







В.М. Шукин ✉ 
Н.Е. Кузьмина 
Ю.Н. Швецова 
А.И. Лутцева 

Особенности разработки и валидации методик определения элементных токсикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Шукин Виктор Михайлович; schukin@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Изменение подхода к контролю качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП) по содержанию тяжелых металлов с суммарного определения калориметрическим методом на селективный анализ спектральными методами привело к тому, что многие производители этого вида лекарственных средств не смогли учесть новые требования при составлении регистрационных досье. Представляемые на экспертизу методики нуждаются в уточнении, валидационные протоколы не содержат всех необходимых данных. **Цель работы:** предложить производителям ЛРС и ЛРП рекомендации по выбору методов анализа, материалов и реактивов, способов минерализации органической матрицы, основных валидационных параметров методики, а также по проведению валидации при определении элементных токсикантов и по оформлению раздела «Тяжелые металлы и мышьяк» в нормативной документации на лекарственные средства. **Материалы и методы:** исследование основано на анализе и обобщении данных научной литературы, требований российских и зарубежных фармакопей, методических рекомендаций и стандартов по инструментальным методам анализа, а также на собственном опыте проведения элементного анализа различных видов ЛРС и ЛРП. **Результаты:** представлены рекомендации по выбору условий минерализации пробы для количественного определения элементных примесей в биологических объектах, обоснованы требования к реактивам, используемым материалам и оборудованию. Проведен сравнительный анализ используемых методов элементного анализа. Показано, что основные ошибки производителей связаны с игнорированием влияния органической матрицы на результат измерения и отсутствием согласованности между определяемой концентрацией элементной примеси и используемым диапазоном калибровочной кривой. Приведены критерии приемлемости для валидационных параметров методик определения тяжелых металлов и мышьяка в ЛРС и ЛРП. **Выводы:** использование стандартных образцов, в которых тяжелые металлы находятся в виде неорганических солей и не связаны с органическими соединениями, для анализа ЛРС и ЛРП следует признать некорректным. Для ряда валидационных параметров при отсутствии в отечественной фармакопее критериев их приемлемости рекомендуется использовать критерии, указанные в Европейской фармакопее и Фармакопее США.

Ключевые слова: тяжелые металлы; минерализация; валидация; специфичность; открываемость; линейность; правильность; прецизионность; критерии приемлемости

Для цитирования: Шукин В.М., Кузьмина Н.Е., Швецова Ю.Н., Лутцева А.И. Особенности разработки и валидации методик определения элементных токсикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(1):65–78. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-65-78>

V.M. Shchukin ✉ 
N.E. Kuz'mina 
Yu.N. Shvetsova 
A.I. Luttseva 

Development and Validation of Procedures for Determination of Elemental Toxicants in Herbal Substances and Herbal Medicinal Products

*Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation*

✉ **Victor M. Shchukin;** schukin@expmed.ru

ABSTRACT

When the approach to quality control of herbal substances (HSs) and herbal medicinal products (HMPs) changed from determination of the total content of heavy metals by calorimetry to selective determination by spectrometric techniques, many manufacturers of such products failed to meet the new requirements in their registration dossiers. Test procedures submitted by manufacturers often need to be clarified, and validation protocols often lack data. **The aim of the study** was to provide recommendations to HS and HMP manufacturers on the choice of test methods, materials, reagents, methods of organic matrix mineralisation, and main validation parameters, as well as recommendations on validation of the procedure for elemental toxicants determination, and preparation of the “Heavy metals and arsenic” part of the regulatory submission. **Materials and methods:** the study included analysis and systematisation of scientific literature, requirements of the Russian and foreign pharmacopoeias, guidelines, manuals on instrumental methods of analysis, and first-hand experience in elemental analysis of various types of HSs and HMPs. **Results:** the authors formulated recommendations on the choice of sample mineralisation conditions for quantification of elemental impurities in biological products, and substantiated requirements for the reagents, materials, and equipment. The paper compares different methods of elemental analysis. It was demonstrated that the main mistakes made by manufacturers stem from disregard to the organic matrix effect on the measurement results and lack of agreement between the impurity concentration being determined and the range of the calibration curve used. The paper gives acceptance criteria for validation parameters of test procedures for heavy metals and arsenic determination in HSs and HMPs. **Conclusions:** it is not correct to use reference standards containing heavy metals as inorganic salts not bound to organic compounds, for HS and HMP analysis. The criteria given in the European Pharmacopoeia and the United State Pharmacopoeia can be used for a number of validation parameters, when they are not included in the Russian Pharmacopoeia.

Key words: heavy metals; mineralisation; validation; specificity; recovery; linearity; accuracy; precision; acceptance criteria

For citation: Shchukin V.M., Kuz'mina N.E., Shvetsova Yu.N., Luttseva A.I. Development and validation of procedures for determination of elemental toxicants in herbal substances and herbal medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Reguljatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation.* 2022;12(1):65–78. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-65-78>

Введение

Разработка новых лекарственных средств синтетического происхождения не снижает интереса к использованию в медицинской практике лекарственных растений и продуктов на их основе. Растительное сырье перерабатывают для получения таких препаратов, как эфирное масло, жирное масло, брикеты, порошки и фильтр-пакеты, экстракты, настойки, эликсиры, бальзамы, лекарственные препараты на основе индивидуальных биологически активных соединений [1]. Сегмент лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на российском фармацевтическом рынке постоянно растет. Среди общего количества зарегистрированных лекарственных средств от 10 до 25% препаратов (по разным оценкам) производится из лекарственного растительного сырья (ЛРС) [2, 3]. Кроме того, экстракты, получаемые из ЛРС, также применяют для производства косметической продукции и получения биологически активных веществ [4].

Развитие рынка лекарственных препаратов растительного происхождения и разработка новых, более совершенных аналитических методов приводят к отказу от устаревших методик контроля качества ЛРС и ЛРП¹ [5]. В первую очередь это касается замены методик суммарного определения содержания тяжелых металлов в ЛРС и ЛРП калориметрическим методом на методики их селективного определения спектральными методами (атомно-абсорбционной спектроскопией (ААС), атомно-эмиссионной спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС), масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС)). В 2015 г. в общей фармакопейной статье ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) впервые были введены нормы содержания мышьяка, кадмия, свинца и ртути в ЛРС и ЛРП

и приведены примеры методик селективного определения этих контаминантов.

Изменение подхода к определению содержания тяжелых металлов в ЛРС и ЛРП (с суммарного на селективный) вызвало необходимость разрабатывать и валидировать методики селективного определения тяжелых металлов и мышьяка в конкретных видах выпускаемой продукции. Для многих из производителей ЛРС и ЛРП это был новый опыт, что послужило причиной появления многочисленных ошибок в составляемых ими регистрационных досье. Ситуация осложнилась тем, что рекомендации различных отечественных и зарубежных нормативных документов по разработке и валидации аналитических методик количественного определения элементных токсикантов в ЛРС и ЛРП² носят общий характер и по ряду аспектов не гармонизированы между собой. Как следствие, многие производители этого вида лекарственных средств не смогли учесть новые требования в своей нормативной документации (НД). В НД на ЛРС и ЛРП, представляемой на экспертизу, часто отсутствует необходимая для проведения анализа информация, а изложение методики нуждается в уточнении. Валидационная часть регистрационного досье на разработанные методики также не содержит всех необходимых данных, а использованные критерии оценки пригодности разработанных методик не соответствуют существующим рекомендациям³.

Цель работы – предложить производителям ЛРС и ЛРП рекомендации по выбору методов анализа, материалов и реактивов, способов минерализации органической матрицы, основных валидационных параметров методики, а также по проведению валидации при определении элементных токсикантов и по оформлению раздела «Тяжелые металлы и мышьяк» в нормативной документации на лекарственные средства.

¹ Elemental impurities: standards-setting record. United States Pharmacopeial Convention; 2012. https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/2012-12-20_elemental_impurities_standards-setting_record-full.pdf

² Быковский СН, ред. Руководство по экспериментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов. М.: Перо; 2014.
Береговых ВВ, ред. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств. М.: Литтерра; 2008.
Articles of botanical origin. General chapters 561. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019.
General monograph 2.4.27. Heavy metals analysis in herbal drugs and herbal drug preparations. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.
ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³ Там же.

Материалы и методы

Рекомендации составлены на основе собственного опыта проведения элементного анализа различных видов ЛРС и ЛРП [6, 7], обобщения данных научной литературы, требований ГФ РФ XIV изд., Фармакопеи США (USP), Европейской фармакопеи (Ph. Eur.), Фармакопеи Евразийского экономического союза (ЕАЭС), российских и зарубежных методических рекомендаций и стандартов по инструментальным методам анализа⁴, а также в результате анализа и обобщения ошибок, встречающихся при оформлении валидационных протоколов.

Результаты и обсуждение

Основными этапами анализа ЛРС и ЛРП являются: отбор проб, пробоподготовка, анализ испытуемых растворов, обработка результатов испытаний с оценкой их соответствия требованиям нормативной документации. Наиболее распространенным способом введения испытуемых образцов в атомизатор является распыление раствора, поэтому твердые образцы должны быть растворены перед началом анализа. Самым трудозатратным и вносящим наибольшую погрешность в результат измерения является этап пробоподготовки, так как максимально полный перевод элементов из органической матрицы ЛРС и ЛРП в испытуемый раствор для анализа (минерализация) сопряжен с определенными трудностями [7]. Элементы в этих образцах могут присутствовать в виде элементоорганических соединений, и для их извлечения, а также для разрушения органической матрицы образца требуется применять жесткие условия разложения и использовать сильные окислители⁵.

Риск потери целевых элементов из-за использования жестких условий разложения требует использования закрытых систем пробоподготовки [8, 9]. При использовании закрытых систем пробоподготовки (микроволновой или автоклавной) в проекте НД следует указывать параметры проведения разложения: время проведения каждого из этапов, температуру раствора. Указание

мощности обычно избыточно, так как в современных системах данный параметр подбирается оборудованием автоматически в зависимости от требуемой температуры. При использовании открытых систем необходимо указывать степень разложения и качественный показатель каждого этапа: цвет золы, степень упаривания раствора (досуха, до влажных солей и т.д.).

Так как матрица ЛРС и ЛРП содержит значительное количество органических и неорганических соединений, возникает проблема появления различного рода наложения сигналов (изобарные, полиатомные, многозарядные) [10] и влияния матричного эффекта [11]. Добавление к испытуемому образцу большого количества окислителей для минерализации пробы также увеличивает общую засоленность раствора, из-за чего усиливается матричный эффект. Кроме того, существует риск внесения определяемых элементов вместе с используемыми реактивами и лабораторной посудой, поэтому нужно использовать особо чистые окислители и по возможности уменьшать их количество.

При анализе следовых количеств токсикантов лабораторная посуда должна быть специально подготовлена, так как примеси могут быть адсорбированы на внутренней поверхности сосуда после анализа предыдущей пробы. Так как потери и загрязнения, связанные с используемой посудой, трудно предсказать и оценить, необходимо обращать особое внимание на ее очистку, хранение и учитывать предысторию использования [12]. Чтобы уменьшить загрязнения, необходимо использовать посуду из химически инертных материалов (полипропилен и полиэтилен), а также очищать ее с помощью растворов чистых азотной и (или) соляной кислот (1–10%) и воды очищенной, использование проточной воды для ополаскивания посуды не рекомендуется. Использование более концентрированной кислоты приводит к выщелачиванию поверхности стеклянной посуды. По возможности необходимо использовать одноразовую посуду.

⁴ ГОСТ 26929-94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. М.: ИПК Издательство стандартов; 2002.

МУК 4.1.1482-03. 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, поливитаминных препаратах с микроэлементами, в биологически активных добавках к пище и в сырье для их изготовления методом атомной эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргоновой плазмой. М.: Минздрав России; 2003.

МУК 4.1.985-00. Определение содержания токсичных элементов в пищевых продуктах и продовольственном сырье. Методика автоклавной пробоподготовки. М.: Минздрав России; 2000.

SW-846 Test Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. US EPA; 1996.

⁵ Там же.

Концентрация определяемых элементов в используемой воде и реактивах должна быть настолько низкой, чтобы не влиять на результат анализа. Чистота реактивов квалификации «для анализа», как правило, недостаточна и не рекомендована для реактивов, применяющихся для спектрального анализа, согласно действующим ОФС и ГОСТ. Следует либо приобретать реактивы лучшего качества, либо применять в качестве альтернативы дальнейшую очистку реактивов в лаборатории. Общие требования к реактивам, оборудованию и условиям проведения элементных анализов приведены в ГОСТ EN 13804-2013 «Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Критерии эффективности методик выполнения измерений, общие положения и способы подготовки проб», а также методических указаний⁶ для анализа образцов со сложной органической матрицей. В большинстве случаев отечественные производители ЛРП не учитывают квалификацию растворителей при разработке методик оценки количества элементных примесей в препарате и не указывают эту информацию при написании соответствующего раздела НД. Это может привести к получению завышенных результатов, особенно при определении ртути, содержание которой нормируется на относительно низком уровне. Очистка реактивов от тяжелых металлов требует дополнительных трудозатрат, но они окупаются за счет качества проводимых анализов.

Сравнительный анализ требований российской и зарубежных фармакопей к пробоподготовке ЛРС и ЛРП (способам минерализации, используемым реактивам) и методам элементного анализа приведен в таблице 1. Данные требования дополнены рекомендациями Агентства по охране окружающей среды США (United States Environmental Protection Agency, EPA), являющегося одним из основных мировых разработчиков методик анализа биологических объектов. Следует отметить, что согласно требованиям ГФ РФ⁷ в отличие от требований Ph. Eur. и USP разложение ЛРС и ЛРП допускается проводить в открытых сосудах (озоление в муфельной

печи и мокрое озоление при нагревании), хотя данные методы пробоподготовки ведут к существенной потере определяемых элементов [13, 14]. В Ph. Eur. и USP приведены требования использовать исключительно закрытые системы разложения. Согласно USP рекомендуется наряду с селективным определением содержания элементов также проводить селективное определение различных форм элементов (например, органического и неорганического мышьяка [15], общей ртути и метилртути)⁸.

Согласно требованиям ведущих фармакопей предусматривается проведение минерализации ЛРС и ЛРП с использованием сильных окислителей. Одно из требований к разрабатываемой методике – сокращение перечня используемых реактивов и упрощение процесса пробоподготовки. Наиболее удобным в использовании окислителем является азотная кислота. Для нее легко достижима высокая чистота (очистка производится в лабораторных условиях путем перегонки). Азотная кислота не является прекурсором наркотических средств (не требует специального учета и условий хранения), она малолетучая, имеет длительный срок хранения, соли азотной кислоты легко растворимы в воде. В процессе анализа с использованием индуктивно-связанной плазмы азотная кислота не образует соединений, вызывающих полиатомные наложения сигналов, что делает ее наиболее пригодным реактивом для минерализации проб. Во многих случаях для достижения приемлемой полноты извлечения элементов-токсикантов достаточно использования только концентрированной азотной кислоты [16]. Для минерализации сложных биологических объектов иногда требуется использование смеси азотной и соляных кислот [17], а также добавление пероксида водорода⁹.

Соляная кислота является прекурсором наркотических веществ, летуча, может образовывать газообразный хлор, часть ее солей трудно-растворимы, хлориды, образующиеся в процессе анализа с использованием масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, являются

⁶ МУК 4.1.1482-03. 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, поливитаминных препаратах с микроэлементами, в биологически активных добавках к пище и в сырье для их изготовления методом атомной эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой. М.; Минздрав России; 2003.

⁷ ОФС.1.5.3.009.15. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

⁸ Articles of botanical origin. General chapters 561. United State Pharmacopoeia USP 43–NF38. 2019.

⁹ Environmental Protection Agency (EPA). Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. EPA SW-846, Revision 3. Washington DC; 2004.

Таблица 1. Требования фармакопей и Агентства по охране окружающей среды США по проведению анализа на содержание тяжелых металлов и мышьяка в лекарственных растительных препаратах и лекарственном растительном сырье

Table 1. Pharmacopoeia and United States Environmental Protection Agency requirements for determination of heavy metals and arsenic in herbal substances and herbal medicinal products

Условия проведения анализа <i>Test conditions</i>	Государственная фармакопея Российской Федерации ¹⁰ <i>State Pharmacopoeia of the Russian Federation¹⁰</i>	Европейская фармакопея ¹¹ <i>European pharmacopoeia¹¹</i>	Фармакопея США ¹² <i>United States Pharmacopoeia¹²</i>	Рекомендации Агентства по охране окружающей среды США ¹³ <i>United States Environmental Protection Agency¹³</i>
Минерализация <i>Mineralisation</i>	Озоление в муфельной печи, открытые сосуды; мокрое озоление при нагревании, открытые сосуды; автоклав; микроволновое разложение <i>Muffle furnace ignition, open vessels; Wet ignition with heating, open vessels; Autoclave; Microwave digestion</i>	Микроволновое разложение, закрытые сосуды <i>Microwave digestion, closed vessels</i>	Микроволновое разложение, закрытые сосуды (для общего мышьяка и ртути); экстракция и анализ спектральными методами (неорганический мышьяк и метилртуть) <i>Microwave digestion, closed vessels (for total arsenic and mercury); Extraction and spectrometric analysis (inorganic arsenic and methylmercury)</i>	Микроволновое разложение, закрытые сосуды <i>Microwave digestion, closed vessels</i>
Реагенты <i>Reagents</i>	HF H ₂ SO ₄ + HCl HNO ₃ + HCl HNO ₃ + (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ H ₂ SO ₄ + HNO ₃ HNO ₃ + HCl концентрированные кислоты <i>Concentrated acids</i>	HNO ₃ + HCl HNO ₃ + H ₂ O	Концентрированные кислоты <i>Concentrated acids</i>	HNO ₃ + HF HNO ₃ + HF + HCl HNO ₃ + HF + HCl + H ₂ O ₂
Методы анализа <i>Test methods</i>	ААС (пламя и графитовая печь); ИСП-АЭС; ИСП-МС <i>AAS (flame and graphite furnace); ICP-AES; ICP-MS</i>	ААС (пламя и графитовая печь); ИСП-АЭС; ИСП-МС <i>AAS (flame and graphite furnace); ICP-AES; ICP-MS</i>	ИСП-АЭС; ИСП-МС <i>ICP-AES; ICP-MS</i>	ААС (пламя и графитовая печь); ИСП-АЭС; ИСП-МС <i>AAS (flame and graphite furnace); ICP-AES; ICP-MS</i>

Примечание. ААС – атомно-абсорбционная спектроскопия; ИСП-АЭС – атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой; ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой.

Note. AAS—atomic absorption spectrometry; ICP-AES—inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry; ICP-MS—inductively coupled plasma-mass spectrometry.

источником полиатомных наложений сигналов, которые заметно мешают определению мышьяка при данном способе анализа¹⁴.

Серная кислота также является прекурсором, многие ее соли труднорастворимы или нерастворимы (например, сульфат свинца). Серная кислота может разрушать поверхности тефлоновых виал для микроволнового разложения.

Хлорная кислота взрывоопасна, неустойчива при хранении, при ее использовании в анализе с индуктивно-связанной плазмой возможно образование хлоридов.

Фтористоводородная кислота используется в основном для разложения силикатов и чаще всего не требуется при анализе биологических объектов, так как ее использование практически

¹⁰ ОФС.1.5.3.009.15. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

¹¹ General monograph 2.4.27. Heavy metals analysis in herbal drugs and herbal drug preparations European Pharmacopoeia the 10th ed., Supplement 10.5. 2019. <http://www.edgm.eu>

¹² Elemental impurities—procedures. General chapters 233. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019. Plasma spectrochemistry. General chapters 730. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019.

¹³ Environmental Protection Agency (EPA). Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. EPA SW-846, Revision 3. Washington DC; 2004.

¹⁴ Memorandum regarding use of hydrochloric acid (HCl) in Digests for inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) analysis. https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/digestate_hci_1.pdf

не влияет на извлечение нормируемых элементов [18]. Использование плавиковой кислоты требует специального аппаратного оснащения спектрометров, так как даже слабые ее растворы разрушают систему подачи пробы.

Пероксид водорода имеет малый срок годности и требует специальных условий для хранения. Его использование целесообразно при необходимости большого количества окислителя без заметного увеличения кислотности испытуемого раствора [19]. В некоторых случаях при минерализации чистых субстанций возможно применение только пероксида водорода в условиях повышенной температуры и давления [20].

Для снижения общей засоленности испытуемых растворов, удешевления анализа и соответствия требованиям «зеленой» химии необходимо уменьшать количество используемых реактивов и общую кислотность образующихся испытуемых растворов¹⁵.

В проекте НД необходимо указывать все используемые при пробоподготовке и приготовлении калибровочных растворов реактивы, их чистоту и производителя (с указанием каталожных номеров), а также предусматривать возможность использования реактивов аналогичного качества других производителей.

Согласно требованиям ГФ РФ и Ph. Eur. рекомендовано использовать для определения содержания тяжелых металлов спектральные методы: ААС, ИСП-АЭС и ИСП-МС. Следует отметить, что с помощью ААС невозможно проводить одновременное селективное определение ртути, свинца, кадмия и мышьяка (для кадмия и свинца необходимо использовать пламенный метод атомизации, для мышьяка и ртути гидридную приставку или отдельный анализатор, так как данный метод обладает высоким пределом количественного определения (ПКО) и высоким пределом обнаружения (ПО)) [21], поэтому

согласно USP¹⁶ не рекомендуется использовать этот метод для анализа элементных токсикантов. Однако отечественные производители предпочитают использовать именно ААС по причине наименьшей стоимости оборудования.

Определение содержания изучаемого элемента проводят по калибровочной кривой, построенной с помощью стандартных растворов известной концентрации или с использованием метода стандартных добавок. При построении калибровочной кривой необходимо учитывать диапазон применения методики¹⁷. Одна из распространенных ошибок – отсутствие согласованности между номинальной концентрацией определяемой примеси и используемым диапазоном калибровочной кривой (ожидаемое значение концентрации определяемого элемента в испытуемом растворе находится вне диапазона концентраций стандартных растворов). Другая крайность – выбор излишне широкого диапазона калибровочной кривой. Следует помнить, что его увеличение и использование для построения калибровочной кривой добавочного количества точек ведет к уменьшению точности анализа в области низких калибровочных концентраций¹⁸, а также повышает трудозатраты, расход реактивов и загрязняет оборудование (особенно в случае анализа содержания ртути)¹⁹. Рекомендуется использовать 3–5 точек калибровки, включая холостой раствор. Для нивелирования матричного эффекта при применении метода калибровочной кривой часто требуется использование внутреннего стандарта, выбираемого индивидуально для каждого определяемого элемента [22–24]. Следует отметить, что метод стандартных добавок позволяет более полно учитывать влияние органической матрицы по сравнению с методом калибровочной кривой [25].

При описании методики в проекте НД не обязательно требовать проведения калибровки, используемой для валидационных исследований. Достаточно трех точек калибровки, находящихся

¹⁵ 12 Principles of green chemistry. ACS Green Chemistry Institute. <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/principles/12-principles-of-green-chemistry.html>

¹⁶ Digest of comments received on the stimuli article “General chapter on inorganic impurities: heavy metals”. Published in Pharmacopoeial Forum 34(5) April 22, 2009.

¹⁷ ОФС.1.2.1.1.0004.15 Атомно-эмиссионная спектрометрия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

ОФС.1.2.1.1.0005.18 Атомно-абсорбционная спектроскопия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

¹⁸ White paper. Sensitivity, background, noise, and calibration in atomic spectroscopy: effects on accuracy and detection limits. Perkin Elmer Inc. Shelton CT; 2017.

¹⁹ Gray PJ, Mindak WR, Cheng J. Inductively coupled plasma-mass spectrometric determination of arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and other elements in food using microwave assisted digestion. Version 1.1. Elemental analysis manual. FDA; 2015.

в доказанном диапазоне линейности методики. В качестве критерия приемлемости методики необходимо указывать коэффициент корреляции, получаемый при построении калибровочной кривой (обычно $r = 0,99$).

В каждом НД необходимо приводить формулу расчета концентраций определяемых элементов в препарате с использованием концентраций испытуемых растворов, определенных по калибровочной кривой и с учетом концентраций целевых элементов в холостом растворе. Также в расчетной формуле необходимо учитывать степень разбавления и навеску испытуемого образца.

Основные требования к разработке методик определения тяжелых металлов и мышьяка в ЛРС и ЛРП приведены в ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV изд., а также в руководстве по инструментальным методам анализа²⁰. Общие требования к валидации аналитических методик количественного определения примесей приведены в Руководстве ЕАЭС²¹, а также в соответствующих статьях ГФ РФ XIV изд.²² Многие вопросы применения валидационных параметров рассмотрены в отечественных и зарубежных рекомендациях²³. Следует отметить, что в Фармакопее ЕАЭС (ОФС.2.4.27 «Тяжелые металлы и мышьяк в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах») закреплено требование обязательной валидации производителем фармакопейных методик количественного определения содержания тяжелых металлов в ЛРС и ЛРП спектральными методами с учетом используемого оборудования

для проведения пробоподготовки и элементного анализа. Такое же требование предусмотрено и в ГФ РФ²⁴.

Перед началом выполнения испытаний на чистоту лекарственного средства спектральными методами необходимо провести испытание на пригодность системы. Основными критериями приемлемости являются: отсутствие видимых механических примесей (для раствора), измеренная концентрация стандартного раствора элемента, находящаяся в пределах диапазона концентраций используемой калибровочной кривой, не должна отличаться от фактической концентрации более чем на 20% (для оборудования)²⁵.

Основные валидационные параметры методик определения содержания тяжелых металлов и мышьяка в ЛРС и ЛРП спектральными методами и критерии их приемлемости приведены в таблице 2.

Важным валидационным параметром аналитической методики является ее специфичность. С помощью методики должно быть возможно однозначно определять и оценивать количество элемента в присутствии всех возможных влияющих компонентов, в том числе других тяжелых металлов, элементов и соединений матричного раствора и других источников помех. Специфичность спектральных методов подтверждается путем регистрации аналитического сигнала от стандартного образца определяемого элемента в испытуемом растворе. Специфичность необходимо подтверждать при валидации каждой конкретной методики определения элементных примесей, несмотря на то что данная методика приведена в фармакопее²⁶.

²⁰ Быковский СН, ред. Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов. М.: Перо; 2014.

²¹ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113 «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств».

²² ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018. ОФС.1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

²³ Юргель НВ, ред. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (методические рекомендации). М.: Спорт и культура–2000; 2007.

Эрмер Й, Миллер Дж. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучшей практики. М.: ВИАЛЕК; 2013.

²⁴ ОФС.1.5.3.0009.15. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

²⁵ ОФС.2.1.4.21. Тяжелые металлы и мышьяк в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Фармакопея Евразийского экономического союза. General monograph 2.4.20. Determination of elemental impurities. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

²⁶ WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-seventh report. Geneva: WHO; 2013.

Таблица 2. Критерии приемлемости валидационных параметров аналитических методик определения тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах**Table 2.** Acceptance criteria for validation parameters of test procedures for determination of heavy metals and arsenic in herbal substances and herbal medicinal products

Параметр <i>Parameter</i>	Критерии приемлемости <i>Acceptance criteria</i>		
	Государственная фармакопея Российской Федерации ²⁷ <i>State Pharmacopoeia of the Russian Federation²⁷</i>	Европейская фармакопея ²⁸ и Фармакопея Союза ²⁹ <i>European pharmacopoeia²⁸ and Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union²⁹</i>	Фармакопея США ³⁰ <i>United States Pharmacopoeia³⁰</i>
Специфичность <i>Specificity</i>	Соответствие требованию для правильности определения содержания элемента <i>Demonstrated by complying with the accuracy requirement</i>		
Открываемость <i>Recovery</i>	Критерий отсутствует <i>No criteria</i>	70–150% от истинного для среднего из трех измерений <i>70–150% for the mean of three replicates at each concentration</i>	70–150% от истинного для среднего из трех измерений <i>70–150% for the mean of three replicates at each concentration</i>
Предел количественного определения <i>Limit of quantification</i>	10×сигнал/шум <i>10×signal/noise</i>	Ниже предельного значения по спецификации (50% от предельно допустимой концентрации) <i>Below the specification limit (50% of the maximum admissible concentration)</i>	Ниже предельного значения по спецификации (50% от предельно допустимой концентрации) <i>Below the specification limit (50% of the maximum admissible concentration)</i>
Диапазон применения <i>Range</i>	До 120% от предела количественного определения (или предела обнаружения) <i>Up to 120% of the limit of quantification (or limit of detection)</i>	В пределах линейного диапазона методики <i>Within the linear range of the method</i>	50–150% для каждого определяемого элемента <i>50–150% for each target element</i>
Линейность <i>Linearity</i>	Коэффициент корреляции $\geq 0,990$ ($\geq 0,9$ для следовых количеств) <i>Correlation coefficient ≥ 0.990 (≥ 0.9 for trace amounts)</i>	Коэффициент корреляции $\geq 0,99$ <i>Correlation coefficient ≥ 0.99</i>	Коэффициент корреляции $\geq 0,995$ <i>Correlation coefficient ≥ 0.995</i>
Правильность <i>Accuracy</i>	Значения, принимаемые за истинные, должны лежать внутри доверительного интервала <i>Values accepted as true must lie within the confidence interval</i>	Выполнение требований для открываемости <i>Demonstrated by complying with the Recovery requirement</i>	Выполнение требований для открываемости <i>Demonstrated by complying with the Recovery requirement</i>
Повторяемость (Сходимость) <i>Repeatability</i>	$RSD \leq 1\%$	$RSD \leq 20\%$ (0,01–1 мг/кг) $RSD \leq 10\%$ (>1 мг/кг) $RSD \leq 20\%$ (0,01–1 мг/кг) $RSD \leq 10\%$ (>1 мг/кг)	$RSD \leq 20\%$
Внутрилабораторная прецизионность <i>Intermediate precision</i>	$RSD \leq 1\%$	$RSD \leq 32\%$ (0,01–1 мг/кг) $RSD \leq 16\%$ (>1 мг/кг) $RSD \leq 32\%$ (0,01–1 мг/кг) $RSD \leq 16\%$ (>0.1 мг/кг)	$RSD \leq 25\%$

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.**Note.** RSD—relative standard deviation.

²⁷ ОФС.1.5.3.0009.15. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018. ОФС.1.2.1.1.0004.15. Атомно-эмиссионная спектрометрия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

²⁸ General monograph 2.4.27. Heavy metals analysis in herbal drugs and herbal drug preparations. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

²⁹ ОФС.2.1.4.21. Тяжелые металлы и мышьяк в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Фармакопея Евразийского экономического союза.

³⁰ Elemental impurities—procedures. General chapters 233. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019. Plasma spectrochemistry. General chapters 730. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019.

Одним из важнейших требований, предъявляемых к аналитической методике, является обеспечение полноты извлечения исследуемых элементов, которая характеризуется параметром «открываемость». Самым простым способом определения открываемости является внесение в ЛРП рассчитанного количества стандартных образцов (СО) тяжелых металлов для получения модельной смеси и сравнение этого количества с найденным в растворе после минерализации [16]. Этот способ не является полностью корректным (хотя и допускается), так как тяжелые металлы в СО находятся в легко доступной форме и не связаны с органическими соединениями. Более корректным является использование СО растительного сырья, аттестованных по содержанию тяжелых металлов. Желательно, чтобы СО содержал все нормируемые элементы в концентрациях, близких к установленному спецификацией предельному значению, но наземные высшие растения обычно не накапливают столько элементных токсикантов. Ртуть в количествах, близких к нормируемым, содержится в основном в морской биоте. В связи с этим для качественной валидации методики требуется использовать несколько разных СО.

Открываемость доказывают не менее чем на трех образцах, содержащих определяемый элемент в диапазоне 50–150% от установленного спецификацией предельного значения³¹. В соответствии с требованиями Ph. Eur. и USP открываемость должна составлять 70–150% от истинного для среднего из трех измерений³². В отечественной фармакопее требования к открываемости отсутствуют.

Для спектральных методов ПКО является количественной характеристикой спектрометра, которая позволяет оценить чувствительность спектрометра при анализе того или иного элемента и оценить пригодность прибора для использования при анализе содержания элементных токсикантов в ЛРС и ЛРП. В соответствии с ГФ РФ XIV изд. для инструментальных методов (включая спектральные) ПКО принято определять как величину соотношения «сигнал/шум»

(10:1). Ph. Eur. и USP используют другой подход, регламентирующий величину ПКО в пределе 50% от установленного спецификацией допустимого содержания элемента.

Диапазон применения (аналитическая область) методики – это интервал между наибольшей и наименьшей концентрациями (количествами) определяемого вещества в образце (включая эти концентрации), для которого показано, что аналитическая методика имеет приемлемый уровень прецизионности, правильности и линейности. В соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV изд. верхняя граница диапазона применения методики составляет 120%³³ от установленного спецификацией предельно допустимого содержания примеси, нижняя граница диапазона – значение ПКО (или ПО) элементной примеси.

Линейность методики является одним из необходимых валидационных параметров, требующих подтверждения. Линейность методики – это способность (в заданном диапазоне) получать результаты теста, которые прямо пропорциональны концентрации (количеству) аналита в образце. Согласно требованиям ГФ РФ XIV изд. и рекомендациям Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)³⁴ для подтверждения линейности используют не менее пяти образцов с различными концентрациями определяемых элементов. Важно отметить, что при валидации методики производители часто используют водные растворы стандартных образцов определяемых элементов. Данный способ служит лишь для подтверждения работоспособности оборудования и не может применяться для подтверждения линейности методики, так как не учитывает матричные эффекты пробы. Линейность необходимо подтвердить, используя СО растительного сырья, аттестованный по содержанию тяжелых металлов, либо испытуемый раствор со внесенной добавкой определяемого элемента.

³¹ ОФС.2.1.4.21 Тяжелые металлы и мышьяк в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Фармакопея Евразийского экономического союза.

³² General monograph 2.4.27. Heavy metals analysis in herbal drugs and herbal drug preparations. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019. Elemental impurities—procedures. General chapters 233. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019.

³³ ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³⁴ ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). ICH harmonised tripartite guideline. Step 4. European Medicines Agency. London: EMA; 2005.

Допускается использование модельных смесей, компонентами которых являются ЛРС (ЛРП) и СО определяемых элементов³⁵. В валидационном протоколе должны быть указаны коэффициент корреляции, точка пересечения с осью Y и наклон калибровочной кривой. В соответствии с фармакопейными требованиями методика является пригодной, если соблюдено требование к величине коэффициента корреляции. При этом на калибровочном графике погрешности каждого калибровочного уровня должны быть распределены случайным образом³⁶.

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное. В соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV изд. методика признается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике. Критерии приемлемости оценки правильности отдельно для ЛРС и ЛРП отсутствуют. В зарубежных фармакопеях правильность методик количественного определения элементных примесей в ЛРС и ЛРП выражают величиной открываемости в процентах. Согласно USP правильность оценивают по результатам количественного определения вещества, добавленного в известном количестве в анализируемый образец, или разностью между полученным средним и истинным/опорным значениями с учетом соответствующих доверительных интервалов³⁷. Согласно требованиям Ph. Eur. и Фармакопеи ЕАЭС рекомендовано для подтверждения правильности использовать СО, аттестованные по содержанию тяжелых металлов, либо проводить сравнение с результатами, полученными при определении открываемости, обязательно с учетом матри-

цы испытуемого образца³⁸. Согласно USP и Ph. Eur. в анализе элементных примесей правильность оценивают на уровнях 50, 100 и 150% от установленного спецификацией предельного значения.

Прецизионность на различных уровнях (сходимость и внутрिलाбораторную прецизионность) характеризуют величиной *RSD* — параметром, характеризующим точность измерения. Наиболее четко критерий приемлемости полученных значений *RSD* описан в Ph. Eur.: в соответствующей монографии приведена градация допустимого уровня *RSD* с учетом концентрации примеси (меньше или больше 1 ppm), отдельные значения приведены для ЛРС и ЛРП³⁹. В USP для спектральных методов элементного анализа даны максимально допустимые значения *RSD* с учетом типа лекарственного средства (субстанция или препарат) и с учетом количества определяемого вещества (основного действующего вещества в препарате или примеси)⁴⁰. ГФ РФ не предоставляет общих рекомендаций по критериям оценки приемлемости значений *RSD*, полученных при определении прецизионности аналитической методики. Однако в ОФС.1.2.1.1.0004.15 «Атомно-эмиссионная спектрометрия» ГФ РФ XIV изд. рекомендовано при количественных измерениях руководствоваться максимально допустимым значением *RSD* 1% без привязки к уровню прецизионности, типу лекарственного средства и уровню концентраций определяемого вещества. Следует отметить, что *RSD* = 1% в элементном анализе — труднодостижимая величина. Ее можно получить, если анализировать концентрированный одноэлементный водный раствор. Для реальных многокомпонентных смесей со сложной органической матрицей достигнуть такого значения *RSD* при определении прецизионности методики — невыполнимая задача. Значения *RSD*, предлагаемые фармакопей ЕАЭС и соответствующие

³⁵ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113 «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств». Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). ICH harmonised tripartite guideline. Step 4. European Medicines Agency. London: EMA; 2005.

³⁶ Юргель НВ, ред. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (методические рекомендации). М.: Спорт и культура—2000; 2007.

³⁷ Validation of compendial procedures. General chapters 1225. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019.

³⁸ General monograph 2.4.27. Heavy metals analysis in herbal drugs and herbal drug preparations. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019. ОФС.2.1.4.21 Тяжелые металлы и мышьяк в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Фармакопея Евразийского экономического союза.

³⁹ General monograph 2.4.27. Heavy metals analysis in herbal drugs and herbal drug preparations. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

⁴⁰ Plasma spectrochemistry. General chapters 730. United State Pharmacopoeia USP43–NF38. Rockville, MD; 2019.

требованиям Ph. Eur. (табл. 2), лучше коррелируют с практикой элементного анализа биологических объектов [23], поэтому мы рекомендуем использовать их при разработке и валидации методик определения элементных примесей в ЛРС и ЛРП.

Выводы

На основе анализа требований российских и зарубежных фармакопей, методических указаний, стандартов и руководств по инструментальным методам анализа, а также учитывая собственный опыт проведения экспертиз качества ЛРС и ЛРП по показателю «Содержание тяжелых металлов и мышьяка», можно сделать следующие выводы:

1) разработка и валидация методик определения тяжелых металлов и мышьяка в ЛРС и ЛРП имеют свою специфику, обусловленную сложностью извлечения элементов из органической матрицы и ее существенным влиянием

на результат измерения. В связи с этим при разработке и валидации таких методик рекомендуется использовать стандартные образцы (СО) растительного сырья, аттестованные по содержанию тяжелых металлов. Применение СО, в которых тяжелые металлы находятся в легкодоступной форме (в виде неорганических солей) и не связаны с органическими соединениями, некорректно;

2) для использования представленных в отечественной и зарубежных фармакопеях методик определения содержания тяжелых металлов в ЛРС и ЛРП спектральными методами производителю обязательно требуется их предварительная валидация с учетом используемого оборудования для проведения пробоподготовки и элементного анализа;

3) для ряда валидационных параметров в ГФ РФ XIV изд. отсутствуют критерии их приемлемости. В этом случае рекомендуется использовать критерии, приведенные в зарубежных фармакопеях (Ph. Eur. и USP).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Русакова ОА, Ральченко ИВ, Герберт ИЯ, Вердиева СИ. Изучение аптечного ассортимента фитопрепаратов. *Фармация и фармакология*. 2015;3(6):54–9. [Rusakova OA, Ralchenko IV, Gerbert IYa, Verdieva SI. The study for the pharmacy range of herbal medicinal products. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology* 2015;3(6):54–9 (In Russ.)] [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-6\(13\)-54-59](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-6(13)-54-59)
2. Филиппова И. Рынок растительных средств: проблемы, перспективы, приоритеты. *Ремедиум*. 2016;(7–8):15–6. [Filipova I. The market of herbal remedies: problems, prospects, priorities. *Remedium = Remedium*. 2016;(7–8):15–6 (In Russ.)]
3. Бойко НН, Бондарев АВ, Жилиякова ЕТ, Писарев ДИ, Новиков ОО. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации. *Научный результат*. 2017;3(4):30–8. [Boiko NN, Bondarev AV, Zhilyakova ET, Pisarev DI, Novikov OO. Phytodrugs, analysis of Russian Federation pharmaceutical market. *Naychny rezultat = Research Result*. 2017;3(4):30–8 (In Russ.)]
4. Евсеева СБ, Сысуев ББ. Экстракты растительного сырья как компоненты косметических и наружных лекарственных средств: ассортимент продукции, особенности получения (обзор). *Фармация и фармакология*. 2016,4(3):4–37. [Evseeva SB, Syusuev BB. Plant raw material extracts as components of cosmetic products and formulations for topical administration: the product range, the production characteristics (review). *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology*. 2016,4(3):4–37 (In Russ.)] <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-3-4-37>
5. Кузьмина НЕ, Шукин ВМ, Северинова ЕЮ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Изменение методов к нормированию содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(7):52–6. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2015-49-7-52-56> [Kuz'mina NE, Shchukin VM, Severinova EYu, Yashkir VA, Merkulov VA. Changes in the approaches to the normalization of heavy metal contents in medicinal herbs and herbal medicines (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(7):490–4] <https://doi.org/10.1007/s11094-015-1312-y>
6. Шукин ВМ, Жигилей ЕС, Ерина АА, Швецова ЮН, Кузьмина НЕ, Лутцева АИ. Валидация методики определения ртути, свинца, кадмия и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах на его основе методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(9):57–64. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-9-57-64> [Shchukin VM, Zhigilei ES, Erina AA, Shvetsova YuN, Kuz'mina NE, Luttseva AI. Validation of an ICP-MS method for the determination of mercury, lead, cadmium and arsenic in medicinal plants and related drug preparations. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54(9):968–76] <https://doi.org/10.1007/s11094-020-02306-8>
7. Шукин ВМ, Северинова ЕЮ, Кузьмина НЕ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Усовершенствование методики пробоподготовки при количественном определении тяжелых металлов в цветках ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla*) методом ИСП-АЭС. *Успехи современного естествознания*. 2016;(6):53–8. [Shchukin VM, Severinova EYu, Kuz'mina NE, Yashkir VA, Merkulov VA. The improving method of sample preparation for the quantitative determination of heavy metals in the flowers

- of chamomile (*Matricaria chamomilla*) by ICP-AES. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in Current Natural Sciences*. 2016;(6):53–8 (In Russ.)]
8. Ellison SLR, Hardcastle WA. Causes of error in analytical chemistry: results of a web-based survey of proficiency testing participants. *Accred Qual Assur*. 2012;17(4):453–64. <https://doi.org/10.1007/s00769-012-0894-2>
 9. González A, Armenta S, Pastor A, de la Guardia M. Searching the most appropriate sample pretreatment for the elemental analysis of wines by inductively coupled plasma-based techniques. *J Agric Food Chem*. 2008;56(13):4943–54. <https://doi.org/10.1021/jf800286y>
 10. Altundag H, Tuzen M. Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP-OES. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(11):2800–7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.07.064>
 11. Лейкин АЮ, Якимович ПВ. Системы подавления спектральных интерференций в масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. *Журнал аналитической химии*. 2012;67(8):752–62. [Leykin AYU, Yakimovich PV. Systems for the suppression of spectral interferences for inductively coupled plasma mass-spectrometry. *J Anal Chem*. 2012;67(8):677–86] <https://doi.org/10.1134/S1061934812080047>
 12. Balam V. Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers. *Trends Anal Chem*. 2016;80(2):83–95. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.001>
 13. Коркина Д, Кларк-Карская Ю, Иванова А, Захарова А, Кузин А, Гринштейн И. Чистое рабочее место – комплексное решение проблемы загрязнений проб при проведении следового элементного анализа. *Аналитика*. 2016;(2):58–68. [Korkina D, Clark-Karska Yu, Ivanova A, Zakharova A, Kuzin A, Grinshtein I. A clean workplace – a comprehensive solution to the problem of sample contamination during trace element analysis. *Analitika = Analytics*. 2016;(2):58–68 (In Russ.)]
 14. Sun C, Liu H, Zhang B, Wei D, Huang L, Wu C. Profile differences of trace elements in vegetables and fruits resulting from various digestion procedures. In: *2011 International Conference on New Technology of Agricultural*. IEEE; 2011. P. 905–9. <https://doi.org/10.1109/icae.2011.5943935>
 15. Demirel S, Tuzen M, Saracoglu S, Soylak M. Evaluation of various digestion procedures for trace element contents of some food materials. *J Hazard Mater*. 2008;152(3):1020–6. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.077>
 16. Щукин ВМ, Ерина АА, Лисман ЕС, Ваганова ОА. Проблемы нормирования мышьяка в бурых водорослях и лекарственных препаратах на их основе. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):167–72. [Shchukin VM, Erina AA, Lisman ES, Vaganova OA. Problems of establishing limits for arsenic content in brown algae and brown algae-containing medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ehkspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):167–72 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-167-172>
 17. Dimpe KM, Ngila JC, Mabuba N, Nomngongo PN. Evaluation of sample preparation methods for the detection of total metal content using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) in wastewater and sludge. *Phys Chem Earth*. 2014;76–78:42–8. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2014.11.006>
 18. Das S, Ting YP. Evaluation of wet digestion methods for quantification of metal content in electronic scrap material. *Resources*. 2017;6(4):64. <https://doi.org/10.3390/resources6040064>
 19. Nóbrega JA, Pirola C, Fialho LL, Rota G, de Campos Jordão CE, Pollo F. Microwave-assisted digestion of organic samples: how simple can it become? *Talanta*. 2012;98:272–6. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.079>
 20. Anschau KF, Enders MS, Senger CM, Duarte FA, Dressler VL, Muller EI. A novel strategy for medical foods digestion and subsequent elemental determination using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Microchem J*. 2019;147:1055–60. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.009>
 21. Thomas R. Determining elemental impurities in pharmaceutical materials: how to choose the right technique. *Spectroscopy*. 2015;30(3):30–42.
 22. Carter JA, Barros AI, Nóbrega JA, Donati GL. Traditional calibration methods in atomic spectrometry and new calibration strategies for inductively coupled plasma mass spectrometry. *Front Chem*. 2018;6:504. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00504>
 23. Masson P, Dalix T, Bussiere S. Determination of major and trace elements in plant samples by inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Comm Soil Sci Plant Anal*. 2010;41(3):231–43. <https://doi.org/10.1080/00103620903460757>
 24. Salit ML, Turk GC, Lindstrom AP, Butler TA, Beck CM, Norman B. Single-element solution comparisons with a high-performance inductively coupled plasma optical emission spectrometric method. *Anal Chem*. 2001;73(20):4821–9. <https://doi.org/10.1021/ac0155097>
 25. Chahrour O, Malone J, Collins M, Salmon V, Greenan C, Bombardier A, et al. Development and validation of an ICP-MS method for the determination of elemental impurities in TP-6076 active pharmaceutical ingredient (API) according to USP <232>/<233>. *J Pharm Biomed Anal*. 2017;145:84–90. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.06.045>

Вклад авторов. В.М. Щукин – идея исследования, анализ литературы, написание текста; Н.Е. Кузьмина – редактирование текста, формулировка выводов; Ю.Н. Швецова – анализ литературы, написание текста; А.И. Лутцева – ответственность за все аспекты работы.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

Конфликт интересов. Н.Е. Кузьмина является членом редколлегии журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Viktor M. Shchukin—elaboration of the idea of the study, literature review, writing of the original draft; Natalia E. Kuz'mina—editing of the text, formulation of the conclusions; Yulia N. Shvetsova—literature review, writing of the text; Anna I. Luttseva—coordination and supervision of the study.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400083-1).

Conflict of interest. Natalia E. Kuz'mina is a member of the Editorial Board of *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory research and medicine evaluation*, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Щукин Виктор Михайлович.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>
Schukin@expmed.ru

Кузьмина Наталия Евгеньевна, д-р хим. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
KuzminaN@expmed.ru

Швецова Юлия Николаевна.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-6174>
shvetsovajn@expmed.ru

Лутцева Анна Ивановна, канд. фарм. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8752-5245>
Lutceva@expmed.ru

Victor M. Shchukin.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>
Schukin@expmed.ru

Natalia E. Kuz'mina, Dr. Sci. (Chem.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
KuzminaN@expmed.ru

Yulia N. Shvetsova.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-6174>
shvetsovajn@expmed.ru

Anna I. Luttseva, Cand. Sci. (Pharm.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8752-5245>
Lutceva@expmed.ru

Статья поступила 11.10.2021

После доработки 21.01.2022

Принята к печати 04.03.2022

Article was received 11 October 2021

Revised 21 January 2022

Accepted for publication 4 March 2022