

## ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ВОПРОСЫ ОЦЕНКИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНОЙ СИСТЕМЫ ЕАЭС

О.Б. Устинникова\*, И.М. Щербаченко, О.Н. Колесникова, Д.Д. Макарищева,  
Ю.Е. Исакина, О.Б. Рунова

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России  
127051, Российская Федерация, Москва, Петровский б-р, 8/2

Обзор посвящён рассмотрению проблемных вопросов гармонизации фармакопейных подходов к оценке основных физико-химических показателей качества иммунобиологических лекарственных препаратов в условиях формирования регуляторной системы Евро-Азиатского экономического союза и выполнения задач по обеспечению независимости фармацевтического рынка Российской Федерации. В качестве основных физико-химических показателей качества, для оценки которых предусмотрены отечественные и международные фармакопейные методики, были выбраны наиболее значимые показатели: «Белок», «Электрофоретическая однородность», «Молекулярные параметры», характеризующие препараты иммуноглобулинов человека, и показатели «Тиомерсал», «Фенол», «Алюминий», характеризующие качество вакцин и анатоксинов.

Проблемным аспектом гармонизации вышеуказанных методических подходов к оценке того или иного показателя являются исторически сложившиеся различия в требованиях и рекомендациях Государственной фармакопеи Российской Федерации и Европейской фармакопеи, признанной в качестве базовой при разработке гармонизированных требований фармакопеи Евро-Азиатского экономического союза. Данные различия касаются методик, норм по конкретному показателю и подходов к их метрологическому обеспечению (использованию соответствующих контрольных/стандартных образцов). В ходе исследования был проведён сравнительный анализ данных различий; отмечена тенденция перехода большинства производителей на применение методик с использованием высокотехнологичного лабораторного оборудования, ориентированного на методы высокоэффективной жидкостной и/или газовой хроматографии, атомно-абсорбционной спектроскопии; приведена информация о разработке данных методик и наличии соответствующих стандартных образцов. В результате сравнительного анализа сделаны выводы об актуальности разработки и аттестации фармакопейных стандартных образцов для гармонизированных методик определения белка, электрофоретической однородности и молекулярных параметров. Показаны подходы к расширению области применения имеющихся фармакопейных стандартных образцов с учётом использования новых высокотехнологичных методик контроля качества вакцин и анатоксинов по количественному содержанию консервантов и адъювантов. Отмечена ориентированность российской лабораторной фармацевтической практики на специфику иммунобиологических препаратов и использование фармакопейных стандартных образцов, обеспечивающих организацию внутрилабораторного контроля качества испытаний и согласованность результатов разных лабораторий.

**Ключевые слова:** иммунобиологические лекарственные препараты, стандартные образцы, физико-химические показатели качества

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР № 124022200103-5).

**Для цитирования:** Устинникова О.Б., Щербаченко И.М., Колесникова О.Н., Макарищева Д.Д., Исакина Ю.Е., Рунова О.Б. Перспективные вопросы оценки физико-химических показателей качества иммунобиологических лекарственных препаратов в условиях формирования регуляторной системы ЕАЭС. *Биомедицина*. 2024;20(3Е):117–128. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-117-128>

Поступила 05.08.2024

Принята после доработки 26.08.2024

Опубликована 01.11.2024

## ISSUES OF PHYSICOCHEMICAL QUALITY ASSESSMENT OF IMMUNOBIOLOGICAL MEDICINAL PRODUCTS IN THE CONTEXT OF FORMATION OF A REGULATORY SYSTEM IN THE EURASIAN ECONOMIC UNION

**Olga B. Ustinnikova\*, Irina M. Shcherbachenko, Oksana N. Kolesnikova,  
Daria D. Makarishcheva, Julia E. Isakina, Olga B. Rounova**

*Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia  
127051, Russian Federation, Moscow, Petrovsky Boulevard, 8/2*

In this study, we consider problematic issues associated with harmonization of pharmacopoeial approaches to the assessment of the main physicochemical indicators of immunobiological medicinal products in the context of formation of a regulatory system of the Euro-Asian Economic Union (EAEU) with the purpose of ensuring the independence of the pharmaceutical market of the Russian Federation. Among the selected quality indicators of human immunoglobulin preparations, which are used in national and international pharmacopoeial standards, were selected the following: “Protein”, “Electrophoretic homogeneity”, and “Molecular parameters”. “Thiomersal”, “Phenol”, and “Aluminum” were selected to assess the quality of vaccines and anatoxins.

The harmonization of the above methodological approaches to the assessment of a particular indicator is hampered by the historically evolved differences in the requirements and recommendations of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation and the European Pharmacopoeia, recognized as the basis for the development of harmonized requirements of the EAEU pharmacopoeia. These differences relate to methodologies, standards for a particular indicator, and approaches to their metrological support (use of appropriate reference materials). In the course of the study, a comparative analysis of these differences was carried out. The tendency of most manufacturers to switch to the use of high-tech laboratory equipment based on high-performance liquid and/or gas chromatography and atomic absorption spectrometry is noted. Information on the development of these methods and the availability of appropriate reference materials is provided. The conducted comparative analysis indicates the relevance of the development and certification of pharmacopoeial reference materials for harmonized methods of determination of protein, electrophoretic homogeneity, and molecular parameters. Approaches to extending the application range of available pharmacopoeial reference materials are shown, taking into account the potential of improved methods of quality control of vaccines and anatoxins by quantitative content of preservatives and adjuvants. The Russian laboratory pharmaceutical practice is focused on the specifics of immunobiological preparations and the use of pharmacopoeial reference materials that enable intra- and inter-laboratory quality testing.

**Keywords:** immunobiological medicinal products, reference materials, physicochemical quality assessment

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**Funding:** the study was carried out as part the state assignment of the Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia No. 056-00026-24-00 for conducting applied scientific research (No. 124022200103-5).

**For citation:** Ustinnikova O.B., Shcherbachenko I.M., Kolesnikova O.N., Makarishcheva D.D., Isakina Ju.E., Rounova O.B. Issues of Physicochemical Quality Assessment of Immunobiological Medicinal Products in the Context of Formation of a Regulatory System in the Eurasian Economic Union. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):117–128. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-117-128>

Submitted 05.08.2024

Revised 26.08.2024

Published 01.11.2024

## Введение

Иммунобиологические лекарственные препараты — вакцины, анатоксины, анти-токсические сыворотки, а также препараты иммуноглобулинов, полученные из плазмы крови человека, сегодня востребованы на фармацевтическом рынке, несмотря на развитие современных технологий получения терапевтических белков. На протяжении нескольких десятилетий данные препараты являются незаменимыми для лечения и профилактики тяжёлых патологических состояний, входят в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения» (распоряжение Правительства РФ № 2406-р от 12.10.2019 г.) и формируют «Национальный календарь профилактических прививок» и «Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям» (Приказ Минздрава России № 1122н от 06.12.2021 г.).

Ввод в гражданский оборот иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) регламентирован постановлением Правительства РФ «О порядке ввода в гражданский оборот лекарственных препаратов для медицинского применения», согласно которому предполагается выдача заключения о соответствии каждой серии или партии ИЛП требованиям, установленным при его государственной регистрации (Постановление № 1510 от 26.11.2019 г.).

Основным источником нормативно-регуляторных требований к качеству ИЛП является Государственная фармакопея РФ (ГФ РФ), в которой изложены фармакопейные статьи, содержащие требования к обяза-

тельной номенклатуре показателей качества препаратов, методам их контроля, нормам и используемым стандартным образцам.

Переход к наднациональной регуляторной системе ЕАЭС в области обращения лекарственных средств во многом обусловлен положениями фармакопеи ЕАЭС, которая в части требований к ИЛП в настоящее время только формируется. В основу формирования фармакопеи ЕАЭС заложен принцип гармонизации требований стран-членов Союза. Согласно решению Коллегии Евразийской экономической комиссии «О концепции гармонизации фармакопей государств — членов Евразийского экономического союза» в качестве базовой признана Европейская фармакопея (EPH) (Решение № 119 от 22.09.2015 г.).

Кроме того, согласно Стратегии «Фарма-2030», положениям постановления Правительства РФ и приказу Минздрава России, курс на обеспечение независимости фармацевтического рынка РФ в условиях санкционной политики диктует необходимость разработки национальных фармакопейных стандартных образцов, являющихся полноценной заменой используемым ранее международным образцам (распоряжение Правительства РФ № 1495-р от 07.06.2023 г.; Постановление № 440 от 23.03.2022 г.; приказ № 202 от 20.03.2020 г.).

**Цель исследования** — анализ существующей системы оценки физико-химических показателей качества иммунобиологических лекарственных препаратов в условиях формирования гармонизированных требований фармакопеи ЕАЭС и обеспечения независимости фармацевтического рынка РФ.

Система оценки физико-химических показателей качества ИЛП, сформированная одновременно с введением в практику здравоохранения ИЛП, постоянно развивается. Данная система представляет собой комплекс нормативно-регуляторных документов, включая, с одной стороны, фармакопейные требования, и с другой — совокупность методик и соответствующих стандартных образцов.

Номенклатура физико-химических показателей качества индивидуальна для каждого типа препаратов и регламентирована фармакопейными требованиями. При этом для ряда основных показателей, играющих ключевую роль в обеспечении безопасности и эффективности ИЛП, регламентированы фармакопейные методики, изложенные в ГФ РФ в форме общих фармакопейных статей и/или в Европейской фармакопее в форме монографий.

К числу основных физико-химических показателей качества, для оценки которых предусмотрены фармакопейные методики, относятся: «Белок», «Электрофоретическая однородность», «Молекулярные параметры», «Тиомерсал», «Фенол», «Алюминий».

Проблемным аспектом гармонизации методических подходов к оценке того или иного показателя являются различия в методиках, изложенных в ГФ РФ и ЕРh, и в подходах к их метрологическому обеспечению (использование соответствующих контрольных/стандартных образцов).

### ***Препараты иммуноглобулинов человека***

Препараты иммуноглобулинов человека (ИГЧ), полученные из плазмы крови человека, незаменимы в терапии первичных и вторичных иммунодефицитных состояний, аутоиммунных заболеваний, а также широко используются для профилактики и лечения целого ряда вирусных и бактериальных инфекций [6, 11, 14, 16–19, 21].

Согласно международным и отечественным фармакопейным требованиям, одним из обязательных физико-химических

показателей качества, обеспечивающих безопасность и эффективность препаратов ИГЧ, являются «Электрофоретическая однородность», «Молекулярные параметры» и «Белок». Данные показатели нормируют общее содержание целевого белка и его состав: допустимое суммарное содержание нецелевых белков сыворотки крови человека — альбумина,  $\alpha$ -,  $\beta$ -глобулинов и молекулярно-массовое распределение белков и пептидов, составляющих  $\gamma$ -глобулиновую целевую фракцию (ГФ РФ XIV ОФС.1.8.1.0003.15, ФС.3.3.2.0007.15, ФС.3.3.2.0008.15; ЕРh 11.6. Monographs 04/2024:0918, 04/2024:0338, 04/2024:2788).

Нормы содержания белка в препаратах ИГЧ, установленные ГФ РФ, могут быть различны в зависимости от типа иммуноглобулина и в целом охватывают диапазон от 4,5 до 16%. Требования ЕРh также нормируют содержание белка в зависимости от типа препарата и охватывают диапазон от 3 до 22%.

В соответствии с требованиями ГФ РФ определение показателя качества «Белок» в препаратах ИГЧ проводят колориметрическим методом с биуретовым реактивом в соответствии с ОФС.1.8.2.0010.18 «Количественное определение белка колориметрическим методом с биуретовым реактивом в препаратах крови человека и животных». Методика предполагает наличие стандартного образца (СО), аттестованная характеристика которого представлена в виде номинальной величины, позволяющей проводить расчёт количественного содержания белка в испытуемом образце относительно стандартного. В качестве СО большинство отечественных производителей используют фармакопейный стандартный образец (ФСО) содержания белка в иммуноглобулине (ФСО.3.1.00340) [6].

Согласно требованиям ЕРh, определение белка в препаратах ИГЧ рекомендуется проводить с помощью минерализации серной кислотой с последующим расчётом ко-

личественного содержания белка по содержанию азота (EPH 11.6, monograph 2.5.9). Большинство зарубежных производителей препаратов ИГЧ, зарегистрированных в РФ, используют метод Кьельдаля с применением автоматических анализаторов азота. Стандартный образец для расчёта количественного содержания белка в данных методиках не требуется, поскольку расчёт ведётся по раствору сульфата (хлорида) аммония, приготовленного по точной навеске или количеству титранта.

При формировании требований фармакопии ЕАЭС к определению белка в препаратах ИГЧ предполагается использование метода Кьельдаля. При использовании данного метода необходимо учитывать требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий в части оценки неопределённости измерений (ГОСТ ISO/IEC 17025-2019), а также обеспечения внутрилабораторного контроля качества (РМГ 76-2014). Кроме того, для данного показателя необходимо обеспечить согласованность результатов, полученных в контрольно-аналитических лабораториях производителей и сторонних лабораториях, проводящих экспертную оценку или оценку соответствия качества. В качестве метрологического инструмента, обеспечивающего ВКК и согласованность результатов, целесообразно разработать и аттестовать ФСО, с присвоением аттестованной характеристики в виде установленного диапазона величин (ФСО правильности).

В соответствии с ГФ РФ определение показателя «Электрофоретическая однородность» проводят по методике, указанной в ОФС.1.8.2.0009.15 «Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на плёнках их ацетата целлюлозы». Согласно данной ОФС (общей фармакопейной статье), для препаратов иммуноглобулинов для внутримышечного и внутривенного введения требование к со-

держанию целевого белка составляет не менее 95% от общего белка. Учёт результатов электрофоретического разделения предусматривает, что «...идентификацию белковых фракций проводят путём сравнения электрофореграммы испытуемых образцов с электрофореграммой контрольной сыворотки для контроля качества электрофоретического разделения белковых фракций». В качестве контрольной сыворотки ранее в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России был аттестован ФСО.3.1.00443, предназначенный для оценки пригодности системы при определении электрофоретической однородности/подлинности препаратов из сыворотки крови человека методом электрофореза на мембранах из ацетата целлюлозы с дальнейшим денситометрическим определением белковых фракций. В качестве исходного материала для аттестации использовали нормальную сыворотку крови человека для диагностических целей, полученную из плазмы человека путём центрифугирования с 1% р-ром кальция хлорида. Аттестованная характеристика составляла: альбумины — 46,58–59,18%;  $\alpha$ 1-глобулин — 3,06–6,08%;  $\alpha$ 2-глобулин — 6,44–9,64%;  $\beta$ -глобулин — 10,40–13,84%;  $\gamma$ -глобулин — 18,39–26,35%. Аналогичный международный (европейский) стандартный образец отсутствует.

На сегодняшний день большинство отечественных производителей препаратов иммуноглобулинов используют оборудование УЭФ-01-«Астра» и набор реагентов «КлиниТест-ЭФ», в состав которого входит контрольная сыворотка. Учёт результатов при использовании данной контрольной сыворотки аналогичен результату, получаемому при использовании ФСО.3.1.00443: возможность идентификации каждого из 5 компонентов сыворотки (альбумина,  $\alpha$ 1-глобулина,  $\alpha$ 2-глобулина,  $\beta$ -глобулина,  $\gamma$ -глобулина) в нормируемом диапазоне согласно сертификату на конкретную серию контрольной сыворотки. В связи с этим



ФСО.3.1.00443 в настоящее время не проходит переаттестацию и/или аттестацию новой серии.

Согласно требованиям EPh, показатель, характеризующий чистоту  $\gamma$ -глобулиновой фракции от посторонних сывороточных белков, носит название «Protein composition» и определяется методом зонального электрофореза, где в качестве носителя могут быть использованы агарозный гель или ацетатцеллюлозные пластины. Требования к содержанию примесных белков следующие: «На электрофореграмме испытуемого раствора не более 10% белков должны иметь подвижность, отличную от подвижности основной полосы» (для иммуноглобулинов для внутримышечного введения) и «На электрофореграмме испытуемого раствора не более 5% белков должны иметь подвижность, отличную от подвижности основной полосы» (для иммуноглобулинов для внутривенного введения).

В качестве контрольного р-ра в монографии EPh, так же как и в ГФ РФ, предполагается использование сыворотки крови человека. При этом требование к контрольной сыворотке иное и состоит в идентификации полосы альбумина на расстоянии не менее 30 мм от линии старта. Кроме того, в качестве р-ра сравнения предполагается использование стандартного образца иммуноглобулина человека для электрофореза BRP (Human immunoglobulin for electrophoresis, biological reference preparation (BRP), H1000000, EDQM) [7]. Выполнение требования к стандартному р-ру гарантирует пригодность системы: на электрофореграмме, полученной с использованием стандартного р-ра, содержание белка в основной полосе должно находиться в пределах, указанных в инструкции, прилагаемой к стандартному образцу. Аналогичный отечественный (фармакопейный) стандартный образец отсутствует, а вышеуказанный стандартный образец BRP не имеет практики применения в Российской Федерации.

Методики и нормы, изложенные в ГФ РФ и EPh, имеют некоторые процедурные отличия: в качестве носителя могут быть использованы плёнки из ацетата целлюлозы (ГФ РФ и EPh) или агарозный гель (EPh); в качестве красителя — Амидо-чёрный 10Б (ГФ РФ и EPh) или Пунцовый С (ГФ РФ); Барбиталовый буферный р-р pH=8,4–8,6 (ГФ РФ и EPh) или Трис-гидрохлоридный буферный р-р pH=8,8 (EPh).

Детальные расхождения в процедуре методики могут быть связаны с конкретной моделью используемого оборудования (объём наносимой пробы, расстояние от линии старта, условия разделения — сила тока, напряжение и т. д.). При этом подход к учёту достоверности результатов анализа (условия применения контрольных и стандартных образцов), как было сказано выше, имеет существенные отличия.

Учитывая вышеизложенное, при формировании общих требований целесообразно излагать основные условия методики, избегая излишней детализации. Что касается оценки результатов электрофоретического разделения с применением контрольных/стандартных образцов, гармонизированный подход может быть реализован путём возобновления практики использования в качестве контрольной сыворотки новой серии ФСО.3.1.00443, а также разработки и аттестации ФСО, являющегося полноценной заменой образца BRP H1000000 (EDQM) для электрофореза. Наличие действующей серии ФСО.3.1.00443 позволит стандартизировать условия воспроизведения анализа, отвечающие концепции фармакопеи ЕАЭС, исключить ориентированность на использование конкретного оборудования и набора реагентов, а наличие ФСО, аналогичного образцу BRP, позволит гармонизировать условия учёта приемлемости результатов испытания с требованиями EPh.

Характеристика препаратов ИГЧ по показателю «Молекулярные параметры» необходима для оценки молекулярно-массо-

вого распределения белков, составляющих  $\gamma$ -глобулиновую фракцию. При этом целевыми компонентами, обеспечивающими эффективность препаратов ИГЧ, являются мономер IgG и его димерная форма. Кроме мономера и димера, в составе препарата могут присутствовать низкомолекулярные компоненты, являющиеся продуктом деструкции молекулы IgG, — фрагменты, а также высокомолекулярные компоненты — полимеры и агрегаты. Потенциально опасными примесями, наличие которых может приводить к нежелательным явлениям, являются высокомолекулярные соединения [9].

Нормы по содержанию «мономеров и димеров» и «полимеров и агрегатов» в ГФ РФ и EPh согласованы и составляют для иммуноглобулинов для внутримышечного введения «не менее 85% и не более 10%», а для иммуноглобулинов для внутривенного введения — «не менее 90% и не более 3%» соответственно.

Молекулярные параметры препаратов ИГЧ начали определять в 1970-х гг. [15]. Для оценки данного показателя использовали метод гель-фильтрации низкого давления, основанный на разделении ИГЧ на фракции в зависимости от размера и молекулярной массы белковых компонентов, входящих в его состав. Оценку пригодности хроматографической системы, а также идентификацию хроматографических пиков, полученных для мономеров, димеров, полимеров, агрегатов и фрагментов испытуемого образца, проводили с использованием белков-маркеров молекулярных масс, а также отраслевого стандартного образца (ОСО) иммуноглобулина для калибровки хроматографической колонки (42-28-301-98).

В настоящее время все отечественные и зарубежные производители препаратов ИГЧ для оценки молекулярных параметров используют метод эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [10]. Испытания проводят согласно ГФ РФ ОФС.1.8.2.0006.15 «Определение

молекулярных параметров иммуноглобулинов методом ВЭЖХ». Данная ОФС содержит общие рекомендации к воспроизведению методики эксклюзионной ВЭЖХ, которые предусматривают описание хроматографических условий, приготовление подвижной фазы, пробоподготовку испытуемого образца, а также содержат указание на необходимость использования маркеров молекулярных масс в диапазоне от 10 до 600 кДа для калибровки хроматографической колонки и стандартного образца для подтверждения пригодности хроматографической системы.

В EPh отсутствует отдельная монография, посвящённая методике определения молекулярных параметров препаратов ИГЧ, однако в монографиях EPh 04/2024:0918; 04/2024:0338; 04/2024:2788 приведены условия хроматографического разделения (характеристика сорбента и размеры колонки; состав и скорость потока подвижной фазы; длина волны УФ-детектора), диапазон концентраций испытуемого и стандартного образцов, способ учёта и интерпретации полученных результатов, а также требования нормы по количественной оценке молекулярных параметров.

Несмотря на достаточно подробные рекомендации по определению молекулярных параметров ИГЧ, приведённые в EPh, нормативная документация производителей зачастую предусматривает различные варианты методики, отличающиеся выбором типа хроматографических колонок, состава и скорости подвижной фазы; способа расчёта результата испытаний.

На сегодняшний день стандартный образец BRP (Human immunoglobulin (molecular size) BRP, кат. № Y0000488), включённый практически во все зарубежные и отечественные нормативные документы, является единственным СО для определения молекулярных параметров иммуноглобулинов [8, 20]. С целью обеспечения независимости национального фармацевтического рынка

препаратов ИГЧ очевидна необходимость разработки и аттестации фармакопейного стандартного образца, являющегося полноценной заменой BRP Y0000488 (EDQM).

### ***Вакцины, анатоксины, антитоксические сыворотки***

Основными физико-химическими показателями качества вакцин, анатоксинов и антитоксических сывороток, потенциально влияющими на безопасность и эффективность данных групп препаратов, является количественное определение консервантов (тиомерсал, фенол, 2-феноксизтанол) и адъювантов (гель гидроксида алюминия, фосфата алюминия). Содержание данных веществ в составе ИЛП нормируется в зависимости от типа препарата. Их определение регламентировано фармакопейными методиками, включёнными в ГФ РФ и EPh. Следует отметить, что в последние годы существенно возросла востребованность в высокотехнологичном оборудовании при контроле качества ИЛП, что привело к отказу ряда производителей от фармакопейных методик, основанных на традиционном количественном спектрофотометрическом, колориметрическом и титриметрическом химическом анализе в пользу более современных методов ВЭЖХ, газовой хроматографии и атомно-абсорбционной спектроскопии.

Тиомерсал входит в состав ряда вакцин (АКДС, АДС, АС, АД, АКДС-геп В-вакцины, против гриппа) и анатоксинов. Содержание тиомерсала ограничено общим диапазоном от 30 до 120 мкг/мл, при этом конкретные нормы индивидуальны для каждого типа препарата [12, 13]. Количественное определение тиомерсала обязательно для каждой серии готового препарата и обеспечено фармакопейной методикой, изложенной в ГФ РФ ОФС.1.7.2.0025.18 «Количественное определение тиомерсала в биологических лекарственных препаратах». До недавнего времени в данной ОФС были изложены

два метода: колориметрический, основанный на выделении ионов ртути и образования окрашенного комплекса с дитизином, и полярографический метод. Фактически использовался только колориметрический метод, обеспеченный стандартными образцами для подтверждения правильности определения: ФСО 3.1.00427, предназначенный для препаратов с высоким содержанием тиомерсала от 80 до 120 мкг/мл, и ФСО 3.1.00471, предназначенный для препаратов с низким содержанием тиомерсала от 30 до 80 мкг/мл [5].

В 2018 г. в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России была завершена разработка и валидация методики определения тиомерсала в сорбированных и несорбированных ИЛП на основе метода атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара (ААС-ХП) [2]. Данная методика была включена в ГФ РФ ОФС.1.7.2.0025.18. При этом задача метрологического обеспечения данной методики стандартным образцом правильности была решена путём сопоставления результатов определения ионов ртути, полученных колориметрической методикой и методикой ААС-ХП. Сопоставление осуществляли с использованием однофакторного дисперсионного анализа с вычислением критерия Фишера. Данный подход позволил сделать вывод об отсутствии статистически значимых различий между выборками и возможности рассмотрения значений, полученных колориметрической методикой и методикой ААС-ХП, как одной совокупности результатов (подтверждение нулевой гипотезы). Это позволило расширить область применения указанных выше ФСО, аттестованных колориметрической методикой, на методику ААС-ХП без изменения аттестованной характеристики [3].

В EPh отдельная монография для количественной оценки тиомерсала в ИЛП отсутствует и стандартные образцы не предусмотрены, а метод ААС-ХП рекомендован для препаратов растительного происхож-



дения (остаточные количества, следы), без описания конкретной методики (EPH 11.6, monograph 07/2014:20427).

Постепенный отказ от использования в качестве консервантов ртутьсодержащих соединений привёл к появлению группы препаратов, имеющих фенол (или производные фенола — 2-феноксизтанол) в качестве консерванта: аллергены, полисахаридные вакцины. Содержание фенола ограничено общим диапазоном от 1,5 до 4,0 мг/мл, при этом конкретные нормы, так же, как и для тиомерсала, индивидуальны для каждого типа препарата.

В соответствии с ГФ РФ определение показателя «Фенол» проводят согласно «ОФС.1.7.2.0028.18 «Количественное определение фенола в биологических лекарственных препаратах». До недавнего времени в данной ОФС была изложена спектрофотометрическая методика определения, основанная на прямом измерении разницы поглощения фенола и окрашенных примесей. Исходно методика была ориентирована на препараты аллергенов и позднее верифицирована для ряда отечественных полисахаридных вакцин (SU, патент 989410, 1983).

В 2018 г. в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России была завершена разработка и валидация методики количественного определения фенола в ИЛП на основе метода газовой хроматографии (Патент № 2693518 от 03.07.2019 г.).

В EPh описана колориметрическая методика определения фенола в ИЛП, в основе которой лежит цветная реакция фенола с аминопиразолом (4-аминоантипирин) в присутствии ферроцианида калия (EPH 11.6, monograph 01/2008:20515). Данную методику или её модификацию используют некоторые зарубежные производители. Стандартные образцы не предусмотрены.

В 2021 г. в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России были аттестованы ФСО для подтверждения правильности определения фе-

нола — ФСО 3.1.00449 содержания фенола (спектрофотометрический метод) и ФСО 3.1.00451 содержания фенола (метод газожидкостной хроматографии), — имеющие различный аттестованный диапазон, поскольку однофакторный дисперсионный анализ по критерию Фишера позволил выявить статистически значимые различия прецизионности (воспроизводимости) этих двух методических подходов при сохранении правильности определения [4, 5].

Соединения на основе алюминия (гель гидроксида алюминия, фосфат алюминия) входят в состав многих ИЛП, включая вакцины календаря прививок, ветеринарные вакцины и анатоксины. Эти соединения остаются наиболее популярными адъювантами, несмотря на разработку новых веществ [1]. Содержание адъюванта индивидуально для каждого типа препарата и ограничено общим диапазоном от 0,2 до 1,8 мг/мл. Количественный анализ предполагает определение ионов алюминия в каждой серии готового препарата с последующим пересчётом на конечное соединение.

В ГФ РФ для ИЛП предусмотрена фармакопейная методика комплексонометрического титрования, изложенная в виде ОФС.1.7.2.0016.15 «Определение ионов алюминия в сорбированных биологических лекарственных препаратах», обеспеченная стандартными образцами для подтверждения правильности определения: ФСО 3.1.00470, предназначенный для препаратов с содержанием алюминия от 0,2 до 0,7 мг/мл; ФСО 3.1.00333, предназначенный для препаратов с содержанием алюминия от 0,8 до 1,3 мг/мл; и ФСО 3.1.00423, предназначенный для препаратов с содержанием алюминия от 1,4 до 1,8 мг/мл [9].

Согласно EPh для количественной оценки алюминия в ИЛП также используется методика комплексонометрического титрования, изложенная в виде монографии «Aluminium in absorbed vaccines» (EPH 11.6, monograph 01/2008:20513). Данная мето-

дика содержит несущественные отличия от методики ГФ РФ в части концентраций реагентов и их соотношения в реакционной смеси, стандартные образцы не предусмотрены.

В 2022 г. в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России была разработана и валидирована методика количественного определения ионов алюминия в сорбированных препаратах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией (ААС-ЭТ) (патент № 2799235 от 04.07.2023 г.). Так же, как и для тиомерсала, оценка сопоставимости результатов, полученных фармакопейной методикой комплексометрического титрования и методикой ААС-ЭТ, на основании данных однофакторного дисперсионного анализа, показала отсутствие статистически значимых различий и подтвердила возможность расширения области применения имеющихся ФСО.

## Заключение

Анализ отечественной и международной практики лабораторной фармацевтиче-

ской экспертизы ИЛП по физико-химическим показателям позволяет утверждать, что практика, сложившаяся в Российской Федерации, ориентирована на специфику иммунобиологических препаратов и основана на использовании фармакопейных стандартных образцов, обеспечивающих организацию внутрилабораторного контроля качества испытаний и согласованность результатов разных лабораторий.

С целью гармонизации методических подходов оценки основных физико-химических показателей качества, а также обеспечения независимости отечественной фармацевтической лабораторной экспертизы препаратов ИГЧ целесообразно разработать и аттестовать фармакопейные стандартные образцы для методик определения белка, электрофоретической однородности и молекулярных параметров. При формировании фармакопейных гармонизированных требований ЕАЭС по оценке консервантов (тиомерсал, фенол) и адьювантов на основе алюминия в ИЛП целесообразно учитывать опыт Российской Федерации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Исаенко Е.Ю., Бабич Е.М., Елисеєва И.В., Ждмарова Л.А., Белозерский В.И., Колпак С.А. Адьюванты в современной вакцинологии. *Annals of Mechnikov Institute*. 2013;4:4–21. [Isayenko Y.Y., Babych Y.M., Yelyseyeva I.V., Zhdamarova L.A., Belozersky V.I., Kolpak S.A. Ad'yuvanty v sovremennoy vaksinologii [Adjuvants in modern vaccinology]. *Annals of Mechnikov Institute*. 2013;4:4–21. (In Russian)].
- Колесникова О.Н., Устинникова О.Б., Рунова О.Б., Бондарев В.П. Определение мертиолята в несорбированных ИЛП методом атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара (ААС-ХП) по ионам ртути. Ч. 1: отработка методики и оценка результатов определения ионов ртути колориметрическим методом и методом ААС-ХП. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2015;54(2):59–63. [Kolesnikova O.N., Ustinnikova O.B., Runova O.B., Bondarev V.P. Opredelenie mertiol'yata v nesorbirovannykh ILP metodom atomno-absorbtsionnoy spektroskopii kholodnogo para (AAS-KhP) po ionam rtuti. Ch. 1: otrabotka metodiki i otsenka rezul'tatov opredeleniya ionov rtuti kolorimetricheskim metodom i metodom AAS-KhP [Determination of thimerosal in non-adsorbed immunobiological preparations by cold vapor atomic absorption spectroscopy (CV AAS) for the ions of mercury. Part 1: method development and evaluation of statistical significance of differences in the results of mercury ions determination by colorimetric method and cold vapor atomic absorption spectroscopy method]. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2015;54(2):59–63. (In Russian)].
- Колесникова О.Н., Трегубова В.Е., Устинникова О.Б., Мовсесянц А.А. Оценка сопоставимости результатов определения тиомерсала колориметрическим методом и методом атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара в иммунобиологических лекарственных препаратах. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(3):318–330. [Kolesnikova O.N., Tregubova V.E., Ustinnikova O.B., Movsesyants A.A. Otsenka sopostavimosti rezul'tatov opredeleniya tio-

- mersala kolorimetricheskim metodom i metodom atomno-absorbtsionnoy spektrometrii kholodnogo para v immunobiologicheskikh lekarstvennykh preparatakh [Comparability assessment of the results of thiomersal quantification in adsorbed immunobiological medicinal products by colourimetry and by cold vapor atomic absorption spectrometry]. *BIOpriparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2022;22(3):318–330. (In Russian)]. DOI: 10.30895/2221-996X-2022-22-3-318-330
4. Колесникова О.Н., Фадейкина О.В., Устинникова О.Б., Волкова Р.А., Мовсесянц А.А. Разработка и аттестация стандартных образцов содержания фенола в биологических лекарственных препаратах с учётом сопоставимости результатов, полученных методами ГЖХ, ВЭЖХ, спектрофотометрии и колориметрии. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(3):193–199. [Kolesnikova O.N., Fadeikina O.V., Ustinnikova O.B., Volkova R.A., Movsesyants A.A. Razrabotka i attestatsiya standartnykh obraztsov soderzhaniya fenola v biologicheskikh lekarstvennykh preparatakh s uchetom sopostavimosti rezul'tatov, poluchennykh metodami GZhKh, VEZhKh, spektrofotometrii i kolorimetrii [Development and certification of reference standards for phenolic content in biologicals, based on comparison of results obtained by GLC, HPLC, spectrophotometric, and colorimetric methods]. *BIOpriparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2021;21(3):193–199. (In Russian)]. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-193-199
  5. Реестр фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Российской Федерации [Reestr farmakopeynykh standartnykh obraztsov Gosudarstvennoy Farmakopei Rossiyskoy Federatsii [Register of Pharmacopoeial Standard Samples of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation]]. (In Russian)].
  6. Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Горенков Д.В., Хантимирова Л.М., Парамонова Ю.С., Смолина Е.М., Бондарев В.П., Меркулов В.А. Эффективность применения препаратов на основе иммуноглобулинов плазмы и моноклональных антител для лечения и профилактики COVID-19. *Иммунология*. 2022;43(5):485–503. [Soldatov A.A., Avdeeva Zh.I., Gorenkov D.V., Khantimirova L.M., Paramonova Yu.S., Smolina E.M., Bondarev V.P., Merkulov V.A. Effektivnost' primeneniya preparatov na osnove immunoglobulinov plazmy i monoklona'nykh antitel dlya lecheniya i profilaktiki COVID-19 [The efficacy of medicinal products based on plasma immunoglobulins and monoclonal antibodies for the treatment and prevention of COVID-19]. *Immunology*. 2022;43(5):485–503. (In Russian)]. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-5-485-503
  7. Behr-Gross M.E., Daas A., Christians S. Collaborative study for the establishment of the human immunoglobulin for electrophoresis Ph. Eur. BRP batch 3. *Pharmeur. Bio. Sci. Notes*. 2014;2014:71–80.
  8. Karra D., Regourd E., Costanzo A. Collaborative study for the establishment of human immunoglobulin BRP replacement batches. *Pharmeur. Bio. Sci. Notes*. 2018;2018:37–61.
  9. Chirmule N., Jawa V., Meibohm B. Immunogenicity to therapeutic proteins: Impact on PK/PD and efficacy. *AAPS J.* 2012;14(2):296–302. DOI: 10.1208/s12248-012-9340-y
  10. Christians S., Schluender S., van Treel N.D., Behr-Cross M.E. Interpretation of size-exclusion chromatography for the determination of molecular-size distribution of human immunoglobulins. *Pharmeur. Bio. Sci. Notes*. 2016;2016:115–128.
  11. Danieli M.G., Gelardi C., Pedini V., Moretti R., Gabrielli A., Logullo F. Subcutaneous IgG in immune-mediated diseases: Proposed mechanisms of action and literature review. *Autoimmun Rev.* 2014;13(12):1182–1188. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.08.018
  12. EMA Points to Consider on the Reduction, Elimination or Substitution of Thiomersal in Vaccines. 2001.
  13. FDA Thimerosal and Vaccines.
  14. Gröning R., Walde J., Ahlm C., Forsell M., Normark J., Rasmuson J. Intravenous immunoglobulin therapy for COVID-19 in immunocompromised patients: A retrospective cohort study. *Int. J. Infect. Dis.* 2024;144:107046. DOI: 10.1016/j.ijid.2024.107046
  15. *Immunoglobulinum Normale Humanum, European Pharmacopoeia*. France. 1971;2:247–251.
  16. Lasek-Bal A., Wagner-Kusz A., Rogoż B., Ciszowska-Babraj M., Gajewska G. Efficacy and safety of intravenous immunoglobulin treatment in selected neurological diseases — One centre's experience based on the therapy of 141 patients. *J. Clin. Med.* 2023;12(18):5983. DOI: 10.3390/jcm12185983
  17. Misbah S., Sturzenegger M.H., Borte M., Shapiro R.S., Wasserman R.L., Berger M., Ochs H.D. Subcutaneous immunoglobulin: Opportunities and outlook. *Clin. Exp. Immunol.* 2009;158:51–59. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.04027.x
  18. Orange J.S., Hossny E.M., Weiler C.R., Ballow M., Berger M., Bonilla F.A., Buckley R., Chinen J., El-Gamal Y., Mazer B.D., Nelson R.P. Jr., Patel D.D., Secord E., Sorensen R.U., Wasserman R.L., Cunningham-Rundles C.; Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. Use of intravenous immunoglobulin in human disease: A review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006;117(4 Suppl):S525–S553. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.01.015
  19. Radosevich M., Burnouf T. Intravenous immunoglobulin G: Trends in production methods, quality control and quality assurance. *Vox Sang.* 2010;98(1):12–28. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2009.01226.x

20. Sandberg E. Collaborative study for establishment of human immunoglobulin Biological Reference Preparation (BRP). *Pharmeuropa Special Issue Bio.* 1996;1:49–69.
21. Yi J., Dalakas M.C. Long-term effectiveness of IVIg maintenance therapy in 36 patients with GAD antibody-positive stiff-person syndrome. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2022;9(5):e200011. DOI: 10.1212/NXI.0000000000200011

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Ольга Борисовна Устинникова\***, к.б.н., ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России;  
e-mail: [ustinnikova@expmed.ru](mailto:ustinnikova@expmed.ru)

**Olga B. Ustinnikova\***, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [ustinnikova@expmed.ru](mailto:ustinnikova@expmed.ru)

**Ирина Михайловна Щербаченко**, к.б.н., ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России;  
e-mail: [sherbachenko@expmed.ru](mailto:sherbachenko@expmed.ru)

**Irina M. Shcherbachenko**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [sherbachenko@expmed.ru](mailto:sherbachenko@expmed.ru)

**Оксана Николаевна Колесникова**, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России;  
e-mail: [kolesnikovao@expmed.ru](mailto:kolesnikovao@expmed.ru)

**Oksana N. Kolesnikova**, Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [kolesnikovao@expmed.ru](mailto:kolesnikovao@expmed.ru)

**Дарья Дмитриевна Макарищева**, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России;  
e-mail: [makarishchevadd@expmed.ru](mailto:makarishchevadd@expmed.ru)

**Daria D. Makarishcheva**, Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [makarishchevadd@expmed.ru](mailto:makarishchevadd@expmed.ru)

**Юлия Евгеньевна Исакина**, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России;  
e-mail: [isakina@expmed.ru](mailto:isakina@expmed.ru)

**Julia E. Isakina**, Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [isakina@expmed.ru](mailto:isakina@expmed.ru)

**Ольга Борисовна Рунова**, к.х.н., ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России;  
e-mail: [runova@expmed.ru](mailto:runova@expmed.ru)

**Olga B. Rounova**, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Centre for Expertise Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [runova@expmed.ru](mailto:runova@expmed.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author