрытые оболочкой 250 мг” была приостановлена (в связи с обнаружением в их составе генотоксичных примесей) до завершения необходимых исследований и внесения изменений в регистрационную документацию (приказ Росздравнадзора от 28.06.2007 № 1330-Пр/07). Было дано соответствующее распоряжение Управлению организации госконтроля в сфере обращения медицинской продукции с предложением организовать в установленном порядке изъятие из обращения и уничтожение образцов данных ЛП. По данным компании, до отзыва ЛП с российского рынка их принимали 1500 ВИЧ-инфицированных, в том числе 300 беременных женщин и 210 детей [19]. Поскольку фармацевтическая компания “Рош” входит в пятерку крупнейших компаний мира в области фармацевтики, данный случай способствовал активизации обсуждения вопроса об определении допустимого уровня содержания примесей с генотоксичными свойствами в ЛС.

FDA в конце 2008 г. был опубликован проект руководства для производителей “Генотоксичные и канцерогенные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах: Рекомендуемые подходы” (Draft Guidance for Industry, Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended Approaches) [20]. В проекте руководства описаны способы квалификации генотоксичных и канцерогенных примесей и сокращения потенциального прижизненного риска при их воздействии на организм пациента. Рекомендуемые подходы к контролю и оценке риска генотоксичных и канцерогенных примесей в ЛС включают:

изменение путей синтеза и/или очистки ЛС с целью сокращения образования генотоксичных примесей или их максимального устранения;

установление для генотоксичных примесей максимального уровня суточного воздействия, равного 1,5 мкг;

дополнительную характеристику генотоксического и канцерогенного рисков.

Требования к допустимым пороговым значениям, устанавливаемым PhRMA, FDA и EMA, для генотоксичных и канцерогенных примесей в ЛС при проведении клинических исследований могут различаться (табл. 1) [21].

С целью гармонизации требований, предъявляемых к контролю и оценке риска органических генотоксич-

Таблица 1  
Допустимые пороговые значения, устанавливаемые PhRMA, FDA и EMA, для генотоксичных и канцерогенных примесей

Длительность воздействия при проведении клинических исследований	Пороговое значение генотоксичных примесей, мкг/день		
	PhRMA	FDA	EMA
Однократная доза	120	120	120
< 14 дней	120	60	120
От 14 дней до 1 мес	120	60	60
От 1 до 3 мес	40	20	20
От 3 до 6 мес	20	10	10
От 6 до 12 мес	10	5	5
> 12 мес	1,5	1,5	1,5

ных примесей в ЛС, ICH было разработано руководство по оценке и контролю ДНК реактивных (мутагенных) примесей в ЛС для ограничения потенциального канцерогенного риска (“Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, M7”), финальная версия которого опубликована в июне 2014 г. [22]. В руководство включены классификация генотоксичных (мутагенных) примесей и указания по их оценке, предложенные PhRMA, согласно которым должен оцениваться мутагенный потенциал фактических идентифицированных примесей и потенциальных примесей, которые могут присутствовать в фармацевтической субстанции. В отличие от руководств FDA и EMA руководство ICH M7 применимо не только для оценки примесей в ЛС, которые представляются с целью регистрации и проведения клинических исследований, но и для пересмотра требований к уже зарегистрированным ЛС (например, при изменении процесса производства фармацевтических субстанций и ЛС, включении новых высокочувствительных методов анализа). В данном руководстве так же, как и в руководствах EMA и FDA, безопасной для пожизненного применения считается допустимая доза генотоксичной (мутагенной) примеси, основанная на ТТС, и составляющая 1,5 мкг в день. Приведены единые допустимые дозы для ЛС, предназначенных для клинических исследований, представляемых с целью регистрации и ранее зарегистрированных, не предназначенных для пожизненного применения, для которых возможно установление более высоких доз генотоксичных примесей (табл. 2). Дополнительно приведены допустимые дозы для ЛС, содержащих несколько генотоксичных (мутагенных) примесей (табл. 2).

В отличие от руководств EMA и FDA в руководстве ICH M7 приведено подробное описание программы действий по оценке и нормированию генотоксичных (мутагенных) примесей в ЛС и предложены меры по контролю данных примесей в ЛС [22].

Для контроля генотоксичных (мутагенных) технологических примесей в фармацевтических субстанциях предложено 4 подхода:

Вариант 1 — предусмотреть включение в спецификацию на фармацевтическую субстанцию испытания по определению содержания генотоксичных (мутагенных) примесей с установлением нормативных требований на уровне или ниже допустимого предела содержания и с использованием соответствующей аналитической методики. Возможно применение периодической проверки по определению генотоксичных примесей в субстанции, если будет доказано, что содержание генотоксичных (мутагенных) примесей в фармацевтической субстанции составляет менее 30 % от допустимого предела содержания примеси, по крайней мере, в 6 последовательных опытных или 3 последовательных промышленных сериях фармацевтической субстанции.

Вариант 2 — предусмотреть включение в спецификацию на исходное сырье или промежуточный продукт испытания по определению содержания генотоксичных (мутагенных) примесей, или предусмотреть контроль в процессе производства, установив нормативные требования на уровне или ниже допустимого предела содержания с использованием соответствующей аналитической методики.

Вариант 3 — предусмотреть включение в спецификацию на исходное сырье или промежуточный продукт испытания по определению содержания генотоксичных (мутагенных) примесей, или предусмотреть контроль в процессе производства. Нормативные требования могут быть установлены выше допустимого предела содержания примесей с использованием соответствующей аналитической методики, если будет доказано, что технологический процесс производства, стадии очистки и контроль производственных процессов обеспечивают содержание примесей на уровне допустимого предела содержания в фармацевтической субстанции, проведение дополнительных испытаний не требуется. Данный вариант применим в случае, если содержание генотоксичных (мутагенных) примесей в фармацевтической субстанции составляет менее 30 % от допустимого предела содержания примеси, что должно быть установлено по данным анализа лабораторных серий и при необходимости подтверждено данными опытных и промышленных серий.

Вариант 4 — на основании оценки технологического процесса производства и его влияния на уровень содержания остаточных примесей гарантируется уровень содержания генотоксичных примесей в фармацевтической субстанции ниже допустимого предела содержания и дополнительные аналитические исследования не требуются [22].

Руководство ICH M7 в настоящее время является основным документом, определяющим международные подходы к классификации, квалификации, контролю и токсикологической оценке риска потенциальных генотоксичных примесей в ЛС.

Определение генотоксичных примесей в ЛС является сложной задачей, поскольку данные примеси содержатся в незначительных количествах и предел их содержания может составлять менее чем 0,01 – 0,03 %.

Таблица 2  
Допустимые дозы для генотоксичных (мутагенных) примесей (руководство ICH M7)

Продолжительность лечения	Суточная доза, мкг/день	
	ЛС, содержащие	
	1 генотоксичную (мутагенную) примесь	несколько генотоксичных (мутагенных) примесей
≤ 1 мес	120	120
> 1 – 12 мес	20	60
> 1 – 10 лет	10	30
> 10 лет или пожизненно	1,5	5

Аналитическая методика должна иметь предел обнаружения примесей в диапазоне от 1 до 5 ppm (0,0001 – 0,0005 %). Анализ примесей при таких низких уровнях требует не только использования высокочувствительного аналитического оборудования, но и оборудования, обладающего высокими требованиями к селективности, поскольку в ЛС могут присутствовать в большом количестве и другие органические примеси в более низких концентрациях, например, из вспомогательных веществ. Относительно большое количество фармацевтической субстанции также может мешать определению примесей на низком уровне. Кроме того, очень трудно проанализировать все генотоксичные примеси с помощью одной аналитической методики, поскольку примеси могут содержать различные функциональные группы и иметь происхождение из разных источников. Значительная часть генотоксичных примесей, обладающих высокой реакционной способностью, легко вступает во взаимодействие с реагентами при экстракции, пробоподготовке или анализе, что может приводить к ошибочным результатам. Некоторые из генотоксичных примесей с низкой молекулярной массой являются достаточно неустойчивыми соединениями и, следовательно, могут разрушаться на стадии пробоподготовки испытуемого образца. В зависимости от природы и количества генотоксичных примесей в ЛС необходимо проводить тщательное исследование по выбору соответствующих аналитических методов (или комбинации аналитических методов) [21].

Современные аналитические методы, например, ЯМР (ядерный магнитный резонанс), применяются одновременно для установления структуры и количественного определения примесей, в том числе генотоксичных, в ЛС без использования стандартных образцов. При этом задача идентификации соединения решается напрямую путем определения состава, строения и пространственной структуры соединения, фиксируется наличие определенных структурных

фрагментов и последовательность их соединения друг с другом в молекуле [23].

Различные аналитические методы, такие как ЯМР, ВЭЖХ-УФ (высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ-детектором), ГХ-ПВД (газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором), используемые для обнаружения примесей, обладают различной чувствительностью и способны определять примеси на уровне 10 ppm [24]. Соответственно, для определения примесей в диапазоне от 1 до 5 ppm или даже меньше, необходимо повышение чувствительности аналитического оборудования, что может быть достигнуто при сочетании масс-спектрологии с другими аналитическими методами: ЖХ-МС (жидкостная хроматография с масс-спектральным детектором), ГХ-МС (газовая хроматография с масс-спектральным детектором), ИСП-МС (масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой) и т. д. Выбор подходящего аналитического оборудования зависит от типа генотоксичной примеси, которая будет проанализирована (табл. 3) [25].

Применение современных высокочувствительных и высокоспецифичных методов анализа позволило установить, что при использовании спиртов (метанола, этанола, изопропанола) для очистки фармацевтических субстанций, представляющих собой соли метансульфоновой, толуолсульфоновой и бензолсульфоновой кислот, образуются сложные эфиры: метил-, этил- и изопропилметансульфонаты; метил-, этил-, изопропилтолуолсульфонаты; метил-, этил-, изопропилбензолсульфонаты, которые являются генотоксичными примесями. В ЕФ 8.2 издания в монографии на фармацевтические субстанции, представляющие собой соли метансульфоновой кислоты (беттагистина мезилат, бромокриптин мезилат, кодергокрин мезилат, дефероксамина мезилат, дигидроэргокристин мезилат, дигидроэрготамина мезилат, доксазозин мезилат, пемфлоксацин мезилат дигидрат, перголида мезилат, фен-

Т а б л и ц а 3

**Современные аналитические методы для оценки генотоксичных примесей**

Оборудование	Область применения
ВЭЖХ	Для анализа нелетучих генотоксичных примесей
УВЭЖХ (ультравысокоэффективная жидкостная хроматография)	Для более быстрого анализа примесей
ЖХ-МС (жидкостная хроматография с масс-спектральным детектором)	Для подтверждения структуры известной примеси и предварительного установления структуры неизвестной примеси
Высокочувствительная квадрупольно времяпролетная масс-спектрометрия	Для обеспечения высокого разрешения и точности масс при определении микропримесей
Жидкостная хроматомасс-спектрометрия с тройным квадруполем	Для количественного анализа органических примесей
ГХ-МС (газовая хроматография с масс-спектральным детектором)	Для анализа галогенидов, эпоксидов, сульфонов и т. д.
Headspace ГХ-МС (газовая хроматография с парафазным анализатором и масс-спектральным детектором)	Для анализа остаточных растворителей/летучих примесей
ОЭС-ИСП (оптико-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой)	Для анализа элементных примесей, способных вызывать мутации ДНК
ЯМР	Для представления конкретной информации о стереохимическом строении молекулы и установления структуры генотоксичных примесей и продуктов разложения

толамина мезилат, саквинавира мезилат, зипрасидона мезилат тригидрат), включено определение генотоксичных примесей — метил-, этил- и изопропилметансульфонатов, также в ЕФ включены статьи с соответствующими методиками определения [6]. В журнале *Pharmeuropa* опубликованы изменения к монографиям ЕФ на фармацевтические субстанции амлодипина безилат, атракурия безилат и сультамицина тозилата дигидрат, которые предусматривают определение и нормирование метил-, этил-, изопропилбензолсульфонатов и метил-, этил-, изопропилтолуолсульфонатов, соответственно, в указанных субстанциях [26, 27].

В настоящее время в РФ отсутствуют нормативные документы и методические материалы, определяющие подходы к контролю органических генотоксичных примесей в ЛС.

В материалах регистрационных досье на ЛС некоторые заявители представляют сведения и данные по генотоксичным примесям. Так, при синтезе фармацевтической субстанции биспролола фумарата может использоваться в качестве исходного вещества эпихлоргидрин. Эпихлоргидрин — генотоксичное соединение. В Государственный реестр лекарственных средств включены 7 фармацевтических субстанций биспролола фумарата различных производителей [28]. В процессе синтеза 6 субстанций используется эпихлоргидрин. 4 производителя биспролола фумарата не представляют никаких сведений по контролю эпихлоргидрина в фармацевтических субстанциях. Один производитель контролирует остаточные количества генотоксичного соединения в промежуточном продукте, а другой производитель представляет данные по контролю эпихлоргидрина в самой субстанции (не более 2 ppm). Исходя из приведенной нормы примеси с учетом максимальной суточной дозы биспролола фумарата допустимое количество эпихлоргидрина в субстанции составляет 0,04 мкг, что соответствует допустимым дозам генотоксичных примесей в ЛС (руководство ICH M7).

Таким образом, на основании проведенного анализа установлено, что требования к контролю и нормированию генотоксичных органических растворителей в РФ соответствуют международным.

Для оценки генотоксичных элементных примесей (тяжелых металлов) в РФ применяется неспецифичный метод. Нормативные требования установлены без учета допустимой суточной дозы для отдельных металлов и способа применения ЛП, что не позволяет гарантировать уровень безопасности ЛС в соответствии с современными международными требованиями. Для включения в ГФ XIII издания подготовлена ОФС “Тяжелые металлы”, в которой предусмотрено использование селективных методов анализа (ААС, АЭС-ИСП, МС-ИСП), что является первым шагом к гармонизации с ЕФ и ФСША [29].

Поскольку в РФ отсутствуют нормативные документы по оценке органических генотоксичных приме-

сей в ЛС, для обеспечения безопасности фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, поступающих в обращение в Российской Федерации, необходима подготовка соответствующих документов и методических материалов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. T. McGovern and D. Jacobson-Kram, *Trends Anal. Chem.*, **25**(8), 790 – 795 (2006).
2. K. L. Dearfield, M. C. Cimino, N. E. McCarroll, et al., *Mutat. Res. / Genetic Toxicol. Environm. Mutagen.*, **521**, 121 – 135 (2002).
3. R. Wear and C. Sharma, *Int. J. Toxicol. Pharmacol. Res.*, **5**(1), 33 – 41 (2013).
4. А. Д. Дурнев, А. С. Лапицкая, *Экол. генетика*, **X**(3), 41 – 52 (2012).
5. *Государственная фармакопея Российской Федерации*, XII изд., Москва (2007).
6. European Pharmacopoeia. The seventh edition. Supplement 8.2. [Электронный ресурс]. URL: <http://online6.edqm.eu/ep802/>.
7. United States Pharmacopoeia, 38<sup>th</sup> edition [Электронный ресурс]. URL: <http://www.uspnf.com/uspnf/>.
8. Е. Л. Ковалева, *Стандартизация фармацевтических субстанций и препаратов в лекарственной форме “таблетки”*, Гриф и К, Москва (2012), с. 66.
9. Guideline for elemental impurities Q3D ICH Harmonised Guideline [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D\\_Step\\_4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D_Step_4.pdf).
10. R. W. Kashyap, B. Mitali, S. S. Rao, et al., *Pharm. Technol.*, **36**(3), 58 – 72 (2012).
11. Impurities in New Drug Substances Q3A(R2) ICH harmonized tripartite guideline [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3A\\_R2/Step4/Q3A\\_R2\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3A_R2/Step4/Q3A_R2_Guideline.pdf).
12. Impurities in New Drug Products Q3B(R2) ICH harmonized tripartite guideline [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3B\\_R2/Step4/Q3B\\_R2\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3B_R2/Step4/Q3B_R2_Guideline.pdf).
13. Guideline on the limits of genotoxic impurities (EMA/CHMP/QWP/251344/2006) [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500002903.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002903.pdf).
14. Impurities: Guideline for Residual Solvents, Q3C(R5) ICH harmonized tripartite guideline [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C\\_R5\\_Step4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf).
15. R. Kroes, A. G. Renwick, M. Cheeseman, et al., *Food Chemical Toxicol.*, **42**(1), 65 – 83 (2004).
16. L. Müller, R. J. Mauthe, C. M. Riley, et al., *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **44**(3), 198 – 211(2006).
17. Press Release. European Medicines Agency, EMA/275367/200 [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Press\\_release/2009/11/WC500014204.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2009/11/WC500014204.pdf).
18. Д. Полякова, *Аптека.ua online*, **699** (28), (2009) [Электронный ресурс]. URL: <http://www.apтека.ua/article/9065>.
19. [http://www.pharmvestnik.ru/publs/lenta/novosti-kompanij/3072.html#.VUyfm2zk\\_7U](http://www.pharmvestnik.ru/publs/lenta/novosti-kompanij/3072.html#.VUyfm2zk_7U).
20. Draft Guidance for Industry, Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended Approaches (CPMP/QWP/159/96 Cor.) [Электронный ресурс]. URL: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm079235.pdf>.
21. A. V. B. Reddy, J. Jaafar, K. Umar, et al., *J. Separat. Sci.*, **38**(5), 764 – 779 (2015).
22. Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, M7 ICH harmonized tripartite guideline [Электронный ре-

- супс]. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M7/M7\\_Step\\_4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M7/M7_Step_4.pdf) (дата обращения: 25.08.2014).
23. С. В. Монсеев, В. И. Крылов, Т. В. Мастеркова и др., *Ведомости ИЦЭСМП*, № 1, 15 – 19 (2014).
24. А. А. Илларионов, Л. Н. Грушевская, Л. М. Гаевая и др. *Хим.-фарм. журн.*, **48**(6), 48 – 53 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(6), 408 – 413 (2014).
25. D. Paul and K. Paul, *World J. Pharm. Pharmac. Sci.*, **4**(2), 1124 – 1153 (2015).
26. *Pharmeuropa*, 26.2, 7 – 9 (2014).
27. *Pharmeuropa*, 26.3, 206 – 207 (2014).
28. <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>.
29. <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey>

Поступила 19.05.15

## MODERN APPROACH TO ESTIMATING THE CONTENT OF GENOTOXIC IMPURITIES IN DRUGS (A REVIEW)

O. A. Matveeva\* and E. L. Kovaleva

Scientific Center for Expertise of Medical Products, Ministry of Public Health of the Russian Federation, 127051 Russia

\* e-mail: [matveeva@expmed.ru](mailto:matveeva@expmed.ru)

This review considers international approaches to assessment of the content of genotoxic impurities (residual solvents and various inorganic and organic impurities) in drugs. A comparative analysis of foreign and domestic regulatory documents defining requirements for the classification, control, and toxicological risk assessment of potential genotoxic impurities in pharmaceutical substances and drugs is performed. This analysis justifies the use of highly sensitive and specific methods of analysis for the detection of genotoxic impurities in drugs. It is shown the domestic regulatory framework for the control of genotoxic elemental impurities (heavy metals) must be improved and new guidelines on the assessment of organic impurities with genotoxic potential in drugs should be prepared.

**Keywords:** genotoxic impurities; pharmaceuticals; threshold of toxicological concern (TTC).