

УТВЕРЖДАЮ
Председатель Фармакопейного комитета
Евразийского экономического союза


_____ А.У. Тулегенова

24 сентября 2020 г.

РУКОВОДСТВО
по разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи
Евразийского экономического союза

Часть II. Радиофармацевтические лекарственные препараты

СОДЕРЖАНИЕ

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ	5
1. ЧАСТНЫЕ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ СТАТЬИ НА РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ	6
1.1. ВВЕДЕНИЕ	6
1.2. НАЗВАНИЕ ЧАСТНОЙ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ	6
1.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ	8
1.3.1. Формулы и наименования веществ	8
1.4. ПРОИЗВОДСТВО	11
1.5. СВОЙСТВА	12
1.6. ИДЕНТИФИКАЦИЯ	12
1.7. МАКСИМАЛЬНАЯ РЕКОМЕНДУЕМАЯ ДОЗА (МАКСИМАЛЬНЫЙ РЕКОМЕНДУЕМЫЙ ОБЪЕМ)	14
1.8. ИСПЫТАНИЯ	15
1.8.1. pH, кислотность или щелочность	15
1.8.2. Нерадиоактивные вещества и родственные примеси	16
1.8.3. Остаточные растворители	19
1.8.4. Физиологическое распределение	19
1.8.5. Стерильность	20
1.8.6. Бактериальные эндотоксины	20
1.9. РАДИОНУКЛИДНАЯ ЧИСТОТА	22
1.10. РАДИОХИМИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА	23
1.11. АКТИВНОСТЬ	27
1.12. ХРАНЕНИЕ	27
1.13. МАРКИРОВКА	28
1.14. ПРИМЕСИ	28
2. ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК	29
2.1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ	29
2.1.1. Типы аналитических методик, подлежащих валидации	30
2.1.2. Валидационные характеристики и требования	31
2.1.3. Термины и определения	33

2.2.	МЕТОДОЛОГИЯ	35
2.2.1.	Основные положения	36
2.2.2.	Специфичность	37
2.2.2.1.	Идентификация	37
2.2.2.2.	Количественное определение и испытания на примеси	38
2.2.3.	Линейность	39
2.2.4.	Диапазон применения (аналитическая область)	40
2.2.5.	Правильность	41
2.2.5.1.	Активность	41
2.2.5.2.	Радионуклидные примеси	41
2.2.5.3.	Радиохимические примеси	41
2.2.5.4.	Рекомендации	41
2.2.6.	Прецизионность	42
2.2.6.1.	Повторяемость	42
2.2.6.2.	Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность	42
2.2.6.3.	Воспроизводимость	43
2.2.6.4.	Рекомендации	43
2.2.7.	Предел обнаружения	43
2.2.7.1.	Подход на основе квалифицированного программного обеспечения	43
2.2.7.2.	Подход на основе визуальной оценки	43
2.2.7.3.	Подход на основе стандартного отклонения для контрольного раствора	44
2.2.7.4.	Подход на основе отношения «сигнал/шум»	44
2.2.7.5.	Рекомендации	44
2.2.8.	Предел количественного определения	44
2.2.8.1.	Подход на основе квалифицированного программного обеспечения	44
2.2.8.2.	Подход на основе визуальной оценки	45
2.2.8.3.	Подход на основе стандартного отклонения для контрольного раствора	45
2.2.8.4.	Подход на основе отношения «сигнал/шум»	45
2.2.8.5.	Рекомендации	46
2.2.9.	Устойчивость (робастность)	46
2.2.10.	Оценка пригодности системы	46
2.3.	ОСОБЕННОСТИ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИК ИСПЫТАНИЙ РФЛП, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ФАРМАКОПЕЕ СОЮЗА	47
2.3.1.	Определение pH	47

2.3.2.	Гамма-спектрометрия	47
2.3.3.	Подсчет общего количества бета-частиц и бета-спектрометрия	49
2.3.4.	Альфа-спектрометрия	50
2.3.5.	Методы разделения	52
2.3.5.1.	Тонкослойная хроматография	53
2.3.5.2.	Жидкостная хроматография	55
2.3.6.	Активность	56

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

БХ	РС	Бумажная хроматография
ЖХ	LC	Жидкостная хроматография
ИЮПАК	IUPAC	Международный союз по теоретической и прикладной химии
МНН	INN	Международное непатентованное наименование
РФЛП	RP	Радиофармацевтический лекарственный препарат
ТСХ	TLC	Тонкослойная хроматография
Фармакопея Союза	EAEU Pharmacopoeia	Фармакопея Евразийского экономического союза
ФК Союза	EAEU PC	Фармакопейный комитет Евразийского экономического союза
	ICH	Международный совет по гармонизации методических требований к регистрации лекарственных средств, предназначенных для медицинского применения

1. ЧАСТНЫЕ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ СТАТЬИ НА РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

1.1. ВВЕДЕНИЕ

Настоящий документ представляет собой часть II Руководства по разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи Евразийского экономического союза, посвященную РФЛП. Общие принципы, описанные в данном документе, не отличаются от общих принципов, применяемых к частным фармакопейным статьям Фармакопеи Союза на субстанции для фармацевтического применения химического происхождения. В связи с этим документ включает аспекты, относящиеся исключительно к РФЛП. При отсутствии особых указаний требования общих фармакопейных статей *Субстанции для фармацевтического применения* и *Радиофармацевтические лекарственные препараты* применяют и к частным фармакопейным статьям на РФЛП. В соответствующих случаях также используют требования других общих фармакопейных статей, например, на лекарственные формы. Во избежание каких-либо сомнений в некоторых случаях может конкретно приводиться ссылка на используемые общие фармакопейные статьи.

Настоящее руководство (часть II) подготовлено с учетом требований документа Европейского директората по качеству лекарственных средств и здравоохранению «Guide for the Elaboration of Monographs on Radiopharmaceutical Preparations» (2018 год) и документа ВОЗ «Good Pharmacopoeial Practice» (WHO Technical Report Series, No. 996, 2016, Annex 1).

1.2. НАЗВАНИЕ ЧАСТНОЙ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ

Название частной фармакопейной статьи указывают на русском и английском языках.

В названии частной фармакопейной статьи используют номенклатуру МНН на РФЛП (при наличии). Символ радионуклида указывают после наименования химического элемента или вещества. Круглые скобки в названии частной фармакопейной статьи предназначены не столько для следования правилам ИЮПАК (для обозначения изотопно замещенного соединения), сколько для указания, что РФЛП содержит изотопно модифицированное вещество.

Пример 1:

ТЕХНЕЦИЯ (^{99m}Tc) ЭКЗАМЕТАЗИМА РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ
TECHNETIUM (^{99m}Tc) EXAMETAZIME INJECTION

Пример 2:

ФТОРДЕЗОКСИГЛЮКОЗЫ (^{18}F) РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ
FLUDEOXYGLUCOSE (^{18}F) INJECTION

Отсутствие наименования РФЛП в номенклатуре МНН означает, что оно хорошо известно и используется только в одном значении. При возможности более одного положения радионуклида в молекуле, кроме наименования, указывают его положение в молекуле.

Пример:

L-МЕТИОНИНА (^{11}C]метил) РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ вместо
L-МЕТИОНИНА (^{11}C) РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ
L-METHIONINE (^{11}C]methyl) INJECTION вместо of L-METHIONINE (^{11}C)
INJECTION

Фармакопея Союза наряду с понятием РФЛП для медицинского применения включает понятие прекурсора. Существует 2 типа прекурсоров:

- радионуклидный прекурсор, который по определению является радиоактивным;
- химический прекурсор, который является нерадиоактивным.

В случае радионуклидного прекурсора в наименование вещества добавляют указание «ДЛЯ РАДИОАКТИВНЫХ МЕТОК».

Пример:

ФТОРИДА (^{18}F) РАСТВОР ДЛЯ РАДИОАКТИВНЫХ МЕТОК
FLUORIDE (^{18}F) SOLUTION FOR RADIOLABELLING

В случае химического прекурсора в наименование вещества добавляют указание «ДЛЯ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ». Это позволяет включать частные фармакопейные статьи на прекурсоры в раздел для РФЛП и по представленным характеристикам определять пригодность данного прекурсора для РФЛП.

Пример:

ЙОБЕНГУАНА СУЛЬФАТ ДЛЯ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ
ПРЕПАРАТОВ
IOBENGUANE SULFATE FOR RADIOPHARMACEUTICAL
PREPARATIONS

Нерадиоактивные химические прекурсоры далее не рассматриваются в данной части руководства, поскольку они подробно описываются в части I Руководства по

разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи Евразийского экономического союза, посвященной субстанциям для фармацевтического применения химического происхождения.

1.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ

1.3.1. Формулы и наименования веществ

Частные фармакопейные статьи на РФЛП не предусматривают установления того, относится ли определяемое радиоактивное вещество к веществам «без носителя», «без добавленного носителя» или, согласно ИЮПАК, «меченым» или «замещенным». В действительности, определяемое вещество всегда будет содержать молекулы с нерадиоактивным нуклидом природного изотопного состава. В случаях, важных с точки зрения потенциальной токсичности или эффекта насыщения целевого рецептора, долю содержания нерадиоактивных молекул определяемого вещества в РФЛП выражают удельной активностью в беккерель на грамм (Бк/г), или молярной активностью в беккерель на моль (Бк/моль), или количеством нерадиоактивного соединения в максимальной рекомендуемой дозе (максимальном рекомендуемом объеме) в миллилитрах (мг/V) и приводят в разделе *СОСТАВ* частной фармакопейной статьи. В разделе *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи название определяемого вещества указывают в соответствии с положениями ИЮПАК. Для пользователей Фармакопеи Союза информация о том, является ли вещество замещенным или меченым, не имеет большого практического значения или даже не имеет его совсем. Поэтому символ радионуклида ставится в квадратных скобках непосредственно перед наименованием вещества с радиоактивной меткой, что означает, что все радиофармацевтические соединения являются «мечеными», а не «замещенными».

Пример 1:

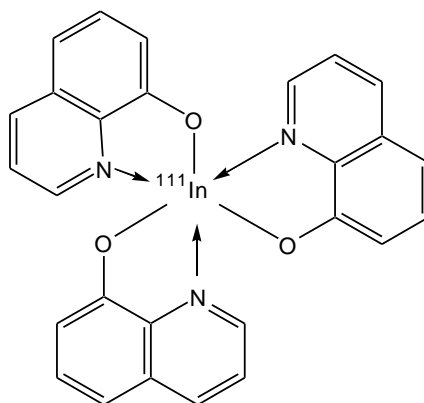
Стерильный раствор, содержащий 2-[¹⁸F]фтор-2-дезоксид-Д-глюкопиранозу (2-[¹⁸F]фтор-2-дезоксид-Д-глюкозу), полученную нуклеофильным замещением

Пример 2:

Готовят растворением [[[3-бром-2,4,6-триметилфенил)карбамоил]метил]-имино]диуксусной кислоты (меброфенина) в присутствии....

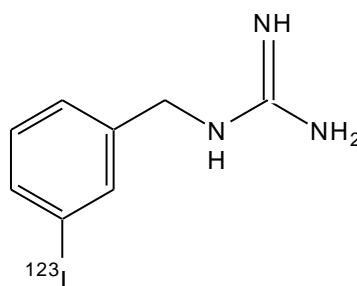
Для веществ, меченных радионуклидами, приводят структурную формулу. Ниже представлена радиоактивная молекула определяемого вещества в РФЛП. При этом радиоактивный атом указывают без скобок.

Пример 1:



[¹¹¹In]Индия оксин

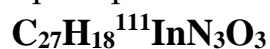
Пример 2:



1-(3-[¹²³I]йодбензил)гуанидин или [¹²³I]йобенгуан

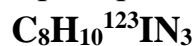
Аналогично приводят химическую формулу и относительную молекулярную массу определяемого вещества.

Пример 1:



M_r 543,5

Пример 2:



M_r 271,2

Раздел *СОДЕРЖАНИЕ* частной фармакопейной статьи включает лишь положения, наиболее важные для активной фармацевтической субстанции или лекарственного препарата.

Пример:

Лекарственный препарат содержит не менее 90 % и не более 110 % фтора-18 от заявленной активности на дату и время, указанные на этикетке.

При необходимости указывают максимальное содержание нерадиоактивных молекул в РФЛП для установления нижнего предела удельной активности.

Пример:

Содержание 2-фтор-2-дезоксид-глюкозы должно составлять не более 0,5 мг в максимальной рекомендуемой дозе (максимальном рекомендуемом объеме) в миллилитрах.

Для РФЛП, содержащих радионуклид и комплексообразующий лиганд, указывают максимальное содержание комплексообразующего лиганда в случае проявления им фармакологической активности.

Пример:

Содержание эдотреотида должно составлять не более 50 мкг в максимальной рекомендуемой дозе (максимальном рекомендуемом объеме) в миллилитрах.

Спецификации на состав приводят, если только частная фармакопейная статья позволяет их верифицировать.

Спецификации на состав не приводят для веществ, рассматриваемых в качестве примесей.

При использовании добавок их указывают, как правило, в общем виде.

Пример 1:

Допускается использование соответствующих стабилизаторов и инертных вспомогательных веществ.

Пример 2:

Допускается использование соответствующих стабилизаторов, например, аскорбиновой кислоты и этилендиаминтетрауксусной кислоты.

Пример 3:

Допускается использование подходящих буферных веществ.

Если применимо, в разделе *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи указывают, что данная статья применяется к активной фармацевтической субстанции, полученной по определенной технологии производства. Указанную информацию обычно не включают в название частной фармакопейной статьи.

Пример 1:

Частная фармакопейная статья распространяется на лекарственную форму для инъекций, содержащую 6-[¹⁸F]фторлеводопу, полученную электрофильным замещением.

Пример 2:

Стерильный раствор, содержащий 2-[¹⁸F]фтор-2-дезоксид-глюкопиранозу (2-[¹⁸F]фтор-2-дезоксид-глюкозу), полученную нуклеофильным замещением.

Пример 3:

Стерильный раствор комплекса технеция-99м с натрия гидроксиметилендифосфонатом, полученного с использованием *Натрия пертехнетата* (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов деления) (номер частной фармакопейной статьи), *Натрия пертехнетата* (^{99m}Tc) раствора для инъекций (активационного) (номер частной фармакопейной статьи) или *Натрия пертехнетата* (^{99m}Tc) раствора для инъекций (полученного на ускорителе) (номер частной фармакопейной статьи).

1.4. ПРОИЗВОДСТВО

В соответствии с указаниями общего раздела Фармакопеи Союза *Общие сведения* положения раздела *ПРОИЗВОДСТВО* частной фармакопейной статьи, при отсутствии других указаний, устанавливают обязательные требования. Данные требования относятся к исходным материалам, процессу производства и его валидации и контролю, а также испытаниям готовой продукции, которые должны проводиться производителем для выборочных серий, либо для каждой серии до выпуска в обращение. Данные указания необязательно могут проверяться на образцах готовой продукции.

Пример:

Йод-131 получают нейтронным облучением теллура или извлечением из продуктов деления урана.

Подробную информацию о технологии производства не предоставляют. При существовании разных технологий производства те из них, которые оценивались во время их разработки или пересмотра, могут быть приведены в Пояснительной записке к частной фармакопейной статье. При этом следует избегать использования фраз, например, «могут быть получены в результате различных реакций» и «наиболее часто применяемый метод».

Данные сведения включают в раздел *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи, а если они не относятся к обоснованию и применению частной фармакопейной статьи – в Пояснительную записку.

1.5. СВОЙСТВА

Положения раздела *СВОЙСТВА* частной фармакопейной статьи не должны рассматриваться в качестве аналитических требований. Описание внешнего вида РФЛП приводят для информации.

Пример 1:

Описание. Прозрачный бесцветный раствор.

Пример 2:

Описание. Прозрачный раствор, бесцветный или слегка желтого цвета.

Пример 3:

Описание. Белая или почти белая суспензия, разделяющаяся при стоянии.

Пример 4:

Описание. Бесцветный газ.

Приводят также ссылку на период полураспада и характеристики излучения радионуклида, присутствующего в РФЛП.

Пример:

Период полураспада и характеристики излучения фтора-18. См. приложение *Таблица физических характеристик радионуклидов, указанных в Фармакопее Союза.*

1.6. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Данный раздел частной фармакопейной статьи предназначен для подтверждения подлинности радионуклида и химической формы определяемого вещества.

Как правило, для идентификации радионуклидов достаточным представляется применение гамма- или бета-спектрометрии.

Пример 1:

А. Определение проводят методом гамма-спектрометрии.

На гамма-спектре испытуемого лекарственного препарата наиболее интенсивный пик гамма-излучения йода-123 должен соответствовать значению энергии 0,159 МэВ.

Пример 2:

А. Определение проводят методом гамма-спектрометрии.

На гамма-спектре испытуемого лекарственного препарата наиболее интенсивные пики гамма-излучения индия-111 должны соответствовать значениям энергии 0,171 МэВ и 0,245 МэВ.

Пример 3:

А. Определение проводят методом бета-спектрометрии.

На бета-спектре испытуемого лекарственного препарата максимальная энергия бета-излучения иттрия-90 должна соответствовать значению 2,28 МэВ.

Для идентификации позитрон-излучающих радионуклидов метод гамма-спектрометрии является лишь сопутствующим, так как наиболее интенсивный пик гамма-излучения с энергией 0,511 МэВ характерен для всех позитрон-излучающих нуклидов, что требует дополнительной информации о периоде полураспада. Для РФЛП с коротким сроком годности относительно времени, необходимого для предварительных испытаний до выпуска, точное определение периода полураспада в течение времени, соответствующего утроенному значению предполагаемого периода полураспада, нецелесообразно для целей идентификации радионуклидов. Достаточным представляется определение приблизительного периода полураспада.

Пример:

А. Определение проводят методом гамма-спектрометрии.

На гамма-спектре испытуемого лекарственного препарата основные пики гамма-излучения должны соответствовать значению энергии 0,511 МэВ, допускается суммарный пик в зависимости от геометрических условий измерения с энергией 1,022 МэВ.

Б. Приблизительный период полураспада. От 105 мин до 115 мин.

Для идентификации химической формы вещества может использоваться специфичная химическая реакция и (или) методика разделения.

Пример 1:

Б. В стеклянную пробирку с внутренним диаметром около 20 мм помещают от 5 мг до 10 мг *магния оксида R*, прибавляют 20 мкл испытуемого лекарственного препарата и исследуют в ультрафиолетовом свете при 365 нм; появляется ярко-желтая флуоресценция.

Пример 2:

Б. К 100 мкл *серебра нитрата раствора R2* прибавляют 50 мкл испытуемого лекарственного препарата; образуется белый осадок.

Пример 3:

В. На радиохроматограмме испытуемого раствора, полученной при испытании А на радиохимическую чистоту (см. раздел *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи), время удерживания/коэффициент замедления основного пика должно совпадать с временем удерживания/коэффициентом замедления основного пика на хроматограмме раствора сравнения (а).

Пример 4:

В. На радиохроматограмме испытуемого раствора, полученной при испытании А на радиохимическую чистоту (см. раздел *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи), коэффициент замедления основного пика должен составлять от 0,0 до 0,1.

1.7. МАКСИМАЛЬНАЯ РЕКОМЕНДУЕМАЯ ДОЗА (МАКСИМАЛЬНЫЙ РЕКОМЕНДУЕМЫЙ ОБЪЕМ)

В Фармакопее Союза особой величиной для РФЛП является максимальная рекомендуемая доза (максимально рекомендуемый объем) (V) в миллилитрах. Для достижения необходимого диагностического или терапевтического результата дозу при введении РФЛП назначают в беккерелях (Бк). Вследствие радиоактивного распада активность РФЛП со временем уменьшается, что требует для поддержания необходимой дозы увеличения объема вводимого РФЛП. После истечения одного периода полураспада необходимо двукратное введение объема РФЛП; после двух периодов полураспада вводимый объем должен увеличиваться в четыре раза. По этой причине объем введения РФЛП является неопределенной величиной, что требует использования понятия максимального рекомендуемого объема (V) в миллилитрах. Данное положение основано на исследованиях по фармацевтической разработке РФЛП в отношении качества, стабильности и безопасности различных составов в

разных условиях и последующих результатах анализа при производстве опытных серий. Предположительно, максимальное значение V устанавливают в процессе валидационных исследований. В крайнем случае, оно равно всему объему многодозового РФЛП, например, при восстановлении набора для приготовления РФЛП или получении лекарственной формы в процессе экстемпорального синтеза РФЛП. Во многих испытаниях на РФЛП содержание исследуемых веществ (родственные примеси, бактериальные эндотоксины и т.д.) определяют, выражая его в миллиграммах или единицах активности на миллилитр, однако предельное содержание указывают в миллиграммах или единицах активности на значение V для ограничения вводимого их общего количества. При необходимости использования растворов сравнения их обычно разводят до объема V мл. Применяемые методики должны быть валидированы для учета всего диапазона объемов и концентраций, возможных при использовании РФЛП.

1.8. ИСПЫТАНИЯ

Испытания на стерильность, бактериальные эндотоксины и остаточные растворители, если приемлемо, должны быть приведены в частной фармакопейной статье, если на них не распространяются требования общей фармакопейной статьи *Радиофармацевтические лекарственные препараты*.

1.8.1. рН, кислотность или щелочность

При отсутствии других указаний испытание проводят с использованием неразведенного РФЛП. Допускается определение величины рН методом потенциометрии, или с помощью раствора подходящего индикатора или индикаторной полоски, или путем определения кислотности или щелочности.

Если диапазон рН задан с точностью до 1 десятичного знака, допускается указывать наименование подходящей индикаторной полоски. Данную информацию включают в Пояснительную записку при разработке частной фармакопейной статьи.

Пример 1:

рН (номер общей фармакопейной статьи). От 4 до 7.

Пример 2:

рН (номер общей фармакопейной статьи). От 4,5 до 7,0.

Пример 3:

рН (номер общей фармакопейной статьи). От 4,5 до 8,5.

Пример 4:

Кислотность (номер общей фармакопейной статьи). Раствор должен быть **сильнокислым.**

Пример 5:

Щелочность (номер общей фармакопейной статьи). Раствор должен быть **сильнощелочным.**

1.8.2. Нерадиоактивные вещества и родственные примеси

Данный раздел включает испытания на специфические нерадиоактивные вещества и известные или возможные нерадиоактивные примеси.

Пример:

Аловудин и родственные примеси. Жидкостная хроматография (номер общей фармакопейной статьи).

Если в разделе *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи указываются предельные значения удельной активности или содержания нерадиоактивных веществ в РФЛП, необходимо проведение испытания на содержание нерадиоактивных веществ в РФЛП. В частной фармакопейной статье примеси (химические и радиохимические) обозначают с помощью букв латинского алфавита, например, «примесь А», «примесь В» и т.д. Их описание приводится в разделе *ПРИМЕСИ* частной фармакопейной статьи с использованием терминов, указанных в общей фармакопейной статье *Контроль примесей в субстанциях для фармацевтического применения*. В тексте частной фармакопейной статьи испытания на примеси называют по наименованию примесей, например, «Примесь А», «Примесь В» и т. д. Однако при первом упоминании примеси (например, при приготовлении растворов сравнения) используют ее химическое название, после которого в скобках указывают буквенное обозначение примеси.

Пример:

1,0 мг 2-хлор-2-дезоксид-Д-глюкозы Р (примесь А) растворяют в воде Р.

Пределы содержания примесей устанавливают на основе результатов рутинного анализа серий РФЛП с учетом данных исследований токсичности и (или) эффективности, а также возможностей описанных методов.

Ниже приведен пример, который может рассматриваться в качестве типового для описания такого испытания.

Пример:

2-Фтор-2-дезоксид-Д-глюкоза и примесь А. Жидкостная хроматография (номер общей фармакопейной статьи).

Испытуемый раствор. Испытуемый лекарственный препарат.

Раствор сравнения (а). 1,0 мг 2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкозы *P* растворяют в воде *P* и доводят тем же растворителем до объема 2,0 мл. 1,0 мл полученного раствора разводят водой *P* до объема *V*, где *V* – максимальная рекомендуемая доза (максимальный рекомендуемый объем) в миллилитрах.

Раствор сравнения (б). 1,0 мг 2-хлор-2-дезоксид-Д-глюкозы *P* (примесь А) растворяют в воде *P* и доводят тем же растворителем до объема 2,0 мл. 1,0 мл полученного раствора разводят водой *P* до объема *V*, где *V* – максимальная рекомендуемая доза (максимальный рекомендуемый объем) в миллилитрах.

Раствор сравнения (в). 1,0 мг 2-фтор-2-дезоксид-Д-маннозы *P* растворяют в воде *P* и доводят тем же растворителем до объема 2,0 мл. 0,5 мл полученного раствора смешивают с 0,5 мл раствора сравнения (а).

Условия хроматографирования:

- колонка размером 0,25 м × 4,0 мм, заполненная *сильноосновной анионообменной смолой для хроматографии P* с размером частиц 10 мкм;
- подвижная фаза: раствор 4 г/л *натрия гидроксида P* в воде, свободной от углерода диоксида *P*, предохраняемой от воздействия атмосферного углерода диоксида;
- скорость подвижной фазы: 1 мл/мин;
- детектирование: детектор углеводов, подходящий для измерения в требуемом диапазоне концентраций, например, импульсный амперометрический детектор и детектор радиоактивности, соединенные последовательно;
- объем ввода пробы: 20 мкл;
- время хроматографирования: удвоенное время удерживания 2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкозы.

Время удерживания 2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкозы составляет около 12 мин. Относительное удерживание пиков: 2-фтор-2-дезоксид-Д-манноза – около 0,9; примесь А – около 1,1.

Пригодность системы (раствор сравнения (в) при использовании детектора углеводов):

- разрешение между пиками 2-фтор-2-дезоксид-маннозы и 2-фтор-2-дезоксид-глюкозы не менее 1,5;
- отношение «сигнал/шум» для пика 2-фтор-2-дезоксид-глюкозы не менее 10.

На хроматограмме испытуемого раствора, полученной с помощью детектора углеводов:

- площадь пика 2-фтор-2-дезоксид-глюкозы не должна превышать площадь соответствующего пика на хроматограмме раствора сравнения (а) (0,5 мг/V);
- площадь пика примеси А не должна превышать площадь соответствующего пика на хроматограмме раствора сравнения (б) (0,5 мг/V).

В некоторых испытаниях может быть обнаружено несколько родственных примесей. В этом случае допускается указывать пределы их общего содержания и неучитываемый предел.

Пример:

На хроматограмме испытуемого раствора, полученной с помощью УФ-детектора:

- площадь пика фтормисонидазола не должна превышать площадь соответствующего пика на хроматограмме раствора сравнения (а) (0,1 мг/V);
- площадь пика примеси С не должна превышать площадь соответствующего пика на хроматограмме раствора сравнения (б) (0,1 мг/V);
- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (а) (0,1 мг/V);
- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать 5 площадей основного пика на хроматограмме раствора сравнения (а) (0,5 мг/V);
- не учитывают пики, площадь которых составляет 0,3 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (а) (0,03 мг/V).

Температуру колонки указывают лишь при необходимости или в случае, если она отличается от комнатной (от 15 °С до 25 °С). При отсутствии других указаний предполагается, что температура колонки должна быть постоянной.

1.8.3. Остаточные растворители

Содержание остаточных растворителей нормируют в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Остаточные растворители*. Для РФЛП с коротким сроком годности по сравнению с временем, необходимым для испытаний до выпуска их в обращение и дистрибьюции, вводят указание «Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания».

Пример:

Остаточные растворители. В соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Остаточные растворители (номер общей фармакопейной статьи)*. Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания.

При использовании этанола в качестве вспомогательного вещества в РФЛП приводят пределы его концентрации или общее количество в расчете на одно введение. Допускается применение методик, описанных в общей фармакопейной статье *Идентификация и контроль остаточных растворителей*, однако более высокий уровень допустимого содержания и диапазон возможных объемов введения может потребовать валидации альтернативных методик.

Пример:

Этанол (номер общей фармакопейной статьи или другая подходящая валидированная методика). Не более 10 % (об/об) и не более 2,5 г на введение в расчете на плотность (номер общей фармакопейной статьи) 0,790 г/мл.

1.8.4. Физиологическое распределение

Не рекомендуется проведение испытаний с участием животных. Некоторые РФЛП могут содержать смесь меченных радиоактивным изотопом компонентов различного состава, которые сложно определить другими аналитическими методами. Испытание на физиологическое распределение может потребоваться в тех случаях, когда физико-химическое испытание (испытания) на радиохимическую чистоту является недостаточным для полного определения и контроля радиохимических веществ в РФЛП. Общие указания по выполнению испытания описаны в общей фармакопейной статье *Радиофармацевтические лекарственные препараты*, но изложение текста испытаний и предельные значения будут зависеть от характера испытания, несмотря на то, что гармонизация текста испытания с аналогичными текстами представлялась бы целесообразной.

1.8.5. Стерильность

В соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Радиофармацевтические лекарственные препараты* РФЛП для парентерального введения должны выдерживать испытание на стерильность. В связи с этим в частных фармакопейных статьях на РФЛП не требуется приводить испытания на стерильность, за исключением следующего случая:

- РФЛП с коротким сроком годности по сравнению с продолжительностью испытания, что допускает их выпуск к применению до завершения испытания. В этом случае в частной фармакопейной статье приводят следующее указание:

Стерильность. В соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Радиофармацевтические лекарственные препараты (номер общей фармакопейной статьи)*. Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания.

1.8.6. Бактериальные эндотоксины

В соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Радиофармацевтические лекарственные препараты* РФЛП для парентерального введения должны выдерживать испытание на бактериальные эндотоксины или испытание на пирогенность. Пределы содержания бактериальных эндотоксинов указывают в частной фармакопейной статье или рассчитывают в соответствии с указаниями общей фармакопейной статьи *Применение испытания на бактериальные эндотоксины*. Так, для внутривенных РФЛП данные пределы должны составлять 2,5 МЕ эндотоксина на килограмм массы тела, т.е. 175 МЕ на максимальную рекомендуемую дозу (максимальный рекомендуемый объем) в миллилитрах при средней массе человека 70 кг. В связи с этим в частных фармакопейных статьях на РФЛП не требуется приводить испытания на бактериальные эндотоксины, за исключением следующих случаев:

- если РФЛП имеет короткий срок годности по сравнению с продолжительностью испытания, что допускает их выпуск к применению до завершения испытания. В таком случае в частной фармакопейной статье приводят следующее указание:

Пример 1 (для РФЛП, готовых к применению):

Бактериальные эндотоксины (номер общей фармакопейной статьи). Не более $175/V$ МЕ/мл, где V – максимальная рекомендуемая доза (максимальный рекомендуемый объем) в миллилитрах. Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания.

Пример 2 (для растворов для радиоактивных меток):

Бактериальные эндотоксины (номер общей фармакопейной статьи). Не более 20 МЕ/мл, если раствор предназначен для производства парентеральных лекарственных препаратов без последующего удаления бактериальных эндотоксинов. Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания.

Пример 3 (для растворов для радиоактивных меток):

Бактериальные эндотоксины (номер общей фармакопейной статьи). Не более $175/V$ МЕ/мл, где V – максимальная рекомендуемая доза (максимальный рекомендуемый объем) в миллилитрах. Допускается выпуск лекарственного препарата к применению в производстве до завершения испытания.

Пример 4 (для растворов для радиоактивных меток):

Бактериальные эндотоксины (номер общей фармакопейной статьи). Не более 175 МЕ/ V , где V – максимальный объем, используемый для приготовления одной дозы для пациента, если раствор предназначен для применения в производстве парентеральных лекарственных препаратов без последующего удаления бактериальных эндотоксинов. Допускается выпуск раствора к применению до завершения испытания.

- если предел содержания бактериальных эндотоксинов отличается от общего его значения, что требует указания данного предела в частной фармакопейной статье.

Пример:

Бактериальные эндотоксины (номер общей фармакопейной статьи). Не более $14/V$ МЕ/мл, где V – максимальная рекомендуемая доза (максимальный рекомендуемый объем) в миллилитрах.

- если используется другой метод подготовки образца, что требует его подробного описания в частной фармакопейной статье;
- если испытание методом гель-тромба не приемлемо, что требует использования другого метода.

1.9. РАДИОНУКЛИДНАЯ ЧИСТОТА

В данном разделе частной фармакопейной статьи приводят максимальное предельное содержание радионуклидных примесей и минимальное содержание радионуклида в испытуемом образце.

Пример (для РФЛП, меченного йодом-123):

РАДИОНУКЛИДНАЯ ЧИСТОТА

Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания.

Йод-123. Не менее 99,7 % от общей активности.

Гамма-спектрометрия.

Определяют относительное содержание йода-123, йода-125, теллура-121 и других присутствующих радионуклидных примесей. С целью обнаружения теллура-121 и йода-125 испытуемый лекарственный препарат выдерживают в течение времени, достаточного для распада йода-123 до уровня, позволяющего обнаружить радионуклидные примеси.

На гамма-спектре испытуемого лекарственного препарата не должны обнаруживаться радионуклиды с большим периодом полураспада, чем у йода-125.

Радионуклидные примеси с большим периодом полураспада, чем у радионуклида в испытуемом РФЛП, могут быть определены по истечении соответствующего периода радиоактивного распада. В этом случае указывают время хранения образца до начала измерения оставшихся долгоживущих примесей и возможность выпуска РФЛП к применению до завершения испытания.

Пример (для РФЛП, меченного фтором-18):

РАДИОНУКЛИДНАЯ ЧИСТОТА

Допускается выпуск лекарственного препарата к применению до завершения испытания Б.

Фтор-18. Не менее 99,9 % от общей активности.

А. Гамма-спектрометрия.

На гамма-спектре испытуемого лекарственного препарата пики гамма-излучения с энергией, отличной от 0,511 МэВ или 1,022 МэВ, должны быть не более 0,1 % от общей активности лекарственного препарата.

Б. Гамма-спектрометрия.

Определяют количество фтора-18 и радионуклидных примесей с периодом полураспада более 2 ч. С целью обнаружения и количественного определения примесей испытуемый лекарственный препарат выдерживают не менее 24 ч для распада фтора-18 до уровня, позволяющего обнаружить примеси.

Общая активность радионуклидных примесей должна быть не более 0,1 %.

Для РФЛП, меченных технецием-99m, испытание на радионуклидную чистоту не описывают, поскольку их получение осуществляют с использованием *Натрия пертехнетата* (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов деления), *Натрия пертехнетата* (^{99m}Tc) раствора для инъекций (активационного) или *Натрия пертехнетата* (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов ускорителя), для которых уже определены требования к радионуклидной чистоте.

1.10. РАДИОХИМИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА

Данный раздел частной фармакопейной статьи является одним из наиболее важных и содержит специфические испытания для РФЛП. Он представляет также наибольшую сложность в обеспечении единообразия изложения текста. Испытания в данном разделе должны подтвердить присутствие рассматриваемого радионуклида в предполагаемой химической форме. По возможности испытания называют, используя наименование определяемой примеси (примесей). Пределы для примесей выражают в виде минимального количества активности, обусловленной рассматриваемым радионуклидом в предполагаемой химической форме, в процентах от общей активности. В некоторых случаях для отдельных или совместно присутствующих радиохимических примесей допускается указывать пределы в виде их максимального количества активности в процентах.

Пример 1 (для РФЛП, меченного фтором -18):

РАДИОХИМИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА

[^{18}F]Аловудин. Жидкостная хроматография (номер общей фармакопейной статьи), как описано в испытании на аловудин и родственные примеси.

При необходимости испытуемый раствор разводят *водой Р* для получения радиоактивной концентрации, подходящей для измерения активности.

На хроматограмме, полученной с помощью детектора радиоактивности, находят пик [¹⁸F]аловудина путем сравнения с хроматограммой раствора сравнения (а), полученной с использованием спектрофотометра.

Содержание [¹⁸F]аловудина должно быть не менее 95 % от общей активности фтора-18.

Примесь D. Тонкослойная хроматография (*номер общей фармакопейной статьи*).

Испытуемый раствор. Испытуемый лекарственный препарат.

Условия хроматографирования:

- ТСХ-пластинка со слоем силикагеля *Р*;
- подвижная фаза: *вода Р – ацетонитрил Р (5:95 об/об)*;
- объем нанесения пробы: около 5 мкл;
- пробег фронта растворителя: не менее 2/3 пластинки;
- обработка зон абсорбции: сушка в потоке теплого воздуха;
- детектирование: детектор, подходящий для установления распределения активности.

На полученной радиохроматограмме коэффициенты замедления составляют: примесь D – около 0; [¹⁸F]аловудин – около 0,7.

Содержание примеси D должно быть не более 5 % от общей активности фтора-18.

Пример 2 (для РФЛП, меченного технецием-99м с использованием только БХ или ТСХ):

РАДИОХИМИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА

Примесь А. Тонкослойная хроматография (*номер общей фармакопейной статьи*).

Исследуемый раствор. Испытуемый лекарственный препарат.

Раствор сравнения (а). К 1 мл раствора 1 г/л олова хлорида *Р* в растворе 5,15 г/л хлороводородной кислоты *Р* в закрытом флаконе прибавляют 2 мл Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (*из продуктов деления*) (*номер частной фармакопейной статьи*), Натрия пертехнетата (^{99m}Tc)

раствора для инъекций (активационного) (номер частной фармакопейной статьи) или Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов ускорителя) (номер частной фармакопейной статьи) с активностью от 100 МБк до 400 МБк. Раствор используют в течение 30 мин.

Раствор сравнения (б). Во флакон, содержащий СО ФЕАЭС медроната для испытания на радиохимическую чистоту прибавляют 2 мл Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов деления) (номер частной фармакопейной статьи), Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (активационного) (номер частной фармакопейной статьи) или Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов ускорителя) (номер частной фармакопейной статьи), с активностью от 100 МБк до 400 МБк. Раствор выдерживают в течение 15 мин.

Условия хроматографирования:

- ТСХ-пластинка со слоем силикагеля *P*, изготовленная из стекловолокна;
- подвижная фаза: раствор 136 г/л натрия ацетата *P*;
- объем нанесения пробы: около 2 мкл;
- пробег фронта растворителя: не менее 4/5 пластинки;
- обработка зон абсорбции: немедленное извлечение пластинки из камеры с растворителем после завершения хроматографирования, сушка на воздухе;
- детектирование: детектор, подходящий для установления распределения активности.

На полученной радиохроматограмме коэффициенты замедления составляют: примесь А – от 0,0 до 0,1; примесь В и [^{99m}Tc]технеция медронат – от 0,9 до 1,0.

Примесь В. Тонкослойная хроматография (номер общей фармакопейной статьи).

Исследуемый раствор. Испытуемый лекарственный препарат.

Раствор сравнения (а). Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов деления) (номер частной фармакопейной статьи), Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (активационного) (номер частной фармакопейной статьи) или Натрия пертехнетата (^{99m}Tc) раствора для инъекций (из продуктов ускорителя) (номер частной фармакопейной статьи).

Раствор сравнения (б). Раствор сравнения (б), приготовленный в испытании на примесь А.

Условия хроматографирования:

- *ТСХ-пластинка со слоем силикагеля Р*, изготовленная из стекловолокна;
- подвижная фаза: *метилэтилкетон Р*;
- объем нанесения пробы: около 2 мкл;
- пробег фронта растворителя: не менее 4/5 пластинки;
- обработка зон абсорбции: немедленное извлечение пластинки из камеры с растворителем после завершения хроматографирования, сушка на воздухе;
- детектирование: детектор, подходящий для установления распределения активности.

На полученной радиохроматограмме коэффициенты замедления составляют: примесь А и [^{99m}Tc]технеция медронат – от 0,0 до 0,1; примесь В – от 0,9 до 1,0.

Активность [^{99m}Tc]технеция медроната в процентах рассчитывают по формуле:

$$100 - (A + B)$$

где *A* – активность примеси А в процентах, найденная в испытании на примесь А при определении радиохимической чистоты;

B – активность примеси В в процентах, найденная в испытании на примесь В при определении радиохимической чистоты.

Содержание [^{99m}Tc]технеция медроната должно быть не менее 95 % от общей активности технеция-^{99m}.

Для определения радиохимической чистоты с использованием ЖХ необходимо рассмотреть возможность сохранения активности на колонке, что должно быть отражено в формуле для расчета предельных значений.

Пример:

Активность [^{99m}Tc]технеция сестамиби в процентах рассчитывают по формуле:

$$\frac{(100 - B) \times T}{100}$$

где ***B*** – активность примеси ***B*** в процентах, найденная в испытании на примесь ***B*** при определении радиохимической чистоты;
T – активность примеси [^{99m}Tc]технеция сестамиби в процентах на хроматограмме испытуемого раствора.

В данном примере [^{99m}Tc]технеция сестамиби представляет собой координационное соединение [^{99m}Tc]технеция в качестве комплексообразователя, связанного с 6 (sesta) лигандами метоксиизобутилизонитрила (MIBI).

1.11. АКТИВНОСТЬ

Данный раздел соответствует разделу *КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи на субстанции для фармацевтического применения химического происхождения.

Пример:

АКТИВНОСТЬ

Определение активности проводят с помощью калиброванного прибора.

1.12. ХРАНЕНИЕ

Информация о хранении РФЛП содержится в общей фармакопейной статье *Радиофармацевтические лекарственные препараты*. При необходимости дополнительную информацию указывают в частной фармакопейной статье.

Пример 1:

ХРАНЕНИЕ

В герметичных контейнерах в защищенном от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С.

Пример 2:

ХРАНЕНИЕ

В защищенном от света месте при температуре 25 °С или ниже.

1.13. МАРКИРОВКА

Информация о маркировке РФЛП содержится в общей фармакопейной статье *Радиофармацевтические лекарственные препараты*. При необходимости дополнительную информацию указывают в частной фармакопейной статье.

Пример 1:

МАРКИРОВКА

На этикетке указывают, что:

- **раствор не предназначен для прямого введения пациенту;**
- **пользователь обязан убедиться, что содержание металлических примесей и стронция-90 является достаточно низким для предполагаемого применения;**
- **активная фармацевтическая субстанция пригодна для производства парентеральных лекарственных препаратов, в случае применимости.**

Пример 2:

МАРКИРОВКА

На этикетке указывают содержание этанола в процентах в лекарственном препарате.

Пример 3:

МАРКИРОВКА

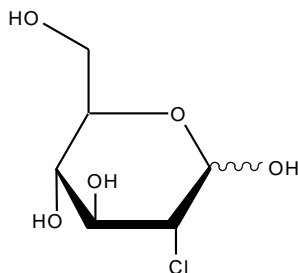
На этикетке указывают удельную активность, выраженную в гигабеккерель (ГБк) йода-123 на грамм основания йобенгуана.

1.14. ПРИМЕСИ

Раздел *ПРИМЕСИ* частной фармакопейной статьи основан на указаниях общей фармакопейной статьи *Контроль примесей в субстанциях для фармацевтического применения*. В данном разделе приводят возможные химические, радиохимические или радионуклидные примеси, присутствующие в РФЛП и нормированные предписанными испытаниями. Перечень примесей включает, при необходимости, структурные формулы и их химические названия.

Пример 1:

Специфицированные примеси: А, В, С, D, Е.



**А. 2-хлор-2-дезоксид-D-глюкопираноза (2-хлор-2-дезоксид-D-глюкоза),
Е. [¹⁸F]фторид.**

Пример 2:

**А. [^{99m}Tc]технеций в коллоидной форме,
В. [^{99m}Tc]пертехнетат-ион**

Пример 3:

**А. йод-125,
В. теллур-121,
С. [¹²³I]йодат-ион.**

В разделе *ПРИМЕСИ* частной фармакопейной статьи не указывают нерадиоактивные неорганические примеси (например, металлы).

2. ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК

2.1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

В данном разделе настоящего руководства приводятся положения, связанные с валидацией испытаний, предусмотренных для включения в частные фармакопейные статьи на РФЛП. Раздел включает оценку испытаний для идентификации, инструментальных и неинструментальных испытаний для контроля радиохимических и радионуклидных примесей и методик определения активности. Требования к валидации различаются в зависимости от типа испытаний и используемой методики.

В разделе рассмотрены аналитические методики с особым упором на определение и измерение активности. Кроме того, обсуждаются испытания, хотя и

несвязанные с определением или измерением активности, но на результаты которых активность может оказывать определенное влияние.

Данный раздел настоящего руководства основан на общей фармакопейной статье *Валидация аналитических методик* Фармакопеи Союза и Руководстве по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств, утвержденном Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113. Вопросы данного раздела рассмотрены также в Руководстве по разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи Евразийского экономического союза (часть I, раздел 3). Положения раздела могут быть использованы для составления заявлений на регистрацию РФЛП в рамках Союза.

2.1.1. Типы аналитических методик, подлежащих валидации

Целью валидации аналитической методики является документированное подтверждение ее пригодности для предполагаемого применения. В настоящем руководстве валидация аналитических методик рассматривается в применении к следующим испытаниям на РФЛП:

- испытания для идентификации (подтверждения подлинности);
- испытания на количественное содержание примесей;
- испытания на предельное содержание примесей с целью их контроля;
- испытания для количественного определения активности (эквивалентны количественному определению в частных фармакопейных статьях на субстанции для фармацевтического применения химического происхождения).

Ниже приводится краткое описание типов испытаний, рассматриваемых в настоящем руководстве:

- испытания для идентификации подтверждают подлинность радионуклида и его присутствие в заявленной химической форме;
- испытания на радионуклидные примеси предназначены для получения информации о подлинности и содержании возможных радионуклидных примесей и, в целом, радионуклидной чистоте РФЛП;
- испытания на радиохимические примеси предназначены для получения информации о подлинности и содержании возможных радиохимических примесей, образующихся при синтезе или получении активной части РФЛП;
- испытания на нерадиоактивные примеси могут быть либо испытаниями на количественное содержание, либо испытаниями на предельное содержание примеси в испытуемом образце. Данные испытания предназначены для точного отражения характеристик чистоты испытуемого образца. В отличие

от испытания на предельное содержание, испытание на количественное содержание примеси требует различные характеристики валидации, которые полностью описаны в вышеуказанных документах;

- определение активности (количественное определение или содержание) предназначено для измерения активности (количества распадов в единицу времени) соответствующего радионуклида в предполагаемой химической форме (определяемое вещество). Активность выражают величиной общей активности в расчете на единицу лекарственной формы, например, капсулу, или на одну упаковку, например, флакон, или величиной радиоактивной концентрации в расчете на единицу объема РФЛП. Активность выражают на дату и время, указанные на упаковке.

2.1.2. Валидационные характеристики и требования

В данном разделе настоящего руководства приводится перечень характеристик, подлежащих оценке при валидации аналитических методик, необходимых для разработки частной фармакопейной статьи на РФЛП.

Назначение аналитических методик должно быть четко определено, так как от этого зависит выбор валидационных характеристик, подлежащих оценке в ходе валидации.

Типичные валидационные характеристики, подлежащие оценке, приводятся ниже:

- правильность;
- прецизионность;
 - а) повторяемость;
 - б) промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность;
- специфичность;
- предел обнаружения;
- предел количественного определения;
- линейность;
- диапазон применения или аналитическая область.

Определение каждой из валидационных характеристик представлено в разделе *2.1.3 Термины и определения* настоящего руководства. Валидационные характеристики, используемые для идентификации, контроля примесей и количественного определения с особым упором на определение и обнаружение радиоактивности представлены в таблице.

В таблице приводятся те характеристики, которые считают наиболее важными для валидации различных аналитических методик. Данный перечень валидационных

характеристик представляется типичным для указанных аналитических методик и испытаний, но предполагает в отдельных случаях исключение некоторых из них, что требует соответствующего обоснования. Следует отметить, что в таблице не указывается устойчивость (робастность), которую определяют на соответствующем этапе разработки аналитической методики.

Кроме того, может потребоваться повторная валидация (ревалидация) в следующих случаях:

- изменения в процессе производства, например изменения в производстве радионуклидов, синтезе прекурсора, синтезе радиоактивного соединения и т.д.;
- изменения в составе РФЛП;
- изменения в аналитической методике.

Валидации могут потребовать и другие изменения. Степень повторной валидации (ревалидации) зависит от характера изменений. Решение о том, в какой степени необходима повторная валидация (ревалидация), основывается на результатах оценки риска.

Методики, используемые в исследованиях стабильности для установления срока годности РФЛП, должны быть включены в протокол валидации.

Таблица. Валидационные характеристики аналитических методик испытаний РФЛП

Валидационные характеристики	Тип аналитической методики						
	Идентификация радионуклида (T _{1/2} приблизит.)	Идентификация радионуклида (спектрометрия)	Радиохимическая идентификация (ЖХ/ТСХ/БХ)	Радионуклидная чистота (ИПС)	Радионуклидная чистота (спектрометрия)	Радиохимическая чистота* (ЖХ/ТСХ/БХ)	Активность (КО)
Правильность	-	-	-	-	+	+	+
Прецизионность:							
Повторяемость	+	-	-	-	(+)	(+)	+
Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность	-	-	-	-	(+)	(+)	-
Специфичность	+	+	+	+	+	+	+
Предел обнаружения	-	-	-	+	-	-	-
Предел количественного определения	-	-	-	-	+	+	-
Линейность	+	-	-	-	+	+	+
Диапазон применения (аналитическая область)	+	-	-	-	+	+	+

Примечание. *Испытания на радиоэнантиомерную чистоту следует валидировать аналогичным образом.

Сокращения: ИПС – испытание на предельное содержание;

КО – количественное определение;

(+) – не всегда возможно (например, в случае короткого периода полураспада)

2.1.3. Термины и определения

Для целей настоящего руководства используют понятия, которые означают следующее:

«аналитическая методика» (analytical procedure) – подробное описание проведения испытания. Оно может включать (но не ограничиваться перечисленным) подготовку испытуемого образца и образца сравнения, приготовление реактивов, использование оборудования, получение калибровочной кривой, применение формул расчета и т. д.;

«специфичность» (specificity) – способность однозначно оценивать определяемое вещество (компонент) независимо от других веществ (примеси, продукты деградации, вспомогательные вещества, матрица (дисперсионная среда) и др.), присутствующих в испытуемом образце. Недостаточная специфичность одной

аналитической методики может быть компенсирована использованием одной или нескольких дополнительных аналитических методик. Специфичность для различных видов испытаний означает следующее:

- *в испытании для идентификации* – подтверждение того, что аналитическая методика позволяет идентифицировать именно определяемое вещество (компонент);
- *в испытании на чистоту* – подтверждение того, что аналитическая методика позволяет правильно распознать примеси в испытуемом образце (например, испытание на родственные соединения, примеси элементов, остаточные растворители и т. д.);
- *в испытаниях для определения активности* (эквивалентно количественному определению в частных фармакопейных статьях на субстанции для фармацевтического применения химического происхождения) – подтверждение того, что аналитическая методика позволяет точно измерить активность испытуемого образца. Надежность методов измерения активности требует подтверждения отсутствия мешающих радионуклидов (радионуклидная чистота) или предоставления информации об их относительном вкладе в результаты измерений. В неспектрометрических методах измерения активности, например, с использованием ионизационных камер, твердотельных (сцинтилляционных или полупроводниковых) и жидких сцинтилляционных детекторов, как правило, детекторы не могут полностью различить все излучения, поступающие от разных радионуклидов;

«правильность» (accuracy, trueness) – валидационная характеристика, выражающая близость между принятым истинным (опорным) значением и полученным значением;

«прецизионность» (precision) – характеристика близости (степени разброса) результатов (значений) между сериями измерений, проведенными на множестве проб, взятых из одной и той же однородной пробы, в указанных методикой условиях. Прецизионность устанавливают на 3 уровнях: повторяемость, промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность и воспроизводимость. Прецизионность следует устанавливать с использованием однородных аутентичных образцов. В случае невозможности получения однородного образца допускается определение прецизионности с помощью искусственно приготовленных (модельных) образцов или раствора образца. Прецизионность аналитической методики, как правило, выражают величиной дисперсии, стандартного отклонения или коэффициента вариации серии измерений;

«повторяемость» (repeatability) – характеристика прецизионности при выполнении повторных испытаний в одинаковых рабочих условиях в течение короткого промежутка времени. Повторяемость также называют прецизионностью внутри аналитической методики (intra-assay precision);

«промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность» (intermediate precision) – характеристика влияния изменений внутри лаборатории (разные дни, разные аналитики, разное оборудование и т. д.);

«воспроизводимость» (reproducibility) – характеристика прецизионности в межлабораторных испытаниях (совместные исследования, обычно применяемые для стандартизации методологии);

«предел обнаружения» (detection limit) – наименьшее количество определяемого вещества (компонента) в испытуемом образце, которое может быть обнаружено, но не обязательно точно количественно определено;

«предел количественного определения» (quantitation limit) – наименьшее количество вещества (компонента) в испытуемом образце, которое можно определить с соответствующей прецизионностью и правильностью. Предел количественного определения является необходимой валидационной характеристикой методик, используемых для определения низких содержаний веществ (компонентов) в испытуемом образце, в частности, для определения примесей и (или) продуктов деградации;

«линейность» (linearity) – прямая пропорциональная зависимость аналитического сигнала от концентрации (количества) определяемого вещества (компонента) в испытуемом образце в пределах диапазона применения (аналитической области) методики;

«диапазон применения (аналитическая область)» (range) – интервал между наибольшей и наименьшей концентрациями (количеством) определяемого вещества (компонента) в испытуемом образце (включая эти концентрации), для которого показано, что аналитическая методика имеет приемлемый уровень прецизионности, правильности и линейности;

«устойчивость (робастность)» (robustness) – способность методики быть устойчивой к влиянию небольших задаваемых изменений в условиях выполнения испытания, которая указывает на ее надежность при обычном (стандартном) использовании.

2.2. МЕТОДОЛОГИЯ

Общая методология валидации описана в Руководстве по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств,

утвержденном Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113, и Руководстве по разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи Евразийского экономического союза (часть I, раздел 3).

Валидация методик, используемых для анализа РФЛП, также проводится в соответствии с принципами указанных выше документов. Однако общая методология может стать неприменимой или может потребовать изменений вследствие распада радионуклида со временем. Поэтому методики испытаний РФЛП не аналогичны методикам, используемым в традиционном химическом анализе, а РФЛП ввиду их излучения не могут быть легко направлены из одного места в другое. В связи с этим в настоящем руководстве основное внимание уделено подобным случаям.

2.2.1. Основные положения

Целью данного раздела настоящего руководства является предоставление рекомендаций по порядку рассмотрения различных валидационных характеристик для каждой аналитической методики. В некоторых случаях (например, при подтверждении специфичности) для обеспечения качества РФЛП в целом могут быть исследованы возможности применения комбинации ряда аналитических методик.

Следует предоставить соответствующие результаты, собранные во время валидации, и формулы, используемые для расчета валидационных характеристик.

Радиоактивный распад как физическое свойство РФЛП приводит к изменению требуемого объема его введения в течение всего срока действия (срока годности). Для экстемпоральных РФЛП и восстановленных «холодных наборов» для приготовления РФЛП объем, подлежащий введению, может изменяться от объема вскоре после завершения части производственного цикла или восстановления (например, несколько миллилитров) до объема в конце срока годности (например, 15 мл или 20 мл). Этот диапазон объемов следует всегда учитывать при разработке протоколов валидации аналитических методик.

Кроме подходов, приведенных в данном руководстве, могут быть приемлемы и другие подходы. Выбор наиболее подходящей процедуры и подготовка протокола валидации зависит от экспертов, ответственных за разработку частной фармакопейной статьи. Тем не менее, важно помнить, что основной целью валидации аналитической методики является подтверждение пригодности методики для предполагаемого применения.

На протяжении всего валидационного исследования следует использовать хорошо охарактеризованные стандартные образцы с документально подтвержденной чистотой. Требуемая степень их чистоты зависит от предполагаемого использования.

Для четкости понимания, в соответствии с основным документом, различные валидационные характеристики рассматриваются в отдельных частях данного руководства. Расположение этих частей отражает процесс, посредством которого осуществляется разработка и оценка аналитической методики.

Для общей оценки возможностей аналитической методики, как правило, на практике экспериментальную работу планируют так, чтобы это позволяло одновременно рассматривать соответствующие валидационные характеристики, например: специфичность, линейность, диапазон применения, правильность и прецизионность.

2.2.2. Специфичность

Исследование специфичности следует проводить во время валидации испытаний, предназначенных для идентификации, определения примесей и определения активности (количественное определение). Процедуры, используемые для подтверждения специфичности, будут зависеть от предполагаемого применения аналитической методики.

Не всегда возможно подтвердить специфичность аналитической методики для конкретного определяемого вещества (полная избирательность). Для достижения необходимого уровня избирательности в этом случае рекомендуется использовать комбинацию из двух или нескольких аналитических методик.

2.2.2.1. Идентификация

Необходимо идентифицировать как радионуклид, так и химическую структуру молекулы или комплексного соединения. В некоторых случаях, например, при перемешивании в процессе получения РФЛП, необходимо идентифицировать также противоион.

Радионуклиды идентифицируют по их физическим характеристикам, например, гамма-спектру. Оборудование должно быть откалибровано с прослеживаемыми стандартными образцами по энергии эмиссии радионуклидов.

В случае сходства с характеристиками других соответствующих радионуклидов необходимо провести дополнительное испытание, например, испытание на приблизительный период полураспада для отличия радионуклидов (избирательность). Для определения приблизительного периода полураспада следует установить необходимый промежуток времени измерения.

В некоторых случаях нелишне идентифицировать основной радионуклид по истечении времени, достаточного для распада короткоживущих радионуклидных примесей. Это время должно быть определено.

Валидация подтверждения подлинности химической формы (радиохимическая идентификация), в которой присутствует радионуклид, в основном, состоит из следующих этапов:

- доказательства того, что радиохимическая форма с точки зрения химического поведения (например, при разделении в ЖХ или ТСХ) аналогична нерадиоактивному гомологу;
- подтверждения того, что нерадиоактивный гомолог можно отличить от родственных примесей с близкой структурой.

Таким образом, для данной части валидация испытаний на химическую структуру соответствует общим процедурам для нерадиоактивных веществ.

Испытания для идентификации должны быть способны различить вещества с близкой структурой, которые могут присутствовать в испытуемом образце. Избирательная способность методики может быть подтверждена положительными результатами (возможно, путем сравнения с известным стандартным образцом), полученными для образцов, содержащих определяемое вещество (компонент), в сочетании с отрицательными результатами, полученными для образцов, которые его не содержат. Кроме того, испытание для идентификации может применяться к веществам (компонентам), схожим или близким по структуре с определяемым веществом (компонентом), для подтверждения отсутствия положительного результата. Выбор таких потенциально мешающих веществ должен быть основан на научной оценке с учетом возможных помех.

2.2.2.2. Количественное определение и испытания на примеси

Активность. Если радионуклидные примеси оказывают влияние на определение содержания основного радионуклида, это влияние необходимо учитывать.

Радионуклидная чистота. При необходимости измерения радионуклидных примесей в РФЛП с долгоживущими примесями может потребоваться осуществление распада основного радионуклида. Применение предварительного испытания для долгоживущего радионуклида должно быть исследовано.

Для определения содержания радионуклидной примеси может использоваться химическое (или электрохимическое) разделение основного радионуклида и радионуклидной примеси.

Радиохимическая чистота. Следует определить время удерживания (в ЖХ) или коэффициент замедления (в ТСХ и БХ) для предполагаемых примесей.

Использование образца с добавками примесей позволяет подтвердить способность метода к разделению примеси и основного соединения. Если радиохимические примеси недоступны в виде индивидуальных соединений, их можно иногда получить (например, коллоиды, различные комплексы радионуклида в другом состоянии окисления и др.), подвергая РФЛП старению в стресс-условиях (при нагревании, воздействии воздуха, изменении рН и т.п.). Результаты испытаний, полученные с использованием таких образцов, могут способствовать подтверждению специфичности.

2.2.3. Линейность

Активность. Вследствие протекания радиоактивного распада важно оценить линейность аналитического сигнала детектора в связи с его изменением во времени, например, при определении общей активности или выполнении идентификации по приблизительному периоду полураспада. Линейность аналитического сигнала детектора описана в общей фармакопейной статье *Обнаружение и измерение радиоактивности*.

Радиохимическая чистота. При применении ЖХ, ТСХ и БХ линейность следует подтвердить в хроматографических условиях фактически используемой методики (скорость потока, проточная ячейка, параметры детектора и др.).

Линейность аналитического сигнала детектора следует определять во всем диапазоне применения каждой аналитической методики. Важно оценить диапазон линейности для основного радиоактивного соединения и диапазон линейности для примесей, образующихся в процессе его синтеза. В некоторых обоснованных случаях линейность может быть оценена только для основного соединения, например, при отсутствии образцов примесей. Таким образом, определение линейности должно охватывать диапазон применения как для основного соединения, так и для примесей. Если показано, что аналитическая методика не влияет на результаты измерения активности, может считаться достаточным подтверждение линейности только аналитического сигнала детектора.

Различные радиоактивные концентрации могут быть получены путем разведения радиоактивного образца или снижения естественной активности между 2 измерениями. Считают подходящей оценку 5 различных значений около значения концентрации основного соединения и 5 различных значений около значения концентрации, установленного в качестве предельного содержания примеси. В случае

примесей для определения диапазона линейности может потребоваться добавление радиоактивной примеси в исходный образец.

Количество измеренной активности рассчитывают, исходя из радиоактивной концентрации при значениях времени калибровки (с учетом поправки на распад и, при необходимости, применяемых объемов и разведений). Строят график зависимости площади пиков активности от рассчитанного количества активности.

Коэффициент корреляции, полученный при линейном регрессионном анализе графической зависимости, в случае прямого определения активности основного соединения должен быть не менее 0,99. При определении активности после химической операции (например, хроматографического разделения) или в случае определения примеси может быть приемлемо менее строгое значение коэффициента корреляции. В обоснованных случаях подтверждение линейности аналитической методики полностью может не проводиться, а достаточным считается подтверждение линейности аналитического сигнала детектора.

2.2.4. Диапазон применения (аналитическая область)

Идентификация радионуклида. Для определения приблизительного периода полураспада измерения следует выполнять в пределах диапазона линейности аналитического сигнала детектора.

Активность. Для определения общей активности и радиоактивной концентрации измерения следует выполнять в пределах диапазона линейности аналитического сигнала детектора.

Радионуклидная чистота. Время счета следует устанавливать так, чтобы оно позволяло контролировать присутствие возможных радионуклидных примесей выше указанного в спецификации предела. Если охватываемый диапазон применения не соответствует диапазону линейности аналитического сигнала детектора, это приводит к 2 диапазонам применения:

- диапазону применения с расширенным временем счета для определения радионуклидных примесей;
- диапазону применения с более коротким временем счета или более разбавленным РФЛП для определения общей активности.

Радиохимическая чистота. Диапазон применения следует устанавливать в соответствии с предполагаемым применением и пределом, указанным в

спецификации качества и (или) нормативном документе по качеству РФЛП. Следует обеспечить возможность определения радиохимических примесей при данном количестве в пределах линейного диапазона применения и достаточном времени счета.

Диапазон применения должен охватывать, по меньшей мере, значения активности от предела количественного определения примесей до 120 % от максимального вводимого (применяемого) количества активности.

2.2.5. Правильность

2.2.5.1. Активность

Правильность следует устанавливать путем сравнения с калиброванными (прослеживаемыми) стандартными образцами или с помощью калиброванного прибора.

2.2.5.2. Радионуклидные примеси

Правильность следует оценивать на образцах с добавлением известных количеств возможных радионуклидных примесей. Если радионуклидные примеси не имеются в наличии, допускается использование калиброванного прибора. Должно быть указано необходимое время счета для выполнения статистической обработки данных по счету и результатов испытания.

2.2.5.3. Радиохимические примеси

Определение правильности должно включать все стадии методики, например, подготовку образца, операции по разделению, расчет величины открываемости и измерение активности.

2.2.5.4. Рекомендации

Правильность оценивают не менее чем для 9 определений при 3 различных концентрациях, охватывающих весь диапазон применения, т. е. 3 концентрации и 3 параллельных определения для каждой концентрации. В случае очень короткого периода полураспада по сравнению с временем анализа допускается выбор другого набора значений, например, в серии повторных измерений, в которых результаты скорректированы с учетом радиоактивного распада.

Правильность выражают величиной открываемости в процентах по результатам определения активности вещества, добавленного в известном количестве в анализируемый образец, или разностью между полученным средним и истинным (опорным) значениями с учетом соответствующих доверительных интервалов.

2.2.6. Прецизионность

Активность и радионуклидные примеси. Для достижения необходимой прецизионности следует устанавливать необходимое время счета и параметры настройки детектора.

2.2.6.1. Повторяемость

Радиохимическая чистота. Повторные испытания проводят (например, 6 нанесений или вводов) в одних и тех же условиях.

Если РФЛП недостаточно стабилен для повторных вводов, повторяемость, промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность и устойчивость (робастность) могут также устанавливаться путем оценки данных характеристик при валидации испытания на химическую чистоту РФЛП. При этом проводят валидацию подготовки и хроматографического анализа образца. Считают, что повторяемость, промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность и устойчивость (робастность) установлены для обнаружения радиоактивности. Если испытание на химическую чистоту не используется, допускается установление указанных характеристик с использованием различных меток.

2.2.6.2. Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность

Степень установления промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности зависит от условий использования аналитической методики. Следует установить влияние случайных факторов на прецизионность аналитической методики. Типичными переменными факторами, подлежащими изучению, являются разные дни, разные аналитики, разное оборудование и т. д. Изучение указанных влияний по отдельности не требуется. При изучении влияния различных факторов предпочтительно использовать планирование эксперимента.

2.2.6.3. Воспроизводимость

Воспроизводимость оценивают в межлабораторных испытаниях. Воспроизводимость следует определять при стандартизации аналитической методики. В случаях, когда образец невозможно направить в более удаленную лабораторию, целесообразно выполнение анализа 2 частей образца в 2 разных лабораториях одного и того же участка (например, лаборатория контроля качества и лаборатория разработки аналитических методик).

2.2.6.4. Рекомендации

Для каждого исследуемого вида прецизионности необходимо указывать стандартное отклонение, относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации) и доверительный интервал.

2.2.7. Предел обнаружения

2.2.7.1. Подход на основе квалифицированного программного обеспечения

Если для обнаружения и количественного определения радиоизотопов используют квалифицированное программное обеспечение, оно может также использоваться для установления предела обнаружения.

При отсутствии квалифицированного программного обеспечения возможны несколько подходов для установления предела обнаружения в зависимости от того, является ли методика инструментальной или неинструментальной. Допускается использование и других подходов.

2.2.7.2. Подход на основе визуальной оценки

Визуальная оценка может использоваться как для неинструментальных, так и инструментальных методов.

Предел обнаружения устанавливают путем анализа образцов с известными концентрациями определяемого вещества (компонента) и оценкой того минимального содержания, при котором определяемое вещество (компонент) может быть достоверно обнаружено.

2.2.7.3. Подход на основе стандартного отклонения для контрольного образца

Измеряют величину аналитического сигнала для достаточного количества контрольных образцов и рассчитывают стандартное отклонение их значений.

Предел обнаружения (ПО) вычисляют по формуле:

$$\text{ПО} = X_b + 3S_b$$

где X_b – аналитический сигнал контрольного образца;

S_b – стандартное отклонение аналитического сигнала контрольного образца.

2.2.7.4. Подход на основе отношения «сигнал/шум»

Данный подход применим только к тем аналитическим методикам, для которых наблюдается шум базовой линии. Определение отношения «сигнал/шум» проводят путем сравнения измеренных значений аналитических сигналов, полученных от образцов с известными низкими концентрациями определяемого вещества (компонента), с аналитическими сигналами, полученными от контрольных образцов, и установления минимальной концентрации, при которой определяемое вещество (компонент) может быть достоверно обнаружено. Для оценки предела обнаружения приемлемой считают величину отношения «сигнал/шум» от 3:1 до 2:1.

2.2.7.5. Рекомендации

Необходимо указывать предел обнаружения и метод его определения.

Если значение предела обнаружения получено путем расчета или экстраполяции, его оценка должна быть подтверждена посредством независимого испытания достаточного количества образцов с содержанием определяемого вещества (компонента), соответствующим пределу обнаружения или близким к нему значению.

2.2.8. Предел количественного определения

2.2.8.1. Подход на основе квалифицированного программного обеспечения

Если для обнаружения и количественного определения радиоизотопов используется квалифицированное программное обеспечение, оно может также использоваться для установления предела количественного определения.

При отсутствии квалифицированного программного обеспечения возможны несколько подходов для установления предела количественного определения в зависимости от того, является ли методика инструментальной или неинструментальной. Допускается использование и других подходов.

2.2.8.2. Подход на основе визуальной оценки

Визуальная оценка может использоваться как для неинструментальных методов, так и для инструментальных.

Предел количественного определения устанавливается путем анализа образцов с известными концентрациями определяемого вещества (компонента) и оценкой того минимального содержания, при котором определяемое вещество (компонент) может быть достоверно определено количественно.

2.2.8.3. Подход на основе стандартного отклонения для контрольного образца

Измеряют величину аналитического сигнала для достаточного количества контрольных образцов и рассчитывают стандартное отклонение их значений.

Предел количественного определения (ПКО) вычисляют по формуле:

$$\text{ПКО} = X_b + 10S_b,$$

где X_b – аналитический сигнал контрольного образца;

S_b – стандартное отклонение аналитического сигнала контрольного образца.

2.2.8.4. Подход на основе отношения «сигнал/шум»

Данный подход применим только к тем аналитическим методикам, для которых наблюдается шум базовой линии. Определение отношения «сигнал/шум» проводят путем сравнения измеренных значений аналитических сигналов, полученных от образцов с известными низкими концентрациями определяемого вещества (компонента), с сигналами, полученными от контрольных образцов, и установления минимальной концентрации, при которой определяемое вещество (компонент) может быть достоверно определено количественно. Обычно отношение «сигнал/шум» составляет 10:1.

2.2.8.5. Рекомендации

Необходимо указывать предел количественного определения и метод его определения.

Предел количественного определения необходимо впоследствии подтвердить путем анализа достаточного числа образцов с содержанием определяемого вещества (компонента), соответствующим пределу количественного определения или близким к нему значению.

2.2.9. Устойчивость (робастность)

Оценку устойчивости (робастности) следует осуществлять на стадии разработки, при этом объем исследований зависит от рассматриваемой аналитической методики. Следует показать надежность анализа при преднамеренных изменениях параметров и условий методики.

Если результаты измерений зависят от изменений в условиях проведения аналитической методики, необходимо строго контролировать соблюдение таких условий или указать меры предосторожности при проведении испытания. В целях обеспечения пригодности аналитической методики при ее использовании одно из заключений проводимой оценки устойчивости (робастности) должно сводиться к установлению серий параметров пригодности системы (например, испытание на разрешение).

Активность и радионуклидные примеси. Исследуют факторы, способные влиять на результаты испытаний, например, геометрия измерений, время счета, матричные эффекты и экранирование.

Радиохимическая чистота. Исследуют факторы, влияющие на результаты испытаний, например, материал колонки, скорость потока подвижной фазы, чистота подвижной фазы, соотношение компонентов подвижной фазы, материал ТСХ-пластинок, активирование ТСХ-пластинок (или его отсутствие), рН, температура, наносимый объем пробы, сушка (или ее отсутствие) применяемых ТСХ-пластинок и продолжительность (время) хроматографирования. Необходимо учитывать стабильность используемых растворителей.

2.2.10. Оценка пригодности системы

Оценка пригодности системы является неотъемлемой частью многих аналитических методик. Эти испытания основаны на положении, что оборудование,

электронная техника, аналитические операции и анализируемые образцы составляют целостную систему и требуют оценки в качестве таковой. Критерии пригодности системы должны быть установлены для конкретной методики и зависят от типа валидируемой аналитической методики. Дополнительная информация изложена в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*.

2.3. ОСОБЕННОСТИ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИК ИСПЫТАНИЙ РФЛП, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ФАРМАКОПЕЕ СОЮЗА

В данном разделе настоящего руководства приведены положения, имеющие важное значение при валидации аналитических методик и отражающие особенности ее выполнения для РФЛП. Изложенные положения должны использоваться в неразрывной связи с общими методами испытаний Фармакопеи Союза и требованиями к валидации, указанными выше.

2.3.1. Определение pH

Данное испытание используют для проверки приемлемости значения pH раствора для разработанной химической формы радионуклида и его соответствия физиологическим пределам. Для определения pH допускается применение как индикаторной бумаги, так и pH-метра. Важно, чтобы:

- прецизионность и правильность результатов соответствовали требуемому пределу;
- выбранная методика подходила для рассматриваемого РФЛП и отсутствовали помехи, вызванные, например, наличием растворителей, или высокой радиоактивностью в случае определения с применением электродов, или окраской растворов или коллоидов при использовании индикаторной бумаги.

2.3.2. Гамма-спектрометрия

Гамма-спектрометрию применяют для идентификации радионуклида, определения активности и радионуклидной чистоты.

Применение гамма-спектрометрии требует выполнения соответствующей калибровки прибора по энергии и эффективности. К переменным величинам, влияющим на результаты спектрометрии, относят тип и размер используемого детектора, геометрию образцов, состав образцов и геометрию «источник/детектор». Калибровка прибора для гамма-спектрометрии описана в общей фармакопейной статье *Обнаружение и измерение радиоактивности*. Ниже приводятся особые

указания, необходимые для калибровки прибора. Предполагается, что параметры настройки детектора и условия счета зафиксированы.

Идентификация радионуклида. Идентификацию радионуклида обычно проводят путем сравнения спектра энергии исследуемого образца со стандартным спектром для стандартного источника радионуклида или с табличными значениями (Приложение *Таблица физических характеристик радионуклидов, указанных в Фармакопее Союза*) для основного радионуклида в РФЛП.

Валидационные характеристики устанавливают в соответствии с приведенными ниже указаниями.

Специфичность определяют при существовании возможного риска ошибочной идентификации, вызванной присутствием других радионуклидов с тем же или близким к нему значением энергии.

Активность. Определение активности обычно осуществляют путем сравнения активности исследуемого образца с установленным значением активности стандартного образца или с использованием прибора, откалиброванного с помощью такого стандартного образца.

Валидационные характеристики устанавливают в соответствии с приведенными ниже указаниями.

Правильность оценивают путем сравнения с прослеживаемыми стандартными образцами или образцами, стандартизированными при измерении на калиброванном приборе.

Прецизионность оценивают путем повторных измерений активности образца, содержащего исследуемый радионуклид в заявленном диапазоне активности, в указанных условиях счета.

Специфичность определяют, если радионуклидные примеси в РФЛП могут оказывать влияние на результат, для решения о необходимости коррекции в отношении примесей.

Линейность. Аналитический сигнал детектора должен быть линейным в пределах диапазона применения.

Диапазон применения (аналитическая область) должен охватывать, по меньшей мере, значения активности от предела количественного определения до 120 % от максимальной обнаруживаемой активности. Диапазон применения устанавливают на основе правильности, прецизионности и линейности.

Устойчивость (робастность). Исследуют влияние изменений в геометрии «источник/детектор», поглощение матрицы, мертвое время, фоновый сигнал и суммирование совпадающих сигналов.

Радионуклидная чистота. Валидационные характеристики устанавливают в соответствии с приведенными ниже указаниями.

Правильность. При отсутствии подходящих стандартных образцов радионуклидных примесей возможна калибровка с многопиковым источником (см. общую фармакопейную статью *Обнаружение и измерение радиоактивности*) при условии, что оборудование квалифицировано для соответствующего диапазона активности. Зависимость аналитического сигнала от энергии следует отразить графически.

Прецизионность устанавливают в соответствии с указаниями при определении активности.

Специфичность определяют при возможности обнаружения всех потенциальных примесей в указанных условиях счета. Следует обосновать необходимость измерений после распада основного радионуклида до количества, позволяющего обнаружить возможные примеси.

Предел обнаружения, предел количественного определения или минимальную обнаруживаемую активность определяют в указанных условиях аналитической методики.

Линейность устанавливают в соответствии с указаниями при определении активности.

Диапазон применения (аналитическая область) для отдельной радионуклидной примеси должен составлять от 50 % до 120 % от указанного предела.

Устойчивость (робастность) устанавливают в соответствии с указаниями при определении активности.

2.3.3. Подсчет общего количества бета-частиц и бета-спектрометрия

Для определения чистой активности бета-излучателей и радионуклидной чистоты проводят подсчет общего количества бета-частиц и бета-спектрометрию.

Ввиду непрерывной формы бета-спектра идентификация радионуклидов, основанная только на спектрометрии, не всегда является точной. Тем не менее, определение активности может проводиться путем выделения соответствующего радионуклида с последующим подсчетом общего количества бета-частиц. Определенную информацию можно также получить, исходя из среднего и (или) максимального значения энергии бета-частиц на спектре и анализа изменения скорости счета бета-частиц со временем.

Использование подсчета общего количества бета-частиц и метода бета-спектрометрии требует надлежащей подготовки источника, определения выхода выделенного радионуклида и эффективности калибровки прибора. Переменные

величины, влияющие на результаты спектрометрии, включают тип и размер используемого детектора, геометрию образца и геометрию «источник/детектор». Калибровка прибора для подсчета бета-частиц и метод спектрометрии описаны в общей фармакопейной статье *Обнаружение и измерение радиоактивности*. Ниже приводятся специальные положения, требующие учета, помимо калибровки оборудования. Предполагается, что параметры настройки детектора и условия счета зафиксированы.

Идентификация радионуклида. Определение активности испытуемого радионуклида следует проводить по следующим этапам:

- химическое выделение испытуемого радионуклида, если применимо;
- подготовка подходящих источников для подсчета бета-частиц (т.е. твердотельные источники в 2 π -геометрии, жидкие сцинтилляционные источники);
- подсчет общего количества бета-частиц или бета-спектрометрия.

Специфичность. Необходимо учитывать риск перепутывания испытуемого радионуклида с другими радионуклидами с тем же или сходным максимальным значением энергии бета-частиц. Подтверждающую информацию получают путем применения гамма-спектрометрии или определения приблизительного периода полураспада.

Активность. Применяют положения, аналогичные для гамма-спектрометрии.

Радионуклидная чистота. Применяют положения, аналогичные для гамма-спектрометрии.

2.3.4. Альфа-спектрометрия

Использование альфа-спектрометрии требует надлежащей подготовки источника, определения выхода выделенного радионуклида и эффективности калибровки прибора. Альфа-частицы обладают высокой энергией, но имеют короткий диапазон распространения. Хотя для облегчения обнаружения альфа-частиц принимают меры предосторожности, определение значений энергии альфа-частиц, соответствующих данным литературы, может быть затруднительным.

Калибровка прибора для подсчета альфа-частиц и метод спектрометрии описаны в общей фармакопейной статье *Обнаружение и измерение радиоактивности*. Ниже приводятся специальные положения, требующие учета, помимо калибровки прибора. Предполагается, что параметры настройки детектора и условия счета зафиксированы.

При измерениях, проводимых с образцами сравнения для оценки калибровочного коэффициента, необходимо обеспечить их сходство с неизвестным образцом. Для минимизации матричных эффектов образцы должны быть высушенными и содержать минимальное количество твердых остатков. Различия в этих параметрах могут влиять на затухание альфа-частиц и поглощение энергии матрицей и, таким образом, уменьшать точность спектра альфа-частиц.

Предел обнаружения и предел количественного определения. В альфа-спектрометрии предел обнаружения и предел количественного определения зависят от типа детектора, используемого положения образца и времени, затрачиваемого на проведение анализа. Система программного обеспечения альфа-детекторов на откалиброванной системе детектирования может использовать обнаруженные значения энергии альфа-частиц для оценки наиболее вероятного радионуклида (радионуклидов) в образце и количества его активности (в беккерелях). Однако вследствие матричных эффектов достоверность такого программного обеспечения должна быть изучена и обоснована. Для сложных спектров с несколькими альфа-излучателями, имеющими несколько значений энергии альфа-частиц, полученные результаты должны анализироваться опытными исследователями (аналитиками). Фактический предел количественного определения будет зависеть от сложности полученного спектра и должен быть установлен в каждом отдельном случае.

Идентификация радионуклида. Определение активности испытуемого радионуклида следует проводить по следующим этапам:

- химическое выделение испытуемого радионуклида, если применимо;
- подготовка подходящих источников для подсчета альфа-частиц;
- альфа-спектрометрия.

Активность. Применяют положения, аналогичные для гамма-спектрометрии.

Радионуклидная чистота. Применяют положения, аналогичные для гамма-спектрометрии.

Большинство альфа-излучателей имеют дочерние гамма-излучатели. Ввиду сложности альфа-спектрометрии рекомендуется использование гамма-спектрометрии и проведение не прямых измерений как при идентификации радионуклидов, так и определении радионуклидной чистоты и активности. Применяемые методики должны быть валидированы соответствующим образом.

2.3.5. Методы разделения

Для идентификации и количественного определения примесей могут использоваться различные методы хроматографии (ТСХ, БХ и ЖХ). Используемые методики должны быть валидированы в соответствии с описанными выше принципами. Однако при подготовке протокола валидации некоторые аспекты хроматографических методик, связанные с особенностями РФЛП, требуют специального рассмотрения (см. ниже).

Полное элюирование (сравнение ЖХ и ТСХ/БХ). Для разработки (валидации) методики определения радиохимической чистоты необходимо показать, что при использовании ЖХ все радиохимические соединения элюируются из колонки. Полнота элюирования может быть достигнута путем измерения активности на колонке после завершения хроматографического разделения (в случае гамма-излучателей) или путем сравнения количеств введенной и элюированной активности (способом расчета) в случае, если излучение не проникает через стенку колонки.

В случае ТСХ проведение такой процедуры становится необязательным, так как активность остается на пластинке и полностью определяется на ней. Однако при этом следует учитывать возможность образования летучих радиоактивных примесей, используя сведения о способе синтеза.

Разделение. В отличие от большинства классических случаев применения ТСХ с визуальной проверкой пластинок распределение активности на ТСХ-пластинке устанавливается с помощью детектора радиоактивности. Полученное графическое изображение аналогично хроматограмме ЖХ. В хроматограммах ТСХ и ЖХ пики предпочтительно должны иметь разделение на базовой линии. Испытание на пригодность системы, определяющее разрешение, должно быть разработано и проверено в процессе валидации. Если разделение на базовой линии не может быть достигнуто, в качестве критерия может использоваться испытание на пригодность системы с помощью отношения «пик/впадина». Для испытаний методом ТСХ, использующихся только для идентификации РФЛП, испытания на пригодность системы не требуются в частной фармакопейной статье. Однако при разработке испытания должно быть доказано, что метод действительно способен различать родственные вещества (например, исходное вещество и готовый продукт).

Количественная оценка методом интегрирования. Хотя большинство испытаний на радиохимическую чистоту является испытаниями на предельное содержание (по отношению к площади другого пика), а пики должны быть интегрированы для сопоставления площади пика с площадью пика сравнения, для

количественной оценки примесей применяют такие валидационные характеристики, как предел обнаружения, предел количественного определения и линейность.

Количество активности, используемое для определения радиохимической чистоты, требует тщательного подбора во избежание превышения линейности аналитического сигнала детектора при высоких уровнях активности и ограничения влияния фонового сигнала при очень низких уровнях активности (отношение «сигнал/шум»).

Необходимо описать параметры или методы интегрирования, особенно при отсутствии разделения пиков на базовой линии, чтобы обеспечить корректность расчетов правильного пика (например, пик на заднем фронте другого пика). Параметры интегрирования могут быть валидированы с помощью одной и той же хроматограммы, которая независимо исследуется несколькими аналитиками.

Хроматограммы, полученные с помощью валидированных аналитических методик, следует оценивать на неоднородность перед их интегрированием, так как фактическая эффективность испытания может зависеть от переменных величин в этом испытании.

Предпочтительно, чтобы ТСХ-хроматограммы были отсканированы, а площади пиков определялись путем интегрирования. Нарезание ТСХ-полосок считается устаревшим и нецелесообразным к использованию.

Использование подходящего детектора. При разработке методики испытания на радиохимическую чистоту следует подобрать подходящий детектор. Для разных радионуклидов могут потребоваться различные типы детекторов.

Для каждой системы необходимо определить линейность аналитического сигнала детекторов, а также предел обнаружения и предел количественного определения (общая фармакопейная статья *Обнаружение и измерение радиоактивности*).

Фоновый сигнал. Следует обеспечить сходство условий окружающей среды при фактическом испытании РФЛП с условиями при валидации испытания. Например, различие в фоновом сигнале может изменить чувствительность методики.

2.3.5.1. Тонкослойная хроматография

Данный метод хроматографии широко используется в Фармакопее Союза для идентификации с использованием стандартного образца и для ограничения содержания примесей с использованием или без использования стандартного образца. Для количественного определения примесей необходимо применение соответствующего прибора. В качестве неподвижной фазы в большинстве случаев используют кремния диоксид, но также применяют обращенно-фазовые типы,

например, силанизированный силикагель или неподвижные фазы на основе целлюлозы. Тем не менее, при применении метода ТСХ для идентификации или испытания на родственные примеси необходимо подтверждение следующих общих положений.

Специфичность. Принято считать, что специфичность при идентификации не может быть достигнута только применением метода ТСХ, хотя при этом можно ожидать достаточную избирательную способность метода. Испытание должно проводиться с дополнительным применением других методов, которые в комплексе обеспечивают специфичность. Специфичность не может быть достигнута данным методом в испытаниях на предельное содержание примесей, что требует использования другого испытания (испытаний) для контроля неразделенных примесей. Необходимо подтвердить избирательную способность метода.

Неподвижная фаза. Необходимо подтвердить, что испытание может проводиться с использованием пластинок одного и того же типа, но различной природы. По возможности не следует проводить разделение с использованием только одного конкретного типа пластинок.

Обработка материалов. Методика испытания должна четко описывать способ хранения и подготовки (например, активирование пластинок путем предварительного нагрева) материалов (особенно ТСХ-пластинок), поскольку это может влиять на эффективность испытания. Степень варибельности, допустимая при хранении и подготовке ТСХ-пластинок, должна быть исследована при валидации методики.

Испытание эффективности системы (испытание на пригодность системы). Такое испытание обычно проводят для проверки разделения двух близко элюирующихся веществ – самого вещества и схожего по структуре вещества (критическая пара). Следует подтвердить, что разделение выбранных веществ обеспечивает пригодность хроматографической системы. Данный критерий эффективности необходим для испытания на радиохимические примеси.

При применении метода ТСХ для испытания на радиохимические примеси необходимо документальное подтверждение следующих дополнительных положений.

Обработка зон абсорбции. Немедленное извлечение пластинки из камеры с растворителем после завершения хроматографирования, сушка в потоке теплого воздуха, сушка на воздухе.

Предел обнаружения. При применении инструментальной процедуры для количественного определения примеси методом ТСХ предел обнаружения рассчитывают одним из описанных методов. При использовании визуального метода необходимо подтвердить возможность обнаружения количества примеси, соответствующего указанному пределу.

Предел количественного определения, линейность, диапазон применения (аналитическая область) и повторяемость. При применении инструментальной процедуры для количественного определения примесей методом ТСХ дополнительно требуется определение указанных характеристик.

2.3.5.2. Жидкостная хроматография

Метод ЖХ обычно используют для идентификации рассматриваемого компонента в РФЛП и определения содержания примесей. Следует обратить внимание на ряд положений, относящихся к методу ЖХ. Некоторые из этих положений связаны только с исследованием нерадиоактивных соединений (например, коэффициентов чувствительности).

Идентификация. Обычно идентификацию проводят путем сравнения времени удерживания радиоактивного соединения с временем удерживания нерадиоактивного аналога.

Специфичность. Принято считать, что специфичность при идентификации не может быть достигнута только применением метода ЖХ, хотя при этом можно ожидать достаточную избирательную способность метода. Испытание должно проводиться с дополнительным применением других методов, которые в комплексе обеспечивают специфичность. Избирательная способность должна быть подтверждена значениями времени удерживания, относительного удерживания примесей и самого вещества, которые должны указываться в частной фармакопейной статье. Такие сведения должны предоставляться для различных неподвижных фаз аналогичного типа и разных марок.

Испытание на предельное содержание примесей. Валидационные характеристики устанавливают в соответствии с приведенными ниже указаниями.

Специфичность определяют с помощью следующих характеристик:

- *избирательная способность разделения.* Необходимо подтвердить разделение известных и возможных примесей от определяемого вещества и, по возможности, друг от друга. Необходимо указывать значения времени

удерживания, относительного удерживания примесей и самого вещества. Такие сведения должны предоставляться для различных неподвижных фаз аналогичного типа и разных марок;

- *избирательная способность системы детектирования.* Необходимо подтвердить выбор детектора и условий детектирования.

Предел обнаружения и предел количественного определения должны быть определены для внешнего стандарта, который получают либо из испытуемого вещества, либо из известной примеси путем последовательного разведения их растворов. Если пик примеси появляется вблизи пика определяемого вещества, особенно после него, для этой примеси должны быть установлены предел обнаружения и предел количественного определения. Для их определения применяют один из описанных методов расчета.

Стабильность. Следует предоставить данные, подтверждающие период применения раствора сравнения и испытуемого раствора.

Открываемость. При использовании процедуры экстракции проводят в оптимальных условиях опыты по определению величины открываемости с использованием имеющихся в наличии известных примесей. Следует подтвердить, что полученные значения величины открываемости обеспечивают приемлемую правильность и прецизионность.

Испытание на пригодность системы. Указания аналогичны приведенным для метода ТСХ. Использование отношения «сигнал/шум» требуется только при условии близости предела обнаружения к регламентируемому пределу.

Испытания на предельное содержание примесей должны быть валидированы на линейность, повторяемость и воспроизводимость, как описано выше.

2.3.6. Активность

Излучение, испускаемое радионуклидом, происходит независимо от химической формы, в которой присутствует радионуклид, и в большинстве случаев независимо от присутствия других химических веществ в РФЛП. Поэтому валидация измерения активности не является специфичной для РФЛП, но специфична для рассматриваемого радионуклида в предлагаемых условиях измерения активности (подготовка образца, прибор и параметры его работы, геометрические условия измерения, время счета и т. д.). Согласно этому положению валидация измерения активности не требуется для каждого РФЛП, но необходима для каждого радионуклида. Единственным исключением из этого принципа является

необходимость валидации предлагаемого комплекса условий измерения для конкретного РФЛП с учетом возможного воздействия радионуклидных примесей, способных препятствовать измерению, поскольку их присутствие будет зависеть от способа получения радионуклида. В некоторых случаях возможное воздействие других веществ, присутствующих в РФЛП, может оказаться специфичным для РФЛП, что также требует его учета (например, присутствие гасящих излучение веществ при использовании жидкостных сцинтилляционных детекторов).

На практике измерение активности осуществляется с использованием прослеживаемых стандартных образцов или измерительных приборов, откалиброванных с помощью подходящих стандартных образцов для испытуемого радионуклида (радионуклидов). Вследствие изменения активности со временем все измерения должны быть скорректированы на время распада.

При использовании в измерениях прослеживаемого стандартного образца его пригодность для предполагаемого радионуклида и уровня активности должна быть подтверждена.

При использовании прибора, откалиброванного самим изготовителем, пользователь должен иметь соответствующую информацию о процедурах калибровки и ее результатах для решения вопроса о пригодности прибора для предполагаемого измерения (измерений).

Если калибровка проводится собственными силами пользователя, следует подтвердить пригодность процедуры калибровки и предоставить ее результаты.

При использовании ионизационной камеры следует учитывать время сигнала, необходимое для обеспечения стабильного считывания в установленном диапазоне активности.

Измерения активности с использованием твердотельных детекторов особенно чувствительны к геометрии счета. Большинство твердотельных счетчиков откалиброваны по энергии, что позволяет пользователю выбрать энергетическое окно, подходящее для предполагаемого радионуклида. Значения времени счета, необходимые для получения достоверных показаний, следует устанавливать для предполагаемого радионуклида в пределах установленного диапазона активности.

Правильность следует устанавливать в пределах указанного диапазона применения (аналитической области) методики количественного определения. Если прибор не откалиброван для рассматриваемого радионуклида, правильность следует устанавливать с использованием прослеживаемых стандартных образцов.

Прецизионность определяют с помощью следующих характеристик:

- *повторяемость*, которую следует устанавливать путем повторного измерения образцов в тех же рабочих условиях в течение короткого промежутка времени по сравнению с периодом полураспада радионуклида;
- *промежуточная прецизионность*, которая может устанавливаться путем измерения активности образца на разных приборах (при наличии), разными аналитиками в течение промежутка времени, достаточно длительного для случайных изменений, но короткого по сравнению с периодом полураспада радионуклида.

Специфичность. Для надежности измерения активности необходимо, чтобы испытания на радионуклидную чистоту исключали присутствие соответствующих количеств возможных радионуклидных примесей, пока их влияние на результаты измерения остается неизученным.

Линейность может быть подтверждена в соответствии с указаниями общей фармакопейной статьи *Обнаружение и измерение радиоактивности*.

Диапазон применения (аналитическую область) устанавливают на основе результатов определения линейности, правильности и прецизионности.