



Оригинальная статья/Research article

## Образование посторонних примесей в полимерных частицах, содержащих доцетаксел, в процессе хранения и под действием гамма-облучения

Ю. И. Полтавец<sup>1\*</sup>, С. В. Алешин<sup>1</sup>, В. В. Заварзина<sup>1</sup>, А. И. Муравьева<sup>1</sup>, А. А. Соболева<sup>2</sup>,  
И. А. Тубашева<sup>1</sup>, С. Л. Кузнецов<sup>1</sup>

1 – ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»), 123182, Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1  
2 – МИРЭА – Российский технологический университет (РТУ МИРЭА), 119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86

\*Контактное лицо: Полтавец Юрий Игоревич. E-mail: poltavets\_yi@nrcki.ru

Статья получена: 05.12.2019. Статья принята к печати: 10.02.2020

### Резюме

**Введение.** Доцетаксел широко применяется в лечении онкологических заболеваний. Для вновь разрабатываемых препаратов, где доцетаксел включён в состав полимерных частиц, актуален вопрос применимости существующих требований к посторонним примесям. Технология получения нового препарата, включая стадию гамма-стерилизации, отличается от технологии существующих препаратов доцетаксела. В настоящем исследовании изучались полимерные частицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (ПЛГА), содержащие доцетаксел. Основное внимание было уделено ранее не проводившемуся изучению качественного и количественного состава посторонних примесей к доцетакселу, образование которых связано с длительным хранением и воздействием гамма-излучения и сравнению полученных данных с фармакопейными требованиями к применяемому в настоящее время инъекционным формам доцетаксела.

**Цель.** Изучение закономерностей образования посторонних примесей в полимерных формах доцетаксела, как интактных, так и подвергшихся гамма-стерилизации.

**Материалы и методы.** Объектами исследования были ранее полученные авторами полимерные формы доцетаксела в виде лиофилизатов. Качественный и количественный анализ образцов проводился методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Результаты и обсуждение.** Изучены образцы полимерных форм доцетаксела по показателю «Посторонние примеси». Показано, что качественный и количественный состав посторонних примесей в образцах, подвергшихся гамма-стерилизации, отличается от состава примесей в интактных образцах с различными сроками хранения.

**Заключение.** Полимерные формы доцетаксела продемонстрировали стабильность в процессе хранения. Доказано влияние гамма-облучения (гамма-стерилизации) на состав посторонних примесей к доцетакселу. Гамма-стерилизация является перспективным направлением при разработке новых лекарственных средств, но в каждом случае необходима оптимизация условий её проведения.

**Ключевые слова:** доцетаксел, посторонние примеси, гамма-облучение, стерилизация, полимерные формы, лиофилизат.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Вклад авторов.** Ю. И. Полтавец, В. В. Заварзина разработали способ получения экспериментальных образцов, выполнили планирование экспериментальной части и обработку полученных результатов. С. В. Алешин, А. И. Муравьева и А. А. Соболева разработали аналитические методики, выполнили пробоподготовку и анализ образцов. И. А. Тубашева и С. Л. Кузнецов получили экспериментальные образцы, проводили эксперимент по их длительному хранению. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Для цитирования:** Полтавец Ю. И., Алешин С. В., Заварзина В. В., Муравьева А. И., Соболева А. А., Тубашева И. А., Кузнецов С. Л. Образование посторонних примесей в полимерных частицах, содержащих доцетаксел, в процессе хранения и под действием гамма-облучения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020; 9(1): 66–74.

## Formation of Docetaxel-related Substances in the Polymer Particles During Storage and Gamma-treatment

Yury I. Poltavets<sup>1\*</sup>, Sergey V. Aleshin<sup>1</sup>, Vasilisa V. Zavarzina<sup>1</sup>, Anna I. Murav'eva<sup>1</sup>,  
Anastasia A. Soboleva<sup>2</sup>, Irina A. Tubasheva<sup>1</sup>, Sergey L. Kuznetsov<sup>1</sup>

1 – Kurchatov Institute, 1, Academician Kurchatov sq., Moscow, 123182, Russia  
2 – Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «MIREA – Russian Technological University», 86, Vernadskogo av., Moscow, 119571, Russia

\*Corresponding author: Yury I. Poltavets. E-mail: poltavets\_yi@nrcki.ru

Received: 05.12.2019. Accepted: 10.02.2020

### Abstract

**Introduction.** Docetaxel is widely used for cancer treatment. Actual issue for newly developed polymer-based Docetaxel formulations is applicability of current quality requirements. The technology of polymeric forms, including gamma-sterilization, are differ from actual Docetaxel injections technology. In this study were used PLGA-based particles with Docetaxel. The main attention was directed to studying qualitative and quantitative content of related impurities in polymeric forms during long-term storage and gamma-sterilization in comparison with pharmacopoeial requirements for Docetaxel injections.

**Aim.** Studying of possible patterns of Docetaxel-related impurities formation between intact and gamma-irradiated batches.

**Materials and methods.** Objects of study – lyophilizates of Docetaxel polymeric forms was previously obtained by the authors. Qualitative and quantitative analysis was performed by high pressure liquid chromatography.

**Results and discussion.** Docetaxel-related impurities was determined and evaluated in the intact and gamma-treated batches. It was cleared, that related substances in the gamma-treated batches was different in comparison with non-treated but after vary storage periods.

**Conclusion.** Docetaxel-loaded polymeric drugs shown proper stability during long term storage. The influence of gamma-treatment to Docetaxel-related impurities content was found. Gamma sterilization can be promising method for novel drugs, but it needs individual study in the each case.

**Keywords:** Docetaxel, related substances, gamma-irradiation, sterilization, polymeric drugs, lyophilizate.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Contribution of the authors.** Yury I. Poltavets, Sergey V. Aleshin and Vasilisa V. Zavarzina developed method for obtaining experimental batches and processed of research results. Anna I. Murav'eva, Anastasia A. Soboleva performed sample preparation and analysis of samples. Irina A. Tubasheva, Sergey L. Kuznetsov obtained experimental batches and conducted an experiment on long-term storage. All authors participated in the discussion of the results and wrote the manuscript.

**For citation:** Poltavets Yu. I., Aleshin S. V., Zavarzina V. V., Murav'eva A. I., Soboleva A. A., Tubasheva I. A., Kuznetsov S. L. Formation of Docetaxel-related substances in the polymer particles during storage and gamma-treatment. *Drug development & registration*. 2020; 9(1): 66–74.

## ВВЕДЕНИЕ

Биоразлагаемые полимерные частицы, содержащие активную фармацевтическую субстанцию, являются отдельным направлением в разработке лекарственных средств. Лекарственная форма – лиофилизат для приготовления суспензии. Нами были получены образцы полимерных частиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (ПЛГА) и доцетаксела. Образцы показали высокую активность *in vitro* [1]. Технология получения полимерных форм отличается от применяемых препаратов доцетаксела. Помимо способа получения частиц нами была изучена возможность гамма-стерилизации готовой формы. Метод прост и удобен, но требует подбора оптимального режима для сохранения характеристик получаемых частиц [2–5]. Было установлено, что для полимерной формы доцетаксела влияние гамма-излучения сказывается как на размере частиц, так и на содержании в них доцетаксела. [6]. Зависимость содержания доцетаксела от условий стерилизации связана с его деградацией и накоплением посторонних примесей в ходе ее проведения. Пути деградации доцетаксела в различных условиях (температура, pH среды) были изучены и описаны в работах [7, 8]. Известны сравнительные исследования содержания посторонних примесей в выпускаемых препаратах доцетаксела [9]. В настоящей работе было впервые изучено образование посторонних примесей в полимерных формах доцетаксела в ходе их хранения и в процессе гамма-стерилизации. Проведённое исследование позволяет соотнести результаты, полученные для экспериментальных образцов полимерных частиц, содержащих доцетаксел, с предъявляемыми фармакопейными требованиями [10] к представленным на рынке инъекционным лекарственным формам доцетаксела, как оригинальным (Taxotere®™), так и воспроизведённым.

**Цель работы:** изучить закономерности образования посторонних примесей к доцетакселу в процессе получения полимерных форм препарата и его гамма-стерилизации.

### Задачи исследования:

- выполнить определение посторонних примесей к доцетакселу в полимерных формах и оценить соот-

ветствие данному показателю, согласно фармакопейным требованиям [10, 13];

- выявить закономерности образования посторонних примесей в образцах, подвергнутых гамма-облучению, по сравнению с интактными образцами;
- сделать предварительное заключение о приемлемости метода гамма-стерилизации для разрабатываемых полимерных форм.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модифицированные конъюгатом фолиевой кислоты полимерные комплексы (частицы) для молекулярно-прицельной терапии, содержащие доцетаксел (ПКМПТ-Д), были получены методом простых эмульсий. Полимер (ПЛГА) и доцетаксел растворяли в дихлорметане, куда вносили раствор додециламида фолиевой кислоты в апротонном растворителе [11]. К полученной органической фазе добавляли водную фазу (раствор поливинилового спирта) и затем двукратно эмульгировали смесь с помощью ультразвука на льду.

Летучий растворитель удалялся при постоянном перемешивании при комнатной температуре в течение 16 часов в ламинарном токе воздуха.

К полученной суспензии добавляли раствор натрия хлорида, замораживали в жидком азоте и подвергали лиофильной сушке. Лиофилизат собирали в предварительно стерилизованные пластиковые контейнеры с герметичными крышками и хранили при  $5 \pm 3$  °C. Образцы для длительного хранения и гамма-облучения, примерно по 100 мг лиофилизата, отбирали в стеклянные пенициллиновые флаконы нейтрального стекла, которые укупоривали резиновой пробкой под обкатку алюминиевым колпачком. Длительное хранение проводили при температуре  $5 \pm 3$  °C и относительной влажности 55–65 % в защищённом от света месте. Более подробно см. работу [6].

Биологическая активность полученных образцов превышала активность субстанции доцетаксела в аналогичных дозах, эффективность адресного действия фолатного вектора также была подтверждена в опыте *in vitro* [1].

Определение примесей проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с детектированием в ультрафиолетовой области спектра (ВЭЖХ-УФ) или масс-спектрометрическим (МС) детектированием (ЖХМС).

### Приготовление растворов

В качестве растворителя использовалась смесь ацетонитрила, воды и ледяной уксусной кислоты в соотношении 100:100:1 соответственно. Анализируемые образцы растворяли в ДМСО и затем разбавляли растворителем. Соотношение объёмов ДМСО и растворителя составляло 1:4.

### Хроматографирование

Анализ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1200 (США), оснащённом градиентным насосом, автосамплером, диодно-матричным детектором и масс-селективным детектором с тройным квадруполем (Agilent 6410). Обработку данных осуществляли при помощи программного обеспечения Agilent ChemStation (УФ-детектирование) и Agilent MassHunter (МС-детектирование).

Хроматографическое разделение проводили на колонке Kromasil 100-C18 250 × 4,6 мм, при 30 °С. Скорость потока подвижной фазы 0,5 мл/мин. В качестве компонентов подвижной фазы использовались ацетонитрил и 0,1 М раствор формиата аммония. Применялся градиентный режим элюирования: содержание ацетонитрила в составе подвижной фазы от начала анализа до 9 минуты составляло 28 %, от 9 до 39 минуты осуществлялся рост до 72 %, от 39 до 40 минуты – снижение до 28 %, от 40 до 50 минуты – 28 %.

Объём вводимой пробы при использовании УФ-детектирования составлял 45 мкл, при использовании МС-детектирования – 6 мкл. УФ-детектирование осуществлялось при длине волны 230 нм, МС-детектирование осуществлялось в режиме сканирования при негативной ионизации в диапазоне масс от 250 до 1000.

Предел количественного определения доцетаксела для методики составляет 2 мкг/мл, предел обнаружения 1 мкг/л. Минимальная концентрация свежеприготовленного раствора доцетаксела тригидрата, при которой обнаруживаются все определяемые при помощи методики неидентифицированные примеси, составляет 200 мкг/мл, что соответствует содержанию доцетаксела в растворе частиц ПКМПТ-Д с концентрацией около 8 мг/мл. Концентрации исследованных растворов частиц ПКМПТ-Д составили не менее 8,75 мг/мл, предел обнаружения единичной неидентифицированной примеси составил 0,02 % относительно площади пика доцетаксела (пики площадью 2 и менее не учитывались при оценке содержания примесей методом ВЭЖХ-УФ); разрешение для пиков примесей составляло не менее 1.

В случаях, когда это было возможно, обнаруженные примеси соотносили с примесями, описанными в фармакопеях США [10] и ЕС [12, 13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены хроматограммы доцетаксела тригидрата и образцов ПКМПТ-Д после получения, и через 12 месяцев хранения. Количественное содержание нормируемых примесей [10] для исследованных образцов приведено в таблицах 1 и 2, представлены их структурные формулы. Неидентифицированная примесь с относительным временем удерживания 0,87 указана в таблицах 1 и 2 отдельно, так как отмечено её значительное накопление в процессе хранения. Масс-спектр данной примеси не отличался от масс-спектра доцетаксела, что характерно для изомеров. Основываясь на полученных результатах и литературных данных [8], было сделано предположение, что данная примесь представляет собой 2'-эпидоцетаксел.

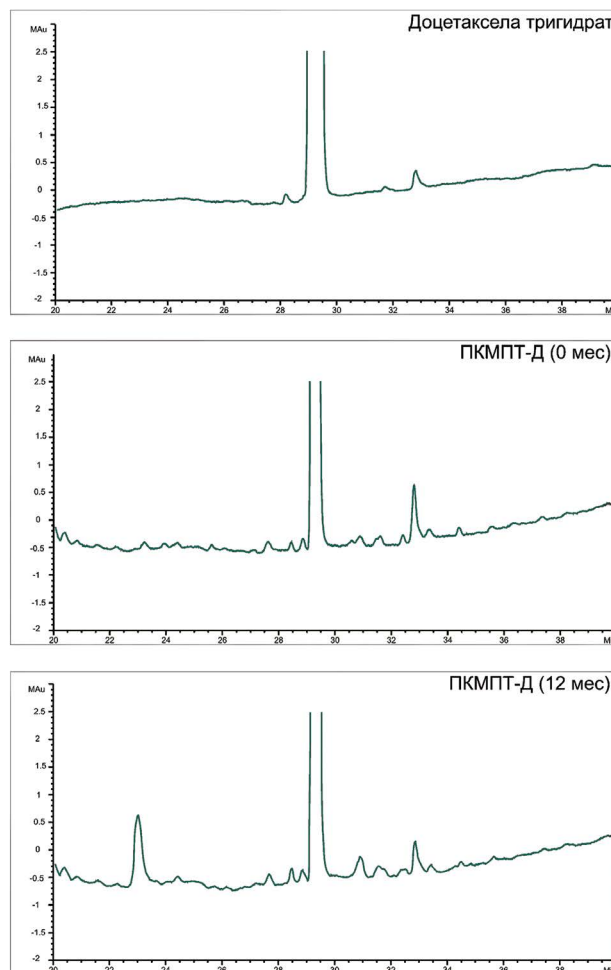


Рисунок 1. Хроматограмма субстанции доцетаксела тригидрата, ПКМПТ-Д на момент начала хранения и ПКМПТ-Д через 12 месяцев хранения

Figure 1. Chromatogram of Docetaxel trihydrate API, and Docetaxel polymeric forms before and after long-term storage (0 and 12 months)

**Таблица 1.** Содержание примесей в исходной субстанции доцетаксела тригидрата и полученном образце ПКМПТ-Д до и после хранения

**Table 1.** Comparative content of Docetaxel-related substances in the used Docetaxel trihydrate API and analyzed batch before and after storage

| Наименование примеси/относительное время удерживания*                 | Содержание примеси относительно пика доцетаксела при длине волны 320 нм (ВЭЖХ-УФ), % |             |             | Нормированные значения для готовой формы (USP), % не более |
|---|--|-------------|-------------|--|
|   | Доцетаксела тригидрат**  | ПКМПТ-Д     |             |  |
|   |  | 0 мес       | 12 мес      |  |
| 10-Дезацетил баккатин (EP E)/0,27                                     |  |             |             | 0,30   |
| Неидентифицированная примесь (предположительно 2'-эпидоцетаксел)/0,87 | Не нормируется   |             | 0,54        | Не нормируется   |
| 2-Дебензоксил, 2-пентолоил доцетаксел (EP A)/0,97                     | <0,05  | 0,04***     |             | –  |
| Кротональдегидный аналог/1,05   |  | 0,11        | 0,05        | 1,3  |
| 6-Оксодоцетаксел (EP B)/1,08  | 0,05   | 0,09        |             | 1,5  |
| 4-Эпидоцетаксел (EP C)/1,13   | 0,14   | 0,37        | 0,11        | 1,0  |
| 4-Эпи-6-оксодоцетаксел (EP D)/1,18                                    |  |             |             | 0,5  |
| Любая неидентифицированная примесь                                    |  |             |             | 0,2  |
| <b>Суммарное содержание примесей, %</b>                               | <b>&lt;0,24</b>  | <b>0,61</b> | <b>0,70</b> | <b>3,5</b>   |

**Примечания:** \*Тривиальное химическое наименование, используемое в USP, и обозначение примеси по EP (если есть).

\*\*Субстанция доцетаксела тригидрата соответствует требованиям EP 8.0.

\*\*\*Согласно требованиям USP не учитываются пики примесей, площадь которых менее 0,1 %.

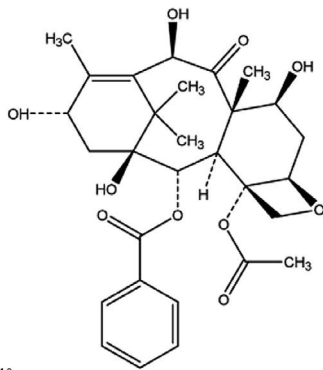
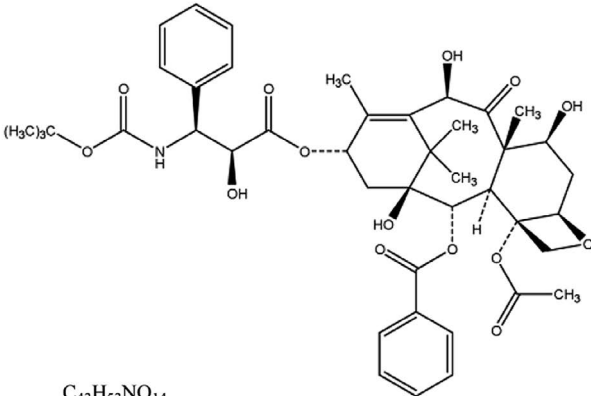
**Notes:** \*Trivial chemical name used in USP and its EP label (if exists).

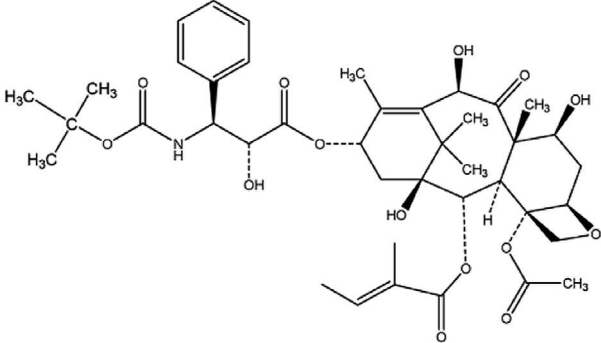
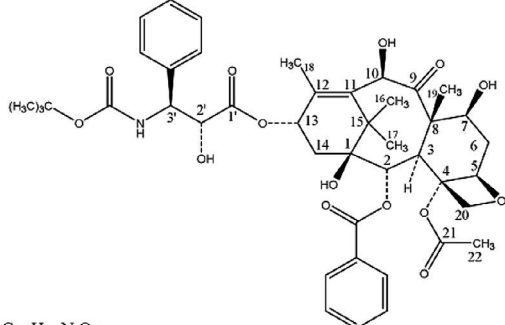
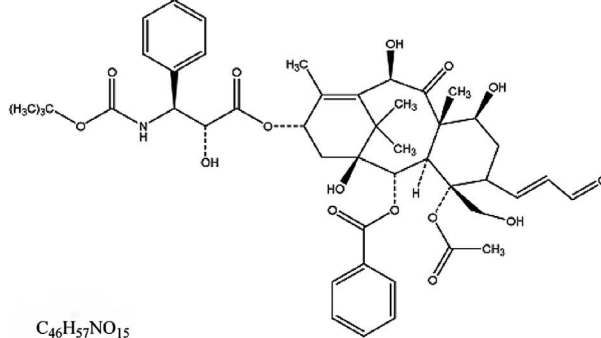
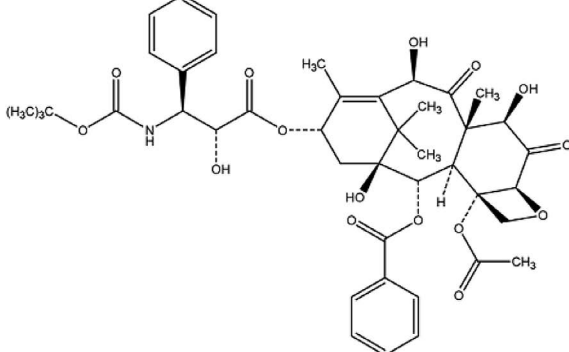
\*\*Quality of Docetaxel trihydrate API meets EP 8.0.

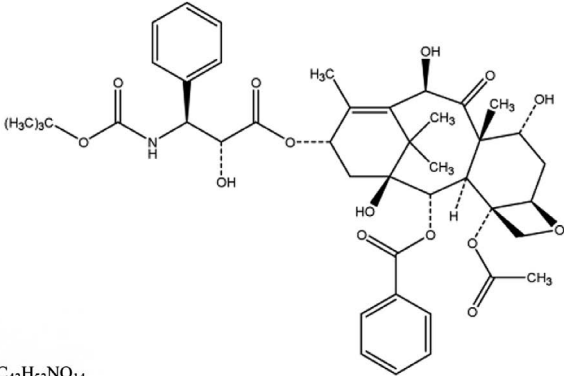
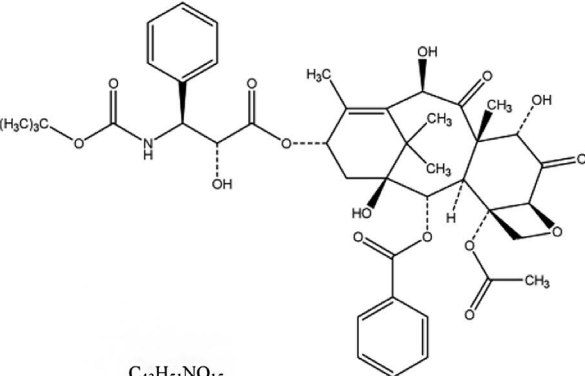
\*\*\*USP acceptance criteria: Disregard any peak less than 0.1 % and any peak with a relative retention time less than 0.2 and greater than 1.3.

**Таблица 2.** Наименование, формула, молекулярная масса доцетаксела и примесей

**Table 2.** Name, structure and molecular mass of the docetaxel and its impurities

| № | Наименование                                       | Формула  | М.м.   |
|---|--|--|--------|
| 1 | 10-Дезацетил баккатин (EP E)<br>(CAS № 32981-86-5) | <br>C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>10</sub>  | 544,59 |
| 2 | 2'-Эпидоцетаксел<br>(CAS н/д)                      | <br>C <sub>43</sub> H <sub>53</sub> NO <sub>14</sub> | 807,88 |

| № | Наименование  | Формула  | М.м.   |
|---|---|--|--------|
| 3 | 2-Дебензоксил<br>2-пентеноилдоцетаксел (EP A)<br>(CAS № 1887057-05-7) |  <p data-bbox="644 689 753 721"><math>C_{41}H_{55}NO_{14}</math></p>     | 785,87 |
| 4 | Доцетаксел<br>(CAS № 162784-72-7)                                     |  <p data-bbox="651 1115 753 1146"><math>C_{43}H_{53}NO_{14}</math></p>  | 807,88 |
| 5 | Кротональдегидный аналог<br>(CAS н/д)                                 |  <p data-bbox="651 1550 753 1581"><math>C_{46}H_{57}NO_{15}</math></p> | 805,86 |
| 6 | 6-Оксодоцетаксел (EP B)<br>(CAS № 167074-97-7)                        |    | 821,86 |

| № | Наименование   | Формула  | М.м.   |
|---|--|--|--------|
| 7 | 4-Эпидоцетаксел (EP C)<br>(CAS № 114977-28-5)        |  <p>The structure shows a complex polycyclic taxane core with multiple methyl groups, hydroxyl groups, and ester linkages. It is substituted with a benzoyl group and a tert-butyl amide group. The stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p> <p><math>C_{43}H_{53}NO_{14}</math></p> | 807,88 |
| 8 | 4-Эпи-6-оксодоцетаксел (EP D)<br>(CAS № 162784-72-7) |  <p>The structure is similar to 4-epidocetaxel but features a ketone group at the C-6 position instead of a hydroxyl group. The stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p> <p><math>C_{43}H_{51}NO_{15}</math></p>  | 821,86 |

Появление посторонних примесей в образце, на момент начала хранения, связано с технологическим процессом получения ПКМПП-Д. Отмечается эпимеризация доцетаксела, которая вносит наибольший вклад в содержание примесей; происходит деструкция доцетаксела с раскрытием гетероциклической структуры и образованием кротональдегидного аналога (таблицы 1 и 2). Окислительные процессы также наблюдаются в виде появления 6-оксодоцетаксела. В процессе хранения изменяется состав эпимеров, что может быть связано с процессами формирования квазикристаллических структур в полимерном носителе при хранении.

Предыдущие исследования показали, что в свежеполученном образце доцетаксел распределён равномерно в объёме полимерных частиц (эффективность включения составляла около 90%), а сами частицы преимущественно аморфны по структуре по данным рентгеноструктурного анализа [6]. Использованный для получения образцов полимер ПЛГА с молярным соотношением остатков молочной и гликолевой кислот 50:50 обладает наименьшей кристаллическостью из известных сополимеров [14]. Однако присутствие в

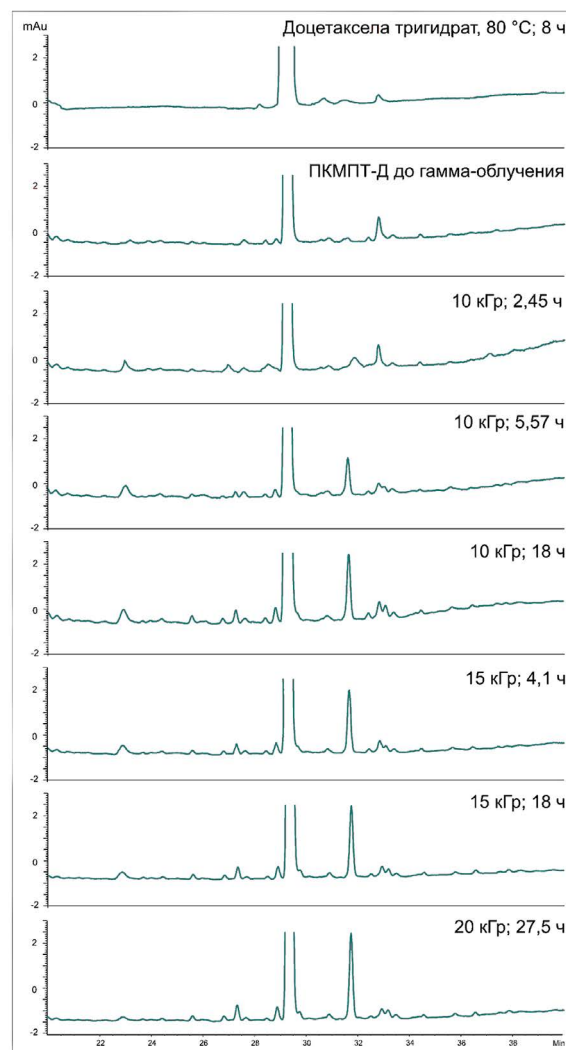
составе полимерных частиц доцетаксела и малорастворимого векторного фрагмента может способствовать появлению кристаллической фазы, и сопровождаться эпимеризацией доцетаксела.

Низкое содержание посторонней примеси 6-оксодоцетаксела, вероятно, связано с включением доцетаксела в состав полимерной матрицы частиц. Таким образом, окислению может подвергнуться лишь не включённая в полимерные частицы часть доцетаксела (около 10% от содержания в образце [6]). Судя по полученным данным, 6-оксодоцетаксел и его эпимер неустойчивы при хранении (см. таблицу 1). Предположительно, может происходить гидролиз сложного эфира с образованием 6-оксо-10-дезацетилбаккатина и трет-бутилоксикарабониламида-2-гидрокси-3,3-аминофенилпропионовой кислоты. Механизм последующего разложения 6-оксо-10-дезацетилбаккатина неясен, производное аминофенилпропановой кислоты в итоге разлагается до трет-бутанола и 2-гидрокси-3,3-аминофенилпропионовой кислоты [8]. Продукты разложения обладают минимальными временами удерживания и не детектируются в использованной хроматографической системе.

### Образование примесей в процессе гамма-облучения

Исследование образцов, подвергшихся гамма-облучению, показало увеличение содержания посторонних примесей, представляющих собой продукты деградации доцетаксела. Такой результат обусловлен действием ионизирующего излучения [2–5]. Качественный состав посторонних примесей в ПКМПТ-Д после гамма-облучения отличался от свежеполученного образца и образца после хранения. Было выявлено отличие и от литературных данных по моделированию деградации доцетаксела в различных условиях [8].

В таблице 3 представлены сравнительные данные по содержанию примесей в облучённых образцах по сравнению с интактным образцом ПКМПТ-Д и образцом субстанции после термического воздействия (условное моделирование процессов деградации доцетаксела в течение длительного хранения). Для обнаруженных примесей приведены относительные (к доцетакселу) времена удерживания, где это было возможно – идентифицированы примеси. На рисунке 2 приведены хроматограммы образцов доцетаксела. На рисунке 3 представлено сравнительное распределение образцов по качественному и количественному содержанию посторонних примесей к доцетакселу.



**Рисунок 2.** Хроматограмма образцов доцетаксела до и после гамма-облучения

**Figure 2.** Chromatograms of Docetaxel batches before and after gamma-treatment

**Таблица 3.** Сравнительные данные по содержанию примесей в облучённых и необлучённых образцах

**Table 3.** Comparative content of Docetaxel-related substances in the gamma-treated and non-treated batches

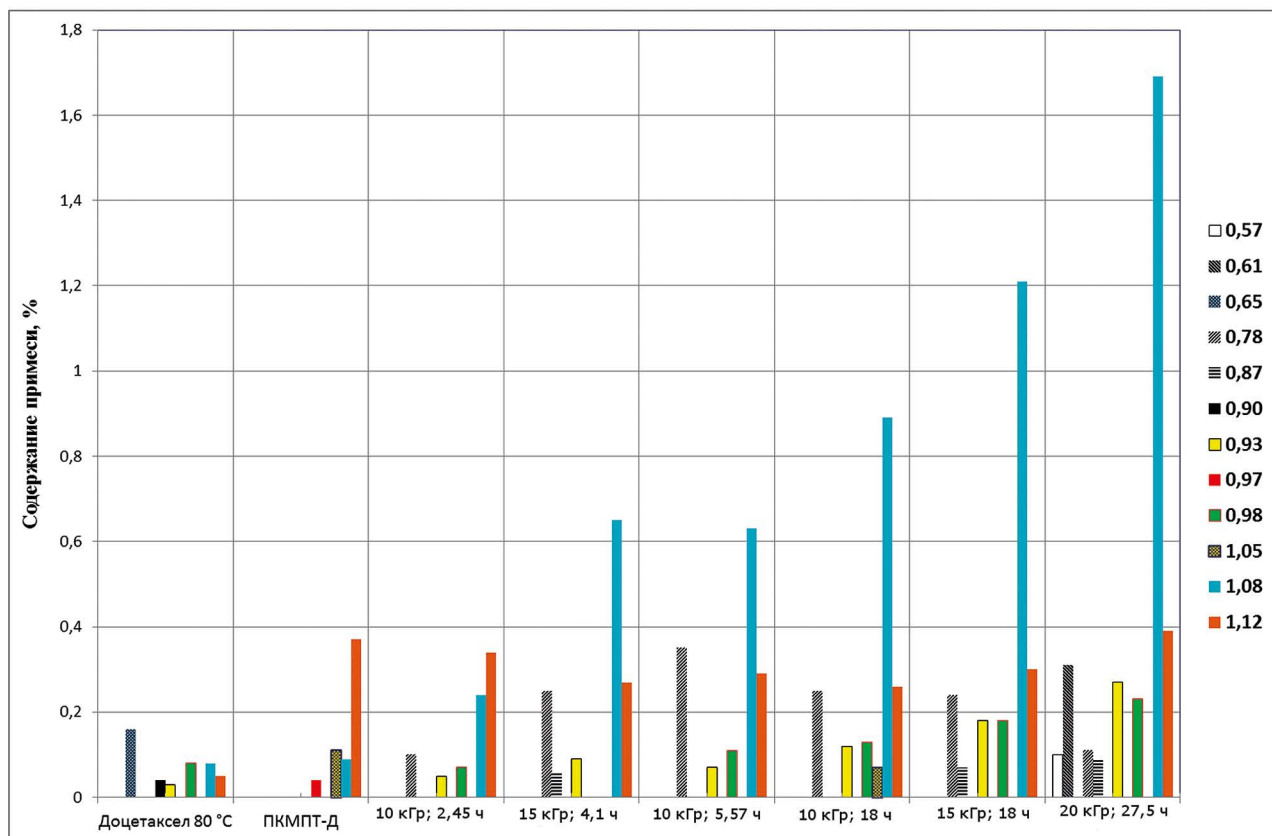
| Относительное время удерживания | ПКМПТ-Д, %  | Образцы после гамма-облучения, %* |                |              |               |              |                | Доцетаксела тригидрат субстанция (80 °С; 8 ч), % |
|---------------------------------|-------------|-----------------------------------|----------------|--------------|---------------|--------------|----------------|--|
|                                 |             | 10 кГр; 2,45 ч                    | 10 кГр; 5,57 ч | 10 кГр; 18 ч | 15 кГр; 4,1 ч | 15 кГр; 18 ч | 20 кГр; 27,5 ч |  |
| 0,57                            |             |                                   |                |              |               |              | 0,10           |  |
| 0,61                            |             |                                   |                |              |               |              | 0,31           |  |
| 0,65                            |             |                                   |                |              |               |              |                | 0,16   |
| 0,78                            |             | 0,1                               | 0,35           | 0,25         | 0,25          | 0,24         | 0,11           |  |
| 0,87**                          |             |                                   |                |              | 0,06          | 0,07         | 0,09           |  |
| 0,90                            |             |                                   |                |              |               |              |                | 0,04   |
| 0,93                            |             | 0,05                              | 0,07           | 0,12         | 0,09          | 0,18         | 0,27           | 0,03   |
| 0,97 (EP A)                     | 0,04        |                                   |                |              |               |              |                |  |
| 0,98                            |             | 0,07                              | 0,11           | 0,13         |               | 0,18         | 0,23           | 0,08   |
| 1,05 (Кротональдегидный аналог) | 0,11        |                                   |                | 0,07         |               |              |                |  |
| 1,08 (EP B)                     | 0,09        | 0,24                              | 0,63           | 0,89         | 0,65          | 1,21         | 1,69           | 0,08   |
| 1,12 (EP C)                     | 0,37        | 0,34                              | 0,29           | 0,26         | 0,27          | 0,30         | 0,39           | 0,05   |
| <b>Суммарно примесей, %</b>     | <b>0,61</b> | <b>0,80</b>                       | <b>1,45</b>    | <b>1,72</b>  | <b>1,32</b>   | <b>2,18</b>  | <b>3,19</b>    | <b>0,44</b>                                      |

**Примечание:** \*Указана доза (кГр) и время экспозиции (ч), за которое доза была накоплена.

\*\*Предположительно 2'-эпидоцетаксел.

**Note:** \*The dose (kGy) and exposure time (h) for which the dose was accumulated are indicated.

\*\*2'-Epidocetaxel (presumably).



**Рисунок 3.** Распределение образцов по качественному и количественному содержанию посторонних примесей к доцетакселу

**Примечание:** Образцы ранжированы по нарастанию суммарного содержания посторонних примесей к доцетакселу. Окраска и штриховка столбцов соответствует относительному времени удерживания обнаруженной примеси

**Figure 3.** Distribution of batches by qualitative and quantitative Docetaxel-related impurities content

**Note:** Samples are ranked by the increase in the total content of Docetaxel-related impurities. Color and grid patterns of the columns corresponds to the relative retention time of each founded impurity

Суммарное содержание примесей в облучённых образцах оказалось выше, чем в интактных образцах (см. таблицу 1) и термообработанной субстанции доцетаксела. С ростом накопления дозы и длительности экспозиции, появляется значительное количество пиков неидентифицированных примесей с относительным временем удерживания 0,98 и меньше. Для известных примесей можно выделить тенденцию к увеличению содержания 4-эпидоцетаксела (EP C) и 2-эпи-б-осодоцетаксела с ростом накопления дозы облучения. Накопление (предположительно) 2'-эпидоцетаксела отмечается только для образцов, получивших дозу не менее 15 кГр.

Воздействие гамма-облучения на ПКМПТ-Д приводит как к образованию в них примесей, накопление которых возможно в процессе хранения, так и к появлению специфичных для гамма-облучения продуктов деградации доцетаксела. Таким образом, возможность применения гамма-стерилизации для исследованных объектов существует, но ограничена узким интервалом возможных условий стерилизации. Ранее было установлено, что оптимальным, с точки

зрения достижения стерильности, сохранения размера частиц и содержания доцетаксела является облучение с накопленной дозой 10 кГр, мощностью 0,5 Гр/с и экспозицией 5,57 ч [6].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных образцов показал, что полимерные композиции, содержащие доцетаксел, достаточно стабильны в условиях длительного хранения. По составу посторонних примесей, такие композиции отличаются от известных лекарственных форм доцетаксела, что, вероятно, связано с большой площадью поверхности полимерных частиц, на которой могут происходить процессы деградации доцетаксела. Принимаемые в настоящее время лекарственные формы доцетаксела являются комплексными растворами, в которых процессы деградации протекают иначе. Образование б-осодоцетаксела обусловлено способом получения препарата; дальнейшее снижение его содержания в процессе хранения указывает на нестабильность данной примеси. Характерной посто-



ронней примесью, содержание которой нарастает в процессе хранения ПКМПТ-Д, является, предположительно, 2'-эпидоцетаксел.

Гамма-стерилизация – предпочтительный метод стерилизации полимерных лекарственных форм, ввиду неприменимости иных способов стерилизации. Возможность использования гамма-стерилизации требует изучения характера воздействия ионизирующего облучения на препарат. Представленные результаты демонстрируют, что характер накопления примесей в облучённых образцах имеет свои выраженные особенности. В частности, отмечается взаимосвязь между количественным содержанием посторонних примесей, накопленной дозой и временем экспозиции. При подборе режима стерилизации для полимерных форм необходимо стремиться как к снижению дозы, так и к сокращению времени экспозиции, поскольку процессы деградации доцетаксела зависят от нее. Необходимы выделение и идентификация образующихся при гамма-стерилизации примесей, также изучение динамики изменения их содержания в процессе последующего длительного хранения. Метод гамма-стерилизации прост и удобен. Он позволяет стерилизовать продукцию после ее упаковки, что является одним из его достоинств. Стерилизация снижает риск микробной контаминации препарата по сравнению с приготовлением в асептических условиях. При подборе оптимальных условий, гамма-стерилизация может быть применена для широкого спектра полимерных форм, разработка которых ведётся в настоящее время.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Poltavets Y. I., Zhirnik A. S., Zavarzina V. V., Semochkina Y. P., Shuvatova V. G., Krashennnikova A. A., Aleshin S. V., Dronov D. O., Vorontsov E. A., Posypanova G. A., Balabanyan V. Y. *In vitro* anticancer activity of folate-modified docetaxel-loaded PLGA nanoparticles against drug-sensitive and multidrug-resistant cancer cells. *Cancer Nanotechnology*. 2019; 10: 2. DOI: 10.1186/s12645-019-0048-x.
2. Bushell J. A., Claybourn M., Williams H. E., Murphy D. M. An EPR and ENDOR study of  $\gamma$ - and  $\beta$ -radiation sterilization in poly (lactide-co-glycolide) polymers and microspheres. *J. Control. Release*. 2005; 110(1): 49–57. DOI: 10.1016/j.jconrel.2005.09.009.
3. Friess W., Schlapp M. Sterilization of gentamicin containing collagen/PLGA microparticle composites. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006; 63(2): 176–187. DOI: 10.1016/j.ejpb.2005.11.007.
4. Sintzel M.B., Merkli Al., Tabatabay C., Gurny R. Influence of Irradiation Sterilization on Polymers Used as Drug Carriers: A Review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1997; 23(9): 857–878. DOI: 10.3109/03639049709148693.
5. Maksimenko O., Pavlov E., Tushov E., Molin A., Stukalov Y., Prudskova T., Feldman V., Kreuter J., Gelperina S. Radiation sterilization of doxorubicin bound to poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 2008; 356(1-2): 325–332.
6. Poltavets Y. I., Zavarzina V. V., Kuznetsov S. L., Krashennnikova A. A., Dronov D. O., Gukasova N. V., Shuvatova V. G., Balabanyan V. Y. Development of docetaxel-loaded folate-modified poly(lactic-co-glycolic acid) particles. *J. Rep. Pharm. Sci.* 2019; 8: 253–261. DOI: 10.4103/jrptps.JRPTPS\_64\_19.
7. Vasu D. R., Moses B. J., Vyas K., Sai Ram P., Ramachandra P., Sekhar N. M., Mohan Reddy D. N., Srinivasa Rao N. Isolation and characterization of impurities in docetaxel. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006; 40(3): 614–622. DOI: 10.1016/j.jpba.2005.10.037.
8. Kumar D., Tomar R.S., Deolia S.K., Mitra M., Mukherjee R., Burman A.C. Isolation and characterization of degradation in docetaxel drug substance and its formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007; 43(4): 1228–1235. DOI: 10.1016/j.jpba.2006.10.015.
9. Reddy A. M., Banda N., Dagbu S. G., Rao D. V., Kocherlakota C. S., Krishnamurthy V. Evaluation of the Pharmaceutical Quality of Docetaxel Injection Using New Stability Indicating Chromatographic Methods for Assay and Impurities. *Sci. Pharm.* 2010; 78(2): 215–231. DOI: 10.3797/scipharm.0912-14.
10. United States Pharmacopeia USP 38–NF 33 <Docetaxel injection> P. 3180.
11. Sanzakov M. A., Ignatov D. V., Prozorovskyi V. N., Druzhilovskaia O. S., Medvedeva N. V., Ipatova O.M. Development of targeted drug delivery system: synthesis of conjugates of address fragment (RA-COOH) with ligand (R-NH2). *Biomeditsinskaia Khimiia*. 2014; 60(6), 713–716 (in Russ). DOI: 10.18097/pbmc20146006713.
12. European Pharmacopoeia 8.0 07/2012:2593 Docetaxel, anhydrous, P. 2090–2092.
13. European Pharmacopoeia 8.0 07/2012:2449 Docetaxel, trihydrate, P. 2092–2093.
14. Makadia H. K., Siegel S. J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers (Basel)*. 2011; 3(3): 1377–1397. DOI: 10.3390/polym3031377.