



**МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Рахмановский пер., 3, г. Москва, ГСП-4, 127994  
тел.: 628-44-53, факс: 628-50-58

Заявителям при включении в  
Государственный реестр  
лекарственных средств и  
производителям фармацевтических  
субстанций, содержащих вещество  
«тилорон»

08.04.2022 № 25-6/249

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

Департамент регулирования обращения лекарственных средств и  
медицинских изделий направляет для сведений и учета в работе письмо  
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России от 16.03.2021 № 5761.

Приложение: на 1 л. в 1 экз.

Директор Департамента  
регулирования обращения  
лекарственных средств и  
медицинских изделий

Е.М. Астапенко

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(Минздрав России)

федеральное  
государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств  
медицинского применения»  
(ФГБУ «НЦЭСМП»  
Минздрава России)

127051 Москва, Петровский бульвар д. 8 стр. 2.  
тел. (499) 190-18-18, (495) 625-43-48, (495) 625-43-42

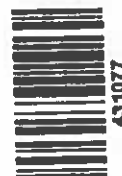
16 МАР 2022 № 5761

На № 25-6/1716 от 10.03.2022

Министерство здравоохранения  
Российской Федерации

Департамент регулирования  
обращения лекарственных средств и  
медицинских изделий

Рахмановский пер., д. 3/25, стр. 1, 2, 3,  
4, г. Москва, ГСП-4, 127994

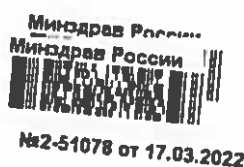


Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках установленной сферы компетенции рассмотрело письмо АО «Активный компонент» от 16.02.2022 № ИОР1602-1, поступившее из Министерства здравоохранения Российской Федерации, и полагает целесообразным проинформировать производителей фармацевтических субстанций, содержащих вещество «тилорон» (список прилагается), о необходимости дополнения нормативной документации на фармацевтические субстанции, включённые в государственный реестр лекарственных средств, показателем качества «2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид» и (методика прилагается).

Приложение: на 10 л. в 1 экз.

Заместитель генерального директора

А.А. Трапкова



Исп.: Яруткин А.В.

Перечень производителей фармацевтических субстанций,  
содержащих вещество «тилорон»

<u>№</u> <u>п/п</u>	<u>№ реестровой</u> <u>записи</u>	<u>Производитель</u>	<u>Страна</u>
1.	ФС-001609	ООО «БИОН»	Россия
2.	ФС-001249	Хонор Лаб Лимитед	Индия
3.	ФС-000625	ООО «Научно-производственная фирма «КЕМ»	Россия
4.	ФС-000139	АО «Активный компонент»	Россия
5.	П N010940	ООО «Интерхим»	Украина
6.	ЛС-000698	Эррегиере С.п.А.	Италия
7.	ЛСР-009977/08	ИПХЭТ СО РАН	Россия
8.	Р N002561/01	ЗАО «БИС»	Россия

**2-Диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид**

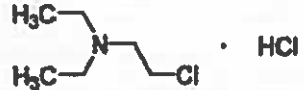
2-Диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид – не более 3 ppm.

Определение проводят методом ВЭЖХ-МС (ГФ РФ, ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография», ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография», ОФС.1.2.1.1.0008.15 «Масс-спектрометрия»).

Информация о примеси 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид приведена в табл. 2.

Таблица 2

**Информация о примеси 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид**

Наименование примеси	Кодировка	Структурная формула	Молекулярная масса
2-Диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид*	DEAEC		135,64 (C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN) 36,46 (HCl)

\*В ходе анализа определяют в виде 2-диэтиламиноэтилхлорида (C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>ClN)

**Реактивы:**

метанол («for use in liquid chromatography (HPLC & UHPLC) & spectrophotometry», J.T. Baker, кат. № 8402 или аналогичного качества);

муравьиная кислота («eluent additive for LC-MS», Scharlau, кат. № AC10760050 или аналогичного качества).

**Расходные материалы:**

мембранные фильтры для раствора А – Supor® PES (диаметр пор 0,45 мкм, Waters, кат. № WAT200538 или аналогичного качества);

мембранные фильтры для раствора Б – PTFE Membrane Disc (диаметр пор 0,45 мкм, Waters, кат. № WAT200534 или аналогичного качества).

**Материалы сравнения:**

2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорид («99 %», Sigma-Aldrich, кат. № D87201 или аналогичного качества).

*Раствор А.* 1,0 мл муравьиной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, предварительно содержащую 500 мл воды для хроматографии, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают. Фильтруют через мембранный фильтр Supor® PES (в случае необходимости) и дегазируют ультразвуком.

*Раствор Б.* Метанол фильтруют (в случае необходимости) через мембранный фильтр PTFE, дегазируют ультразвуком.

*Холостая проба.* Вода для хроматографии.

*Стандартный раствор 6* (соответствует содержанию 30 ppm). Около 0,05 г (точная навеска) 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде для хроматографии, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают (*раствор DEАЕС 1000 мкг/мл*). Раствор готовят в двух повторностях.

1,0 мл раствора DEАЕС 1000 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают (*раствор DEАЕС 10 мкг/мл*).

3,0 мл раствора DEАЕС 10 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают (*раствор DEАЕС 0,6 мкг/мл*).

5,0 мл раствора DEАЕС 0,6 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают. Таким образом получают *стандартный раствор 6\_1* и *стандартный раствор 6\_2*.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Стандартный раствор 5* (соответствует содержанию 15 ppm). 5,0 мл стандартного раствора 6\_1 помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Стандартный раствор 4* (соответствует содержанию 3 ppm). 5,0 мл стандартного раствора б помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают. Раствор готовят для каждого стандартного раствора б.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Стандартный раствор 3* (соответствует содержанию 1,5 ppm). 5,0 мл стандартного раствора б помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают. Раствор готовят для каждого стандартного раствора б.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Стандартный раствор 2* (соответствует содержанию 0,75 ppm). 2,50 мл стандартного раствора б<sub>2</sub> помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Стандартный раствор 1* (соответствует содержанию 0,3 ppm). 1,0 мл стандартного раствора 4<sub>2</sub> помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Исходный испытуемый раствор.* Около 0,25 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в воде для хроматографии, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки,

перемешивают и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин в центрифужных пробирках с завинчивающимися крышками. Раствор готовят в трех повторностях.

*Испытуемый раствор.* 5,0 мл исходного испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят водой для хроматографии до метки, перемешивают.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

*Раствор с добавкой.* 5,0 мл исходного испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 5,0 мл стандартного раствора б<sub>2</sub>, доводят водой для хроматографии до метки, перемешивают.

Срок годности раствора – 25 ч при хранении при температуре не выше 5 °С.

#### Условия хроматографирования

- жидкостной хроматограф высокого давления, например, Shimadzu Nexera-XR (SHIMADZU, США);

- металлическая колонка, заполненная сорбентом – заполненная частицами из сплошного силикагельного инертного ядра, покрытого пористой оболочкой силикагеля, эндкепированного пентафторфенилом, 2,6 мкм, размером 3,0 × 100 мм, например, Kinetex F5 100A, кат. № 00D-4723-Y0 (Phenomenex, США);

- масс-спектрометрический детектор\*:

- тип ионизации: ионизация электроспреем с термофокусировкой (HESI);
- скорость подачи газа-распылителя (сжатый воздух, nebulizing gas flow): 2,0 л/мин;
- скорость подачи газа-осушителя (азот, drying gas flow): 10 л/мин;
- скорость подачи нагревающего газа (сжатый воздух, heating gas flow): 10 л/мин;
- температура интерфейса (interface temperature): 300 °С;
- температура линии десольватации (DL temperature): 250 °С;
- температура нагревательного блока (heat block temperature): 400 °С;
- полярность: положительная мода;
- режим сканирования: селективная регистрация избранных реакций распада ионов (MRM), приведен в табл. 3;

Таблица 3

Параметры MRM-переходов

Кодировка	Ион-предшественник (Precursor ion), m/z	Ион-продукт (Product ion), m/z	Время переключения (Dwell time), мс	Энергия ячейки соударений (CE), V
DEAEC	136	63 (целевой)	100	- 22
		58 (подтверждающий)	100	- 24
		108 (подтверждающий)	100	- 19

\*Условия для масс-спектрометрического детектора приведены для информации и были оптимизированы для ВЭЖХ-МС Shimadzu LCMS-8050 с источником ионизации HESI. Настройки масс-детектора могут быть изменены и оптимизированы для конкретного оборудования при условии прохождения пригодности хромато-масс-спектрометрической системы.

- температура колонки: 45 °С;
- скорость потока подвижной фазы: 0,3 мл/мин;
- режим элюирования: градиентный, приведен в табл. 4;



Таблица 4

## Градиентная программа

Стадия	Время, мин	Раствор А, %	Раствор Б, %	Режим элюирования
1	0,0	96	4	-
2	1,0	96	4	изократический
3	5,0	20	80	линейный градиент
4	8,0	20	80	изократический
5	9,0	96	4	линейный градиент
6	17,0	96	4	изократический уравновешивание колонок

Градиентная программа приведена для хроматографической системы с объемом задержки градиента ( $D_0$ ) – 0,66 мл.

- температура в автосамплере: 5 °С;
- объем анализируемой пробы: 10 мкл.

Последовательность хроматографирования приведена в табл. 5.

Таблица 5

## Последовательность хроматографирования

№ п/п	Наименование раствора	Количество инъекций	Примечание
Колонку кондиционируют до установления стабильной базовой линии			
1	Холостая проба	Не менее 2	Для кондиционирования хроматографической системы
2	Стандартный раствор 1	Не менее 1	Для проверки пригодности хроматографической системы и линейности методики
3	Стандартный раствор 4_1	Не менее 5	
4	Стандартный раствор 4_2	Не менее 1	Для проверки линейности методики
5	Холостая проба	Не менее 1	Для контроля массопереноса
6	Стандартный раствор 2	Не менее 1	Для проверки линейности методики
7	Стандартный раствор 3_1 (3_2)	Не менее 1	
8	Стандартный раствор 5	Не менее 1	
9	Стандартный раствор 6_1	Не менее 1	
10	Холостая проба	Не менее 1	Для контроля массопереноса
11	Испытуемый раствор (1, 2, 3)	1	Определение 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида
12	Раствор с добавкой (1, 2, 3)	1	
13	Холостая проба	Не менее 1	Для контроля массопереноса

Хромато-масс-спектрометрическая система считается пригодной, если:

- на масс-хроматограмме стандартного раствора 1 отношение

сигнал/шум ( $S/N$ ), рассчитанное по пику DEАЕС – не менее 10;

- на масс-хроматограмме стандартного раствора 4 относительное стандартное отклонение значений времени удерживания пика DEАЕС– не более 1 %, площади – не более 10 % ( $n \geq 5$ ).

По целевому MRM-переходу проводят количественное определение 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида, по подтверждающему – оценивают достоверность идентификации DEАЕС. Все соответствующие MRM-переходы приведены в табл. 3.

Типичная масс-хроматограмма стандартного раствора 1 представлена на рис. 2, стандартного раствора 4 – на рис. 3, раствора с добавкой – на рис. 4.

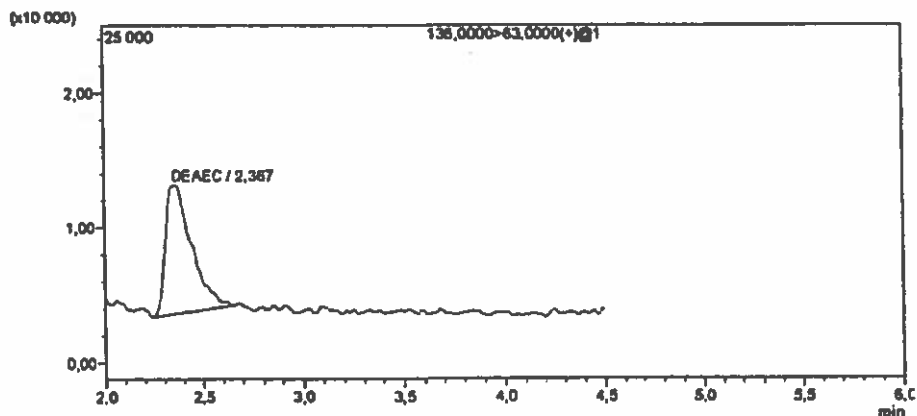


Рис. 2. Масс-хроматограмма стандартного раствора 1, зарегистрированного на ВЭЖХ-МС Shimadzu LCMS-8050 с источником ионизации HESI

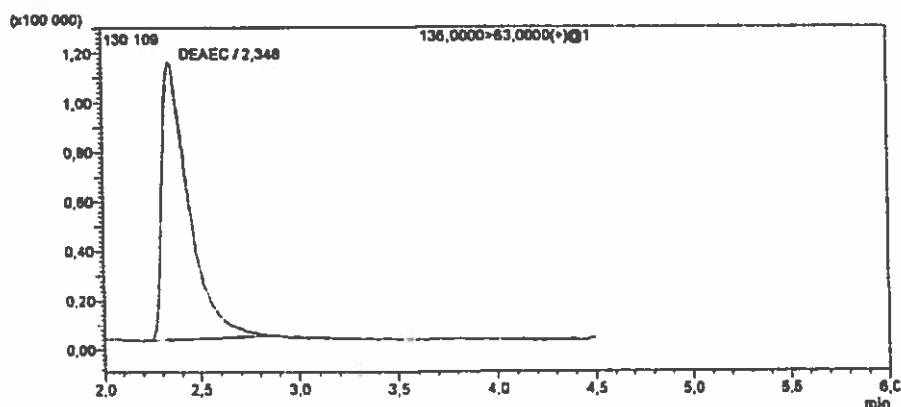


Рис. 3. Масс-хроматограмма стандартного раствора 4, зарегистрированного на ВЭЖХ-МС Shimadzu LCMS-8050 с источником ионизации HESI

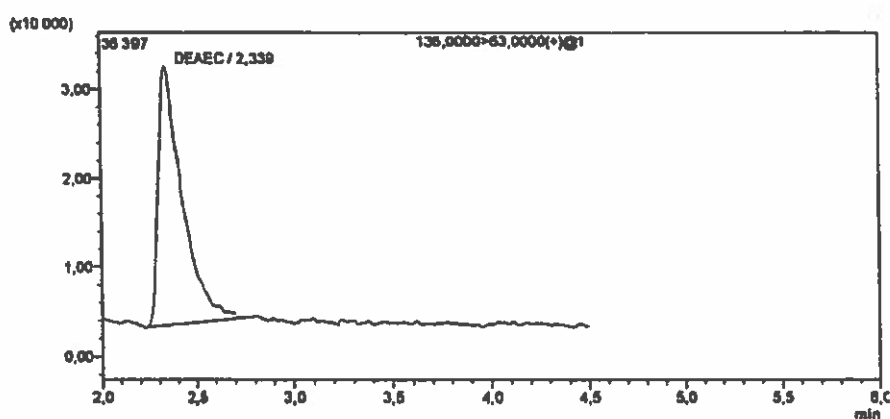


Рис. 4. Масс-хроматограмма раствора с добавкой, зарегистрированного на ВЭЖХ-МС Shimadzu LCMS-8050 с источником ионизации HESI

По масс-хроматограммам стандартных растворов для целевого MRM-перехода строят калибровочную кривую зависимости площади пика 2-диэтиламиноэтилхлорида от концентрации 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида в стандартном растворе, определенный коэффициент корреляции ( $r$ ) при этом должен быть не менее 0,995 ( $r \geq 0,995$ ). График линейной зависимости площади пика 2-диэтиламиноэтилхлорида от концентрации 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида в стандартном растворе представлен на рис. 5.

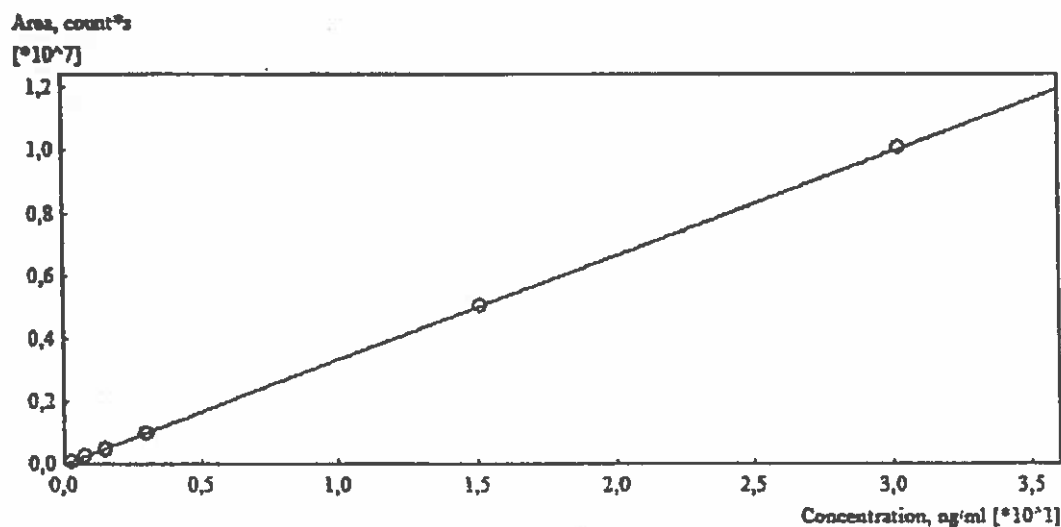


Рис. 5. График линейной зависимости площади пика 2-диэтиламиноэтилхлорида от концентрации 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида в стандартном растворе

На масс-хроматограмме испытуемого раствора и раствора с добавкой для целевого MRM-перехода интегрируют пик 2-диэтиламиноэтилхлорида.

Содержание 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида в субстанции в ppm  $x_{DEAEC}$  вычисляют по формуле:

$$x_{DEAEC} = \frac{S \cdot a_0 \cdot P \cdot 1 \cdot 3 \cdot 5 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 1000000}{(S_{доб} - S) \cdot a \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 5} = \frac{S \cdot a_0 \cdot P \cdot 3}{(S_{доб} - S) \cdot a \cdot 20'}$$

где  $S$  – площадь пика 2-диэтиламиноэтилхлорида на масс-хроматограмме испытуемого раствора;

$a_0$  – навеска 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлорида, г;

$P$  – содержание основного вещества в 2-диэтиламиноэтилхлорида гидрохлориде, %;

$S_{доб}$  – площадь пика 2-диэтиламиноэтилхлорида на масс-хроматограмме раствора с добавкой;

$a$  – навеска субстанции, г.

За результат измерения принимают среднее значение не менее трех определений.