

Стандартные образцы состава биологически активных субстанций

Е. В. Кулябина¹, А. Н. Тевяшова², С. Е. Соловьева², О. Н. Мелкова¹, Е. А. Гуськова¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы, Москва, Российская Федерация, e-mail: kuliabina@vniims.ru, melkova@vniims.ru, e.guskova@vniims.ru

²Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Российская Федерация, e-mail: chulis@mail.ru

Для обеспечения единства измерений и обеспечения метрологической прослеживаемости результатов измерений в сфере государственного регулирования обеспечения единства измерений, в том числе в сферах здравоохранения и фармацевтики, необходимы стандартные образцы состава, свойств и структуры веществ. В настоящее время в Федеральном информационном фонде Российской Федерации насчитывается примерно 9000 стандартных образцов, среди которых только около 30 стандартных образцов предназначены для применения в фармацевтике и медицине. Этого количества явно недостаточно для полноценного метрологического обеспечения указанных областей. В настоящей статье описаны основные этапы и результаты исследований по разработке стандартных образцов состава исходных фармацевтических субстанций амфотерицина Б, натамицина, оливомицина А. Идентифицированы основные вещества созданных стандартных образцов. Определены массовые доли родственных соединений, остаточных органических растворителей и неорганических примесей (катионов железа и тяжелых металлов). Результаты работ использованы при утверждении типов стандартных образцов состава исходных фармацевтических субстанций амфотерицина Б, натамицина, оливомицина А.

Ключевые слова: стандартные образцы, стандартные образцы состава, антибиотики, амфотерицин Б, натамицин, оливомицин А.

Введение. Стандартный образец (СО) – материал, достаточно однородный и стабильный в отношении определенных свойств для того, чтобы использовать его при измерении или при оценивании качественных свойств в соответствии с предполагаемым назначением [1]. Стандартные образцы (СО) используются в различных сферах государственного регулирования в области обеспечения единства измерений для передачи размера величины, калибровки, поверки средств измерений, аттестации и валидации методик измерений. Например, с помощью СО проводят калибровку и поверку таких приборов количественного анализа, как анализаторы биологических проб, биохимические анализаторы, анализаторы электролитов и газов крови, масс-спектрометры, хромато-масс-спектрометры для измерений массовой концентрации анализируемого соединения в биологических пробах, фармацевтических субстанциях, для определения молекулярных масс пептидов и белков и т. д.

Полученные с использованием СО результаты количественных измерений содержания различных веществ в биологическом материале (жидкостях и тканях организма человека), применяются для диагностики заболеваний, экспертных исследований в процессе выполнения судебно-медицинских экспертиз, а также освидетельствования граждан. Все результаты должны соответствовать положениям Федерального закона от 21 ноября 2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и стандарта ГОСТ 31886-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)».

Выполнение количественных измерений в фармацевтике необходимо для установления соответствия лекарственных средств Государственной фармакопее РФ XIV издания, 2018 г.: ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы», ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», ОФС.1.4.1.0001.15 «Лекарственные формы», в рамках выполнения Федерального закона от 12 апреля 2010 года № 323-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и стандарта ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств (GMP)».

Согласно ГОСТ ISO 17511-2011 «Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам» результаты количественных измерений должны прослеживаться к наивысшему доступному уровню иерархии калибровки – национальным эталонам или первичным референтным методикам измерений, а измерения должны выполняться по аттестованным методикам и с применением СО утвержденных типов.

Стандартные образцы состава антибиотиков амфотерицина Б, оливомицина А, натамицина. С применением существующих СО утвержденных типов (около 30 штук), которые могут применяться в сферах здравоохранения и фармацевтики, невозможно метрологически обеспечить измерения, проводимые в указанных областях. При этом в мире существует более 600 таких зарубежных СО (Каталоги стандартных образцов: Института эталонных

материалов и измерений Объединённого исследовательского центра Европейской комиссии – IRMM 2015 [сайт]. URL: https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/rm_catalogue.pdf, Национального института стандартов и технологий США – NIST 2018 [сайт]. URL: <https://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/SpecialPublications/NIST.SP.260-176-2018.pdf>, Всемирной организации здравоохранения – WHO [сайт]. URL: <https://www.who.int/bloodproducts/catalogue/en/>, Национального института метрологии Китая – NIM [сайт]. URL: <https://en.nim.ac.cn/taxonomy/term/122>, База данных стандартных образцов высшего порядка, методик измерений/метрологических процедур и услуг Объединённого комитета по прослеживаемости в лабораторной медицине – JCTLM [сайт]. URL: <https://www.bipm.org/jctlm/>. В последние годы активно ведутся работы по разработке и утверждению новых СО. В рамках выполнения опытно-конструкторских работ по теме «Биоаналитика» для обеспечения метрологической прослеживаемости результатов измерений состава фармацевтических субстанций сотрудниками ВНИИМС совместно со специалистами НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе были созданы и испытаны (для целей утверждения типа) СО состава фармацевтических субстанций (антибиотиков) амфотерицина Б [2, 3], оливомицина А [4], натамицина [5].

Использованные для изготовления СО материалы относятся к категории чистых веществ, что подтверждено сертификатами изготовителей. Аттестованные значения СО антибиотиков установлены косвенным методом, включающим измерения концентрации примесей и вычисления содержания основного компонента с предварительной идентификацией основного вещества и примесей.

Идентификация и подтверждение химической структуры основного вещества СО. Для идентификации и подтверждения химической структуры основного вещества применяли методы спектрометрии ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Подтверждение химической структуры основных веществ, а также измерения массовой доли сопутствующих примесей (родственных соединений) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием при ионизации электрораспылением.

Идентификацию на основе ЯМР-анализа проводили в соответствии с Общей фармакопейной статьёй Государственной фармакопеи РФ ОФС.1.2.1.1.0007.15. Испытываемые образцы растворяли в DMSO-d₆, отношение сигналов определяли относительно сигналов растворителя DMSO-d₆. Спектры регистрировали при частотах 400 и 100 МГц соответственно для изотопов водорода ¹H (рис. 1) и углерода ¹³C.

Погрешность идентификации определялась погрешностью (стандартной неопределённостью $u(I)$) интегрирования сигнала и зависела от соотношения сигнал–шум (S/N):

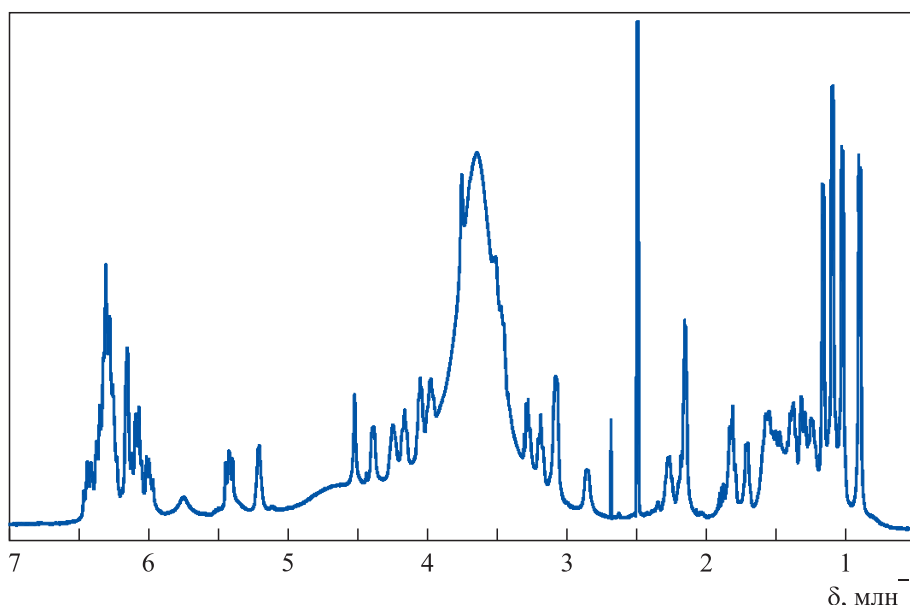


Рис. 1. ¹H ЯМР-спектр амфотерицина Б (DMSO-d₆)

Fig. 1. Amphotericin B (DMSO-d₆) ¹H NMR spectrum

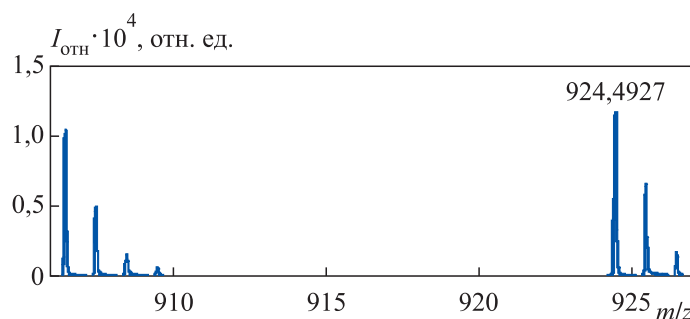


Рис. 2. Масс-спектр высокого разрешения амфотерицина Б, полученный при ионизации электрораспылением (HRMS ESI)

Fig. 2. Amphotericin B High Resolution Mass Spectrum (HRMS ESI)

$$u(I) = 0,25 + (S/N)^{-1} \cdot 100.$$

Подлинность действующего вещества устанавливали при сравнении спектра исследуемого образца со спектрами, опубликованными в работах [6–9]. Пики в сравниваемых спектрах совпали по положению. Применение методов масс-спектрометрии позволило определить молекулярную массу соединения по иону-предшественнику, что в сочетании с использованием библиотек спектров и данных ЯМР-спектроскопии дало возможность однозначно установить химическую структуру.

Для анализа использовали масс-спектрометры высокого разрешения (HR MS) с ионизацией электрораспылением [10, 11] и вводом пробы с предварительным разделением на высокоэффективном жидкостном хроматографе [12–14]. Полученные масс-спектры (рис. 2) сравнивали с опубликованными спектрами, по результатам сравнения подтверждались химические брутто-формулы.

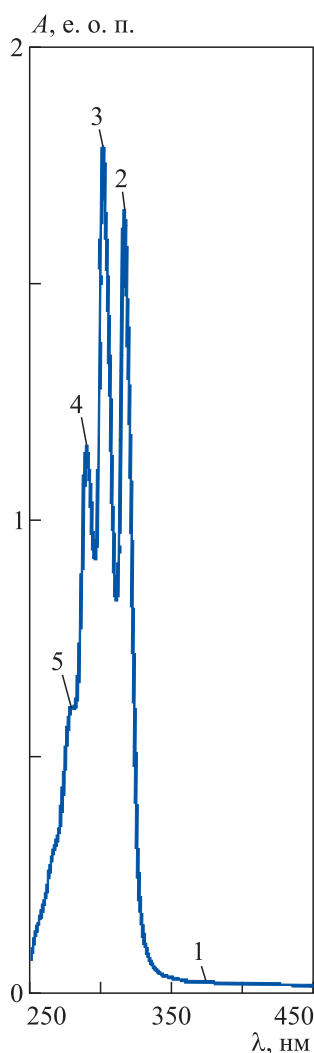


Рис. 3. УФ-спектр 0,001 % мг/мл раствора натамицина в метаноле:
1 – $\lambda=375,00$ нм, $A=0,0232$ о. е. п.;
2 – $\lambda=317,80$ нм, $A=1,6545$ о. е. п.;
3 – $\lambda=303,20$ нм, $A=1,7881$ о. е. п.;
4 – $\lambda=290,40$ нм, $A=1,1669$ о. е. п.;
5 – $\lambda=279,60$ нм, $A=0,6127$ о. е. п.

Fig. 3. UV spectrum of a 0,001 % mg/ml natamycin solution in methanol:
1 – $\lambda=375,00$ nm, $A=0,0232$ a. u.;
2 – $\lambda=317,80$ nm, $A=1,6545$ a. u.;
3 – $\lambda=303,20$ nm, $A=1,7881$ a. u.;
4 – $\lambda=290,40$ nm, $A=1,1669$ a. u.;
5 – $\lambda=279,60$ nm, $A=0,6127$ a. u.

Дополнительно были получены ультрафиолетовые (УФ) (рис. 3) и инфракрасные (ИК) (рис. 4) спектры веществ. ИК-спектр был получен на ИК-Фурье-спектрометре [15], УФ-спектр – на УФ-спектрофотометре [16] в соответствии с методом, изложенным в Государственной фармакопее РФ XIII, Ч. 1, ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в УФ и видимой областях».

Массовые доли родственных соединений измеряли на высокоэффективном жидкостном хроматографе, оснащённом градиентным насосом и спектрофотометрическим детектором. Полученные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения хроматографа.

Содержание $w_{p.c}$ характеристической примеси родственных соединений в субстанции вычисляли формуле

$$w_{p.c} = S_x / S_{\text{общ}} \cdot 100,$$

где S_x – площадь пика характеристической примеси на хроматограмме испытываемого раствора; $S_{\text{общ}}$ – сумма площадей всех пиков на хроматограмме испытываемого СО.

Измерения массовой доли $w_{o.p}$ органических примесей (воды, остаточных органических растворителей и летучих органических соединений) были проведены в двух лабораториях методом определения потери в массе при высушивании (см. ОФС.1.2.1.0010.15). Расчёт выполняли по формуле

$$w_{o.p} = (m_2 - m_3) / (m_2 - m_1) \cdot 100,$$

где m_2 , m_3 – массы бюкса с испытываемым СО соответственно до и после высушивания; m_1 – масса бюкса, доведённого до постоянного значения массы.

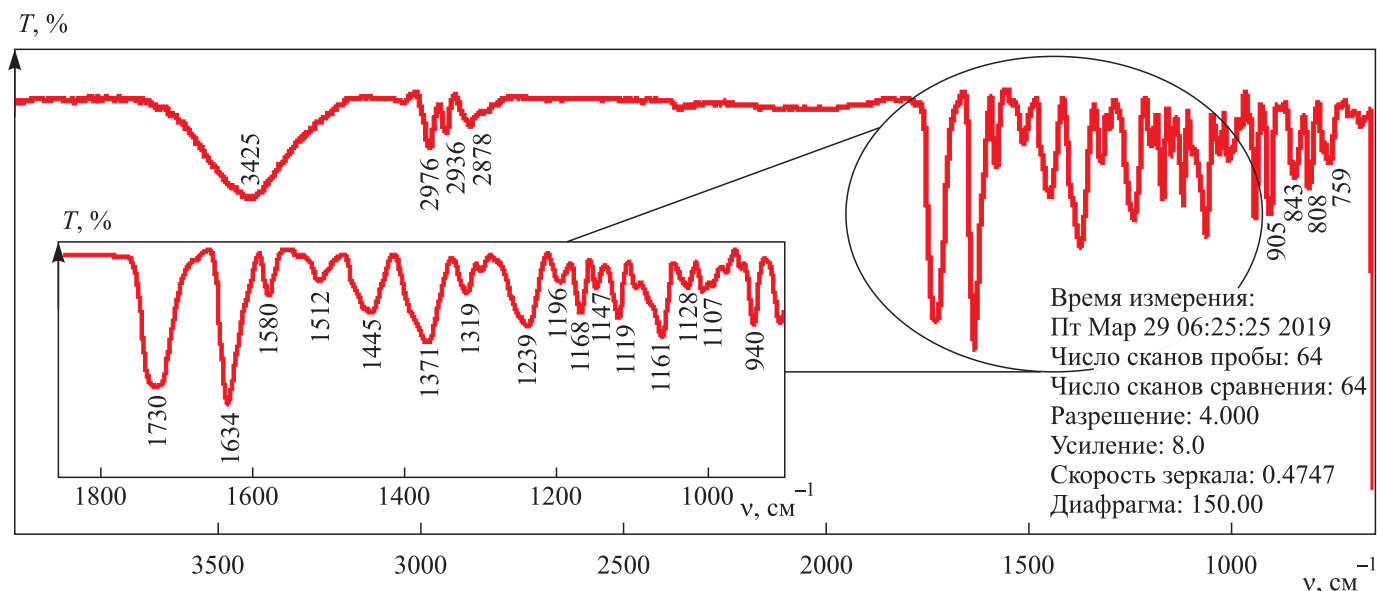


Рис. 4. ИК-спектр оливомицина А; λ_{max} : 3425; 2976; 2936; 2878; 1730; 1634; 1580; 1512; 1445; 1371; 1319; 1239; 1198; 1168; 1119; 1147; 1061; 1028; 1007; 940; 905; 843; 808; 759 cm^{-1}

Fig. 4. IR spectrum of olivomycin A; λ_{max} : 3425; 2976; 2936; 2878; 1730; 1634; 1580; 1512; 1445; 1371; 1319; 1239; 1198; 1168; 1119; 1147; 1061; 1028; 1007; 940; 905; 843; 808; 759 cm^{-1}

Суммарные массовые доли $w_{н.п}$ неорганических примесей (катионов железа и тяжелых металлов) измеряли методом определения содержания сульфатной золы:

$$w_{н.п} = [m_1 - (m_2 - m_T)] / m_1 \cdot 100,$$

где m_1 – масса испытываемого СО фармацевтической субстанции; m_2 – масса платинового тигля с остатком фармацевтической субстанции после прокаливании и охлаждения; m_T – масса платинового тигля.

Процентное содержание остатка соответствует суммарной массовой доле неорганических примесей.

Определение элементного состава неорганических примесей проводили методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии.

Массовую долю основного компонента получали вычитанием массовых долей примесей из 100 %. Массовую долю $w_{о.к}$ основного компонента находили косвенным методом по формуле согласно РМГ 55-2003 «ГСИ. Стандартные образцы состава чистых органических веществ. Методы аттестации. Основные положения»:

$$w_{о.к} = 100 - w_{р.с} - w_{о.п} - w_{н.п}.$$

Аттестуемое вещество может быть квалифицировано как «чистое» в случае $w_{о.к} \geq 95$ %.

Оценивание неопределённостей измерения массовых долей основного вещества СО и примесей. Так как при измерениях используются несколько принципиально разных методов, неопределённость измерений оценивали по максимальному уровню. Расширенную неопределённость измерения массовой доли основного компонента вычисляли по формуле

$$U = 2\sqrt{u_{пр}^2 + u_{нс}^2 + u_{нд}^2},$$

где $u_{пр}$ – стандартная неопределённость измерения массовой доли суммы примесей; $u_{нс}$, $u_{нд}$ – стандартные неопределённости, обусловленные соответственно нестабильностью и неоднородностью материала.

Стандартные неопределённости $u_{нс}$, $u_{нд}$ определяли согласно разделам 5, 6 рекомендаций Р 50.2.058-2007 «ГСИ. Оценивание неопределённостей аттестованных значений стандартных образцов».

Стандартную неопределённость измерения массовой доли суммы примесей вычисляли по формуле

$$u_{пр} = \sqrt{u_{р.с}^2 + u_{о.п}^2 + u_{н.п}^2},$$

где $u_{р.с}$, $u_{о.п}$, $u_{н.п}$ – неопределённости измерений массовых долей родственных соединений, органических примесей (воды, органических растворителей и летучих органических соединений) и неорганических примесей (катионов железа и тяжелых металлов) соответственно.

Стандартную суммарную неопределённость измерения массовой доли родственных соединений находили как

$$u_{р.с} = \sqrt{u_A^2(w_{р.с}) + u_B^2(w_{р.с})},$$

где $u_A(w_{р.с})$, $u_B(w_{р.с})$ – неопределённости типа А, В измерений массовой доли родственных соединений.

Неопределённость типа А измерения массовой доли родственных соединений вычисляли по формуле

$$u_A(w_{р.с}) = \sqrt{\sum_{j=1}^n (w_j - \bar{w})^2 / [n(n-1)]}, \quad (1)$$

где w_j – j -е измерение массовой доли родственных соединений антибиотика; $\bar{w}$ – среднее значение измерений массовой доли родственных соединений антибиотика; n – количество измерений массовой доли исследуемого образца.

Неопределённость типа В измерения массовой доли родственных соединений рассчитывали как

$$u_{B_{р.с}} = \sqrt{u_{B_A}^2 + u_{B_{V_d}}^2 + u_{B_m}^2 + u_{B_{ч.р}}^2 + u_{B_{метод}}^2},$$

где u_{B_A} – неопределённость измерения абсорбции хроматографом; $u_{B_{V_d}}$ – неопределённость измерения объёма реагентов автоматическими дозаторами; u_{B_m} – неопределённость измерения массы реагентов; $u_{B_{ч.р}}$ – неопределённость, связанная с чистотой реагентов; $u_{B_{метод}}$ – неопределённость, обусловленная несовершенством принятого метода измерений.

Неопределённость типа А измерений массовой доли воды, остаточных органических растворителей и летучих органических соединений вычисляли по формуле, аналогичной формуле (1). Неопределённость типа В измерений массовой доли воды, остаточных органических растворителей и летучих органических соединений находили как

$$u_B(w_{о.п}) = \sqrt{u_B^2(m_o) + u_B^2(T)},$$

где $u_B(m_o)$ – неопределённость измерения массы образца; $u_B(T)$ – неопределённость измерения температуры в сушильном шкафу.

Суммарную стандартную неопределённость рассчитывали по формуле

$$u_c(w_{о.п}) = \sqrt{u_A^2(w_{о.п}) + u_B^2(w_{о.п})}.$$

Неопределённость типа А измерений массовой доли неорганических примесей (катионов железа и тяжелых металлов) находили по формуле, аналогичной формуле (1). Неопределённость типа В измерений массовой доли неорганических примесей (катионов железа и тяжелых металлов) вычисляли как

$$u_B(w_{н.п}) = \sqrt{u_B^2(m_{о+т}) + u_B^2(T_T)},$$

где $u_B(m_{о+т})$ – неопределённость измерения массы образца и тигля; $u_B(T_T)$ – неопределённость измерения температуры тигля.

Суммарную стандартную неопределённость измерения неорганических примесей находили по формуле

$$u_c(w_{н.п}) = \sqrt{u_A^2(w_{н.п}) + u_B^2(w_{н.п})}.$$

Заключение. Достоверность измерений массовой доли созданных СО состава исходных фармацевтических субстанций амфотерицина Б, натамицина, оливомицина А обеспечивается метрологической прослеживаемостью к существующим государственным первичным эталонам в области физико-химических измерений, в том числе к Государственному первичному эталону единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твёрдых веществах и материалах на основе спектральных методов ГЭТ 196-2015.

Полученные в результате аттестованные значения массовой доли СО находятся в диапазоне 95,0–99,5 %, а границы относительной расширенной неопределённости при доверительной вероятности $P=0,95$ и коэффициенте охвата $k=2$ не превышают ± 3 %. Разработанные СО состава исходных фармацевтических субстанций – амфотерицина Б, оливомицина А, натамицина – являются уникальным продуктом, соответствующим положениям ГОСТ 8.315-97 «ГСИ. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Основные положения» и Государственной фармакопеи РФ XIV издания, 2018 г.

Список литературы

1. VIM 3. Международный словарь по метрологии. Основные и общие понятия и соответствующие термины, 3 изд.: Пер. с англ. ВНИИМ им. Д. И. Менделеева, БелГИМ, СПб.: НПО «Профессионал», 2010. URL: https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2012.pdf (дата обращения: 10.01.2020).
2. Yashpal S. Chhonker, Yarra Durga Prasad, Hardik Chandasana, Akhilesh Vishvkarma, Kalyan Mitra, Praveen K. Shukla, Rabi S. Bhatta, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, vol. 72, pp. 1451–1458. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.10.014
3. Lyes Mehenni, Malika Lahiani-Skiba, Guy Ladam, François Hallouard, and Mohamed Skiba, *Pharmaceutics*, November 2018, vol. 10 (4), p. 235. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040235
4. Тевяшова А. Н. Оливомицин А – противоопухолевый антибиотик группы ауреоловой кислоты // Химико-фармацевтический журнал. 2016. Т. 50. № 7. С. 3–5. DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-7-3-8
5. Houssam M. Atta, Sh. M. Selim, and Mona S. Zayed, *Journal of American Science*, 2012, vol. 8 (2), pp. 469–475, available at: <http://www.americanscience.org> (accessed: 10.01.2020).
6. Sowinski P., Pawlak J., Borowski E., *Magnetic Resonance In Chemistry*, 1992, vol. 30, pp. 275–279. DOI: 10.1002/mrc.1260300402
7. Brown J. M., Sidebottom P. J., *Tetrahedron*, 1981, vol. 37, pp. 1421–1428.
8. Volpon L., Lancelin J.-M., *European Journal of Biochemistry*, 2002, vol. 269, pp. 4533–4541. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2002.03147.x
9. Yoshimura Y., Koenuma M., Matsumoto K., Tori K., Terui Y., *Journal Antibiot (Tokyo)*, 1988, vol. 41, pp. 53–67. DOI: 10.7164/antibiotics.41.53
10. Grundt P., Findeisen T., Miethke E., Jäger P., Ahmad-Nejad, and Neumaier M., *Journal of Clinical Microbiology*, February 2012, vol. 50 (5), p. 1727-9. DOI: 10.1128/JCM.00047-12

11. Vishal Diwan, Ashok J. Tamhankar, Rakesh K. Khandal, Shanta Sen, Manjeet Aggarwal, Yogya Marothi, Rama V. Iyer, Karin Sundblad-Tonderski, and Cecilia Stålsby-Lundborg, *BMC Public Health*, July 2010, vol. 10 (1), p. 414. DOI: 10.1186/1471-2458-10-414

12. Prakash Srinivasan, Ajit K. Sarmah, Merilyn Manley-Harris & Alistair L. Wilkins, *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 2012, vol. 47 (13), pp. 2120–2132. DOI: 10.1080/10934529.2012.696005

13. Zampia Tzouganaki, Michael Koupparis, *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2017, vol. 6 (4), pp. 133–141. DOI: 10.13171/mjc64/01706211420-tzouganaki

14. Patil P. N., Shery Jacob, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2012, vol. 3 (1). DOI: 10.15373/22501991/APR2014/98

15. Yuexi Yang, Chen Huan, Xianrui Liang, Sheng Fang, Jian Wang, and Jie Chen, *Molecules*, November 2019, vol. 24 (21), p. 3962. DOI: 10.3390/molecules24213962

16. Rajamani Lakshminarayanan, Radhakrishnan Sridhar, Xian Jun Loh, Muruganatham Nandhakumar, Veluchamy Amutha Barathi, Madhaiyan KalaiPriya, Jia Lin Kwan, Shou Ping Liu, Roger Wilmer Beuerman, Seeram Ramakrishna, *International Journal of Nanomedicine*, May 2014, vol. 9 (1), p. 439–458. DOI: 10.2147/IJN.S58487

References

1. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) 3rd edition, available at: https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2012.pdf (accessed: 10/01/2020).
2. Yashpal S. Chhonker, Yarra Durga Prasad, Hardik Chandasana, Akhilesh Vishvkarma, Kalyan Mitra, Praveen K. Shukla, Rabi S. Bhatta, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, vol. 72, pp. 1451–1458. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.10.014
3. Lyes Mehenni, Malika Lahiani-Skiba, Guy Ladam, François Hallouard, and Mohamed Skiba, *Pharmaceutics*, November 2018, vol. 10 (4), p. 235. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040235
4. Tevyashova A. N., *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2016, vol. 50, no. 7, pp. 3–5. DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-7-3-8
5. Houssam M. Atta, Sh. M. Selim, and Mona S. Zayed, *Journal of American Science*, 2012, vol. 8 (2), pp. 469–475, available at: <http://www.americanscience.org> (accessed: 10.01.2020).
6. Sowinski P., Pawlak J., Borowski E., *Magnetic Resonance In Chemistry*, 1992, vol. 30, pp. 275–279. DOI: 10.1002/mrc.1260300402
7. Brown J. M., Sidebottom P. J., *Tetrahedron*, 1981, vol. 37, pp. 1421–1428.
8. Volpon L., Lancelin J.-M., *European Journal of Biochemistry*, 2002, vol. 269, pp. 4533–4541. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2002.03147.x
9. Yoshimura Y., Koenuma M., Matsumoto K., Tori K., Terui Y., *Journal Antibiot (Tokyo)*, 1988, vol. 41, pp. 53–67. DOI: 10.7164/antibiotics.41.53

10. Grundt P., Findeisen T., Miethke E., Jäger P., Ahmad-Nejad, and Neumaier M., *Journal of Clinical Microbiology*, February 2012, vol. 50 (5), p. 1727-9. DOI: 10.1128/JCM.00047-12
 11. Vishal Diwan, Ashok J. Tamhankar, Rakesh K. Khandal, Shanta Sen, Manjeet Aggarwal, Yogyata Marothi, Rama V. Iyer, Karin Sundblad-Tonderski, and Cecilia Stålsby-Lundborg, *BMC Public Health*, July 2010, vol. 10 (1), p. 414. DOI: 10.1186/1471-2458-10-414
 12. Prakash Srinivasan, Ajit K. Sarmah, Marilyn Manley-Harris & Alistair L. Wilkins, *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 2012, vol. 47 (13), pp. 2120–2132. DOI: 10.1080/10934529.2012.696005
 13. Zampia Tzouganaki, Michael Koupparis, *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2017, vol. 6 (4), pp. 133–141. DOI: 10.13171/mjc64/01706211420-tzouganaki
 14. Patil P. N., Shery Jacob, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2012, vol. 3 (1). DOI: 10.15373/22501991/APR2014/98
 15. Yuexi Yang, Chen Huan, Xianrui Liang, Sheng Fang, Jian Wang, and Jie Chen, *Molecules*, November 2019, vol. 24 (21), p. 3962. DOI: 10.3390/molecules24213962
 16. Rajamani Lakshminarayanan, Radhakrishnan Sridhar, Xian Jun Loh, Muruganantham Nandhakumar, Veluchamy Amutha Barathi, Madhaiyan Kalaipriya, Jia Lin Kwan, Shou Ping Liu, Roger Wilmer Beuerman, Seeram Ramakrishna, *International Journal of Nanomedicine*, May 2014, vol. 9 (1), p. 439–458. DOI: 10.2147/IJN.S58487
- Дата поступления: 23.01.2020.
Дата принятия: 16.03.2020.

Reference materials of composition biologically active substances

Elena V. Kuliabina¹, Anna N. Tevyashova², Svetlana E. Solov'eva², Olga N. Melkova¹, Ekaterina A. Guskova¹

¹Russian research institute of metrological service, Moscow, Russian Federation, e-mail: kuliabina@vniims.ru, melkova@vniims.ru, e.guskova@vniims.ru

²FSBI Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russian Federation, e-mail: chulis@mail.ru

To ensure the uniformity of measurements and ensure metrological traceability of the measurement results in the field of ensuring the uniformity of measurements state regulation, including in the areas of healthcare and pharmaceuticals, reference materials of the composition, properties and structure of substances are needed. Currently, the Federal Information Fund of the Russian Federation has approximately 9000 reference materials, among which only about 30 reference materials are intended for use in pharmaceuticals and medicine. This amount is clearly not enough for full metrological support of these areas. This article describes the main stages and results of research and development of starting pharmaceutical substances reference materials of amphotericin B, natamycin, olivomycin A. The main substances of the created reference materials are identified. Mass fractions of related compounds, residual organic solvents and inorganic impurities (iron cations and heavy metals) were determined. The results of the work were used to confirm the reference materials types of the starting pharmaceutical substances amphotericin B, natamycin, olivomycin A.

Key words: reference materials, reference materials of composition, amphotericin B, natamycin, olivomycin A.