



**ЗАКЛЮЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИСТА
по результатам химического исследования**

№ 05-03-1/2020

от «16» марта 2020 г.

«05» марта 2020 г., 14 час. 00 мин.
(дата, время начала проведения исследования)

«16» марта 2020 г., 18 час. 00 мин.
(дата, время окончания проведения исследования)

г. Москва
(место проведения исследования)

Основание производства исследования:

Запрос №05-03-1/20 от 05 марта 2020 г.

Специалист, выполнивший исследование:

Топилин Сергей Васильевич

ВВОДНАЯ ЧАСТЬ.

I. «05» марта 2020 года в ООО «Центр химических исследований» поступил запрос на проведение химического исследования.

II. При запросе на исследование представлены материалы:

1. Образец лекарственного препарата «Dacheet_{Tablets} Daclatasvir Tablets 60 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10124, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021, 28 табл.

2. Образец лекарственного препарата «Sofheet_{Tablets} Sofosbuvir Tablets 400 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10123, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021, 28 табл.

В качестве сравнения действующих веществ заказчиком были предоставлены следующие материалы:

3. Образец лекарственного препарата «Dacikast-60 Daclatasvir Tablets 60 mg», производство компании Natco Pharma Limited, Batch No.: 1901300, дата изготовления: 07/2019, годен до: 06/2021, 28 табл..

4. Образец лекарственного препарата «Sofokast Sofosbuvir Tablets 400 mg», производство компании Natco Pharma Limited, Batch No.: 1901275, дата изготовления: 06/2019, годен до: 05/2021, 28 табл..

III. На разрешение специалиста поставлены следующие вопросы:

1. Определить наличие действующих веществ в составе представленных на исследование препаратов.

2. Определить количественное содержание действующих веществ в составе представленных на исследование препаратов.

IV. Проведение исследования поручено специалисту Топилину Сергею Васильевичу.

Сведения об эксперте: Топилин Сергей Васильевич - эксперт-химик, имеет высшее химическое образование (Диплом химического факультета Ростовского государственного университета ДВС № 0886528, 2001 г), имеет свидетельство о повышении квалификации при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» по программе «Современные требования к упаковке, маркировке и хранению лекарственных средств». Прошел стажировку на кафедре организации производства и реализации

лекарственных средств фармацевтического факультета Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова по программе «Повышение квалификации специалистов, ответственных за качество, упаковку и маркировку лекарственных средств, в том числе уполномоченных лиц». Прошел обучение по программе повышения квалификации судебных экспертов по специальности: «Основы судебной экспертизы» в 2012 г. Имеет сертификаты соответствия судебного эксперта №0196 в области «Применение хроматографических методов при исследовании объектов судебной экспертизы» от 18.10.18 г., стаж работы по специальности – с 2001 года (свыше 18 лет).

V. Сведения об экспертном учреждении:

Общество с ограниченной ответственностью «Центр химических исследований» (ООО «ЦХИ») зарегистрировано в установленном порядке. Свидетельство о государственной регистрации ОГРН 1137746231314.

ООО «Центр химических исследований» осуществляет деятельность на основании Устава и действующего законодательства Российской Федерации. Проведение химических исследований и экспертиз является уставной деятельностью организации.

Организация «Центр химических исследований» сертифицирована в соответствии с международным стандартом ISO 9001 (сертификат соответствия RU.МСК.009.005.СМ.11886 действителен до 30.08.2022 г).

ООО «Центр химических исследований» соответствует требованиям к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий ГОСТ ИСО / МЭК 17025-2009 (Аттестат аккредитации испытательной лаборатории №RU.НЦСС.АЛ.030 от 22.11.2018 г.).

ООО «Центр химических исследований» состоит членом Союза «Московская торгово-промышленная палата» и Торгово-промышленная палата», рег. № 126-381 (Свидетельство рег. № 126-381 от 19.06.2019 г., действительно до 18.06.2021 г.).

Юридический адрес: 115172, г. Москва, ул. М. Каменщики, д. 18, стр. 16

Телефон: 8(499)372-22-44. Интернет-сайт: центр-химических-исследований.рф. Адрес электронной почты: ccrlab@yandex.ru.

VI. Перечень оборудования, использованного во время проведения исследования:

1. Весы аналитические ОНАУС РА-214С. Свидетельство о поверке № 9478. Действительно до 02.04.2020 г.
2. Лабораторная посуда.
3. ВЭЖХ / хроматомасс спектрометр Agilent 1200 Series.
4. Ультразвуковая ванна Ya Xun YX2100.
5. Мерные колбы.
6. Химические пипетки.

VII. Перечень использованной литературы:

1. Большой химический справочник. А.И. Волков И.М. Жарский. – Изд. Современная школа, 2005 г.
2. Васильев В.П. Аналитическая химия. В 2 ч. Часть 2. Физико-химические методы анализа — М.: Высш. школа, 1989 — 384 с.
3. Практическое руководство по жидкостной хроматографии. Сычев К.С. - Москва: Техносфера, 2010 - 272 с.
4. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография - Е.Л. Стыскин, Л.Б. Ициксон, Е.В. Брауде.
5. Lok AS, Gardiner DF, Lawitz E, et al. Preliminary study of two antiviral
6. Agents for hepatitis C genotype 1. N //Engl J Med 2012;366:216–224;
7. H. Jiang, H. Landoussi, J. Zeng, J. Wang, R. Demers, et. al. Multiplexed LC-MS/MS method for the simultaneous quantitation of three novel hepatitis C antivirals, daclatasvir, asunaprevir, and baclabuvir in human plasma//Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 107 (2015) 409 – 418;
8. Е.А. Ушкалова «Новые препараты для лечения вирусного гепатита С: фокус на софосбувир»// «Фарматека»//2014 /№14, с 24-28;
9. Berden FA, Kievit W, Baak LC, et al. (October 2014). "Dutch guidance for the treatment of chronic hepatitis C virus infection in a new therapeutic era". Neth J Med 72 (8): 388–400.

ИССЛЕДОВАНИЕ

Описание объектов исследования.

Образец № 1 представляет собой лекарственный препарат «Dacheet_{Tablets} Daclatasvir Tablets 60 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10124, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021. Таблетки круглой формы оранжевого цвета. В упаковке 28 таблеток. Целостность представленной на исследование упаковки не нарушена.

Образец № 2 представляет собой лекарственный препарат «Sofheet_{Tablets} Sofosbuvir Tablets 400 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10123, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021. Таблетки вытянутой овальной формы голубого цвета. В упаковке 28 таблеток. Целостность представленной на исследование упаковки не нарушена.

Образец сравнения лекарственного препарата Даклатасвир представляет собой лекарственный препарат «Dacikast-60 Daclatasvir Tablets 60 mg», производство компании Natco Pharma Limited, Batch No.: 1901300, дата изготовления: 07/2019, годен до: 06/2021. Таблетки круглой формы оранжевого цвета. В упаковке 28 таблеток. Целостность представленной на исследование упаковки не нарушена.

Образец сравнения лекарственного препарата Софосбувир представляет собой лекарственный препарат «Sofokast Sofosbuvir Tablets 400 mg», производство компании Natco Pharma Limited, Batch No.: 1901275, дата изготовления: 06/2019, годен до: 05/2021. Таблетки вытянутой овальной формы красного цвета, с одной стороны есть оттиск «400». В упаковке 28 таблеток. Целостность представленной на исследование упаковки не нарушена.

Внешний вид упаковок и таблеток представлен на фотографиях в приложении 1.

Методы.

- Гравиметрия (весовой анализ). Метод количественного анализа в аналитической химии, который основан на измерении массы определяемого компонента, выделенном в виде веществ определённого состава.

- Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектором (ВЭЖХ/МС) - аналитический вариант классической колоночной хроматографии в современном приборном исполнении. ВЭЖХ позволяет проводить одновременное разделение сложных проб на составляющие их компоненты, детектирование большинства компонентов, измерение

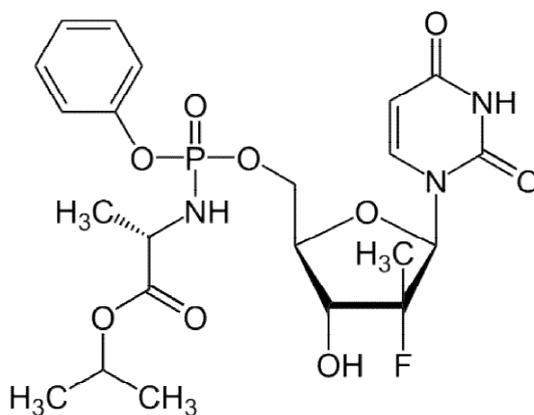
концентрации одного или нескольких соединений (в зависимости от конкретных аналитических задач и наличия стандартных образцов). Детектирование осуществляется при помощи масс-селективного детектора.

Исследование по вопросам 1-2.

1. Определить наличие действующих веществ в составе представленных на исследование препаратов.

2. Определить количественное содержание действующих веществ в составе представленных на исследование препаратов.

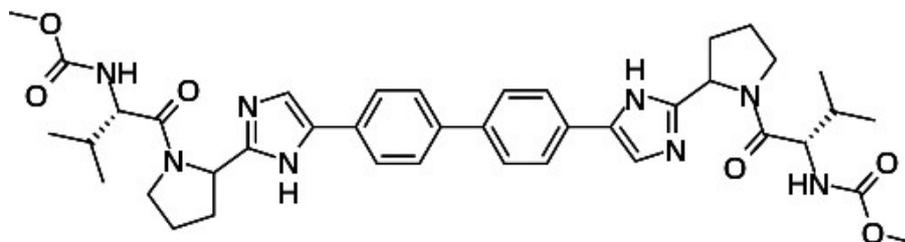
Софосбувир - изопропил(2S)-2-[[[(2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-диоксопиримидин-1-ил)-4-флюоро-3-гидрокси-4-метил-тетрагидрофуран-2-ил]метокси-фенокси-фосфорил]амино]пропаноат. Структурная формула:



Молекулярная масса – 529,453 а.е.; Брутто-формула - $C_{22}H_{29}FN_3O_9P$

Ингибитор белка NS5B (вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы), играющего ключевую роль в процессе репликации вирусного гепатита С. Применяется качестве компонента комбинированной схемы противовирусной терапии у взрослых пациентов в комбинации с другими медикаментами.

В соответствии с Государственным Реестром лекарственных средств **даклатасвир** является действующим веществом противовирусных препаратов нового поколения и имеет следующую структурную формулу:



Даклатасвир, как химическое вещество, представляет собой метил[(2S)-1-{(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-{(2S)-2-[(метилоксикарбонил)амино]-3-

метилбута-ноил}-2-пирролидинил]-1Н-имидалоз-4-yl}-4-бифенилил)-1Н-имидалоз-2-ил]-1-пирролидинил}-3-метил-1-оксо-2-бутанил]карбамат.

Эмпирическая формула даклатасвира: $C_{40}H_{50}N_8O_6$. Молекулярная масса 739 г/моль.

Готовили растворы образцов в диметилформамиде (ДМФА). Для этого таблетки образцов №№ 1 и 2 измельчали в фарфоровой ступке до однородного состояния, брали навески образцов 647,0 мг. и 241,2 мг. соответственно и растворяли в ДМФА в мерной колбе объемом 25 мл. Диметилформамид обладает высокой растворяющей способностью по отношению к большинству соединений (апротонный диполярный растворитель). Концентрация образца сравнения даклатосвира составляет $C = 4,9940$ мг/мл, концентрация образца сравнения софосбувира составляет $C = 5,0457$ мг/мл. Для лучшей экстракции растворы помещали в ультразвуковую ванну.

Хроматографировали в следующих условиях:

Колонка: ReprosilPurBasic C18 250x4,6 мм, 5 мкм

Буфер А – Вода + 100мкл/л ТФУК;

Буфер В – Ацетонитрил + 100мкл/л ТФУК;

Градиент от 5 до 100% ацетонитрила за 20 минут.

Скорость потока – 1 мл мин.

Результат анализа

В результате анализа образца сравнения Даклатосвира по ионному току было установлено его наличие. Даклатосвиру соответствует пик на УФ - хроматограмме со временем удерживания 10,163 мин. Анализ масс-спектра со временем удерживания 10,3 мин. показал присутствие вещества с соотношением массы к заряду $m/z = 739,5[M+1]$ и дочерний пик $m/z = 370,3$, что свидетельствует о том, что в состав образца сравнения входит одноосновное вещество даклатасвир. Следовательно, в образце сравнения содержится Даклатосвир.

На хроматограмме образца сравнения Софосбувира помимо пика растворителя был зафиксирован интенсивный пик со временем удерживания 13,638 мин. Анализ масс-спектра данного пика со временем удерживания 13,9 минут с соотношением массы к заряду $m/z = 530,2[M+1]$ показал принадлежность веществу с молекулярной массой 529 а.е., что соответствует веществу софосбувир. Следовательно, образца сравнения содержит Софосбувир.

На хроматограмме образца № 1, помимо пика, принадлежащего растворителю, были зафиксированы 2 пика со временем удерживания 7,086 и 10,169 мин. Анализ масс-спектра со временем удержания 10,4 мин. показал присутствие вещества с соотношением массы к заряду $m/z = 739,4[M+1]$ и дочерний пик $m/z = 370,2$, что свидетельствует о том, что в состав образца № 1 входит одноосновное вещество даклатасвир.

На хроматограмме образца № 2 помимо пика растворителя был зафиксирован интенсивный пик со временем удерживания 13,633 мин. Анализ масс-спектра со временем удержания 13,9 мин. и пика с соотношением массы к заряду $m/z = 530,2 [M+1]$ показал принадлежность веществу с молекулярной массой 529 а.е., что соответствует веществу софосбувир. Следовательно образец № 2 содержит софосбувир.

Хроматограммы и масс-спектры образцов №№ 1, 2 и образцов сравнения представлены в приложении 2.

Расчет содержания даклатосвира в образце № 1.

Содержание даклатосвира в образце № 1 определяли по площади пика исследуемого образца и пика образца сравнения:

- концентрация образца сравнения даклатосвира 4,9940 мг/мл имеет пик площадью 12457,8.

- площадь пика на хроматограмме образца № 1, соответствующего пику даклатосвира, составляет 11798,8.

Концентрация даклатосвира в растворе исследуемого образца № 1 равна $4,9940 \cdot 11798,8 / 12457,8 = 4,73$ мг/мл.

Соответственно, содержание в 1 мл составляет 4,73 мг.

То есть в 647,0 мг навески образца № 1 содержится 118,25 мг даклатосвира, что составляет 18,28 % масс.

Средняя масса таблетки образца составляет 326,3 мг. Таким образом, после проведения соответствующих расчетов было определено, что содержание даклатосвира составляет 61,63 мг на таблетку исследуемого образца № 1.

Содержание вспомогательных веществ – 264,67 мг на таблетку образца № 1.

Расчет содержания софосбувира в образце № 2.

Содержание софосбувира в образце № 2 определяли по площади пика исследуемого образца и пика образца сравнения:

- концентрация образца сравнения софосбувира 5,0457 мг/мл имеет пик площадью 4644,3.

- площадь пика на хроматограмме образца № 1, соответствующего пику софосбувира, составляет 4739,5.

Концентрация софосбувира в растворе исследуемого образца № 2 равна $5,0457 \cdot 4739,5 / 4644,3 = 5,15$ мг/мл.

Соответственно, содержание в 1 мл составляет 5,15 мг.

То есть в 241,2 мг навески образца № 1 содержится 128,75 мг софосбувира, что составляет 53,38 % масс.

Масса таблетки образца составляет 768,1 мг. Таким образом, после проведения соответствующих расчетов было определено, что содержание софосбувира составляет 408,41 мг на таблетку исследуемого образца № 2.

Содержание вспомогательных веществ – 359,69 мг на таблетку образца № 2.

ВЫВОД

По результатам проведенного исследования специалист приходит к следующему заключению:

По вопросу 1.

Определить наличие действующих веществ в составе представленных на исследование препаратов.

Образец лекарственного препарата «Dacheet_{Tablets} Daclatasvir Tablets 60 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10124, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021, 28 табл. содержит в своем составе действующее вещество – даклатосвир.

Образец лекарственного препарата «Sofheet_{Tablets} Sofosbuvir Tablets 400 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10123, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021, 28 табл. содержит в своем составе действующее вещество – софосбувир.

По вопросу 2.

Определить количественное содержание действующих веществ в составе представленных на исследование препаратов.

В образце лекарственного препарата «Dacheet_{Tablets} Daclatasvir Tablets 60 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10124, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021, 28 табл. содержание даклатосвира составляет 61,63 мг на таблетку исследуемого образца. Содержание вспомогательных веществ – 264,67 мг на таблетку образца.

В образце лекарственного препарата «Sofheet_{Tablets} Sofosbuvir Tablets 400 mg», производство компании HEET HEALTH CARE, Batch No.: T10123, дата изготовления: NOV.2019, годен до: OCT.2021, 28 табл. содержание софосбувира составляет 408,41 мг на таблетку исследуемого образца.

Содержание вспомогательных веществ – 359,69 мг на таблетку образца.

Специалист

С.В. Топилин

Приложения.

Приложение 1. Внешний вид образцов.

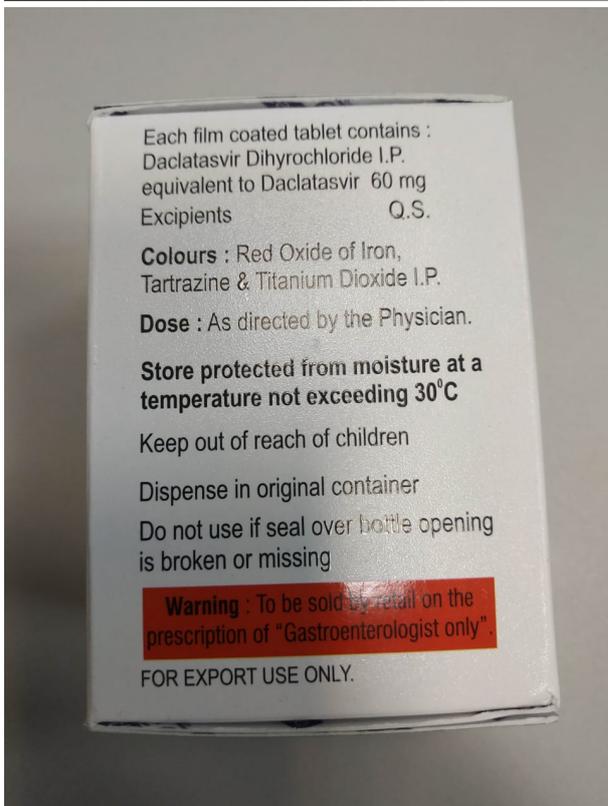
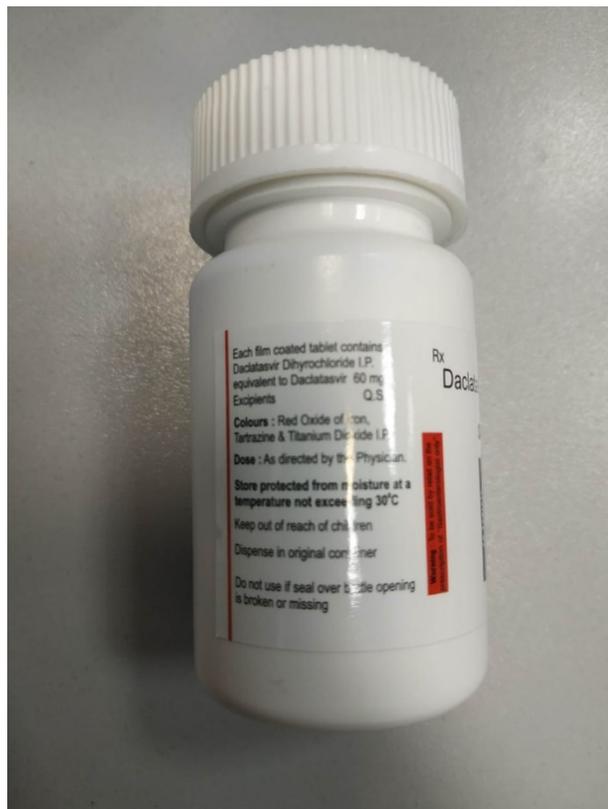
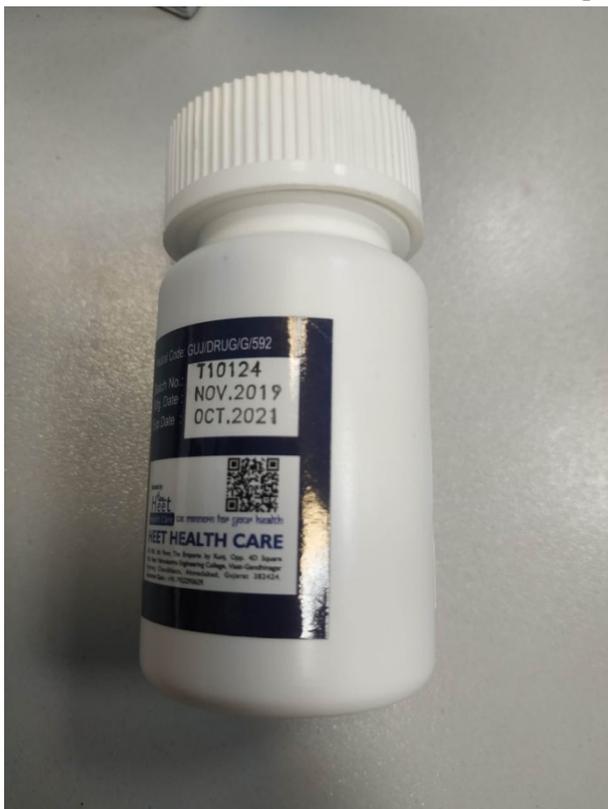
Приложение 2. Хроматограммы и масс-спектры образцов и образцов сравнения (ВЭЖХ/МС).

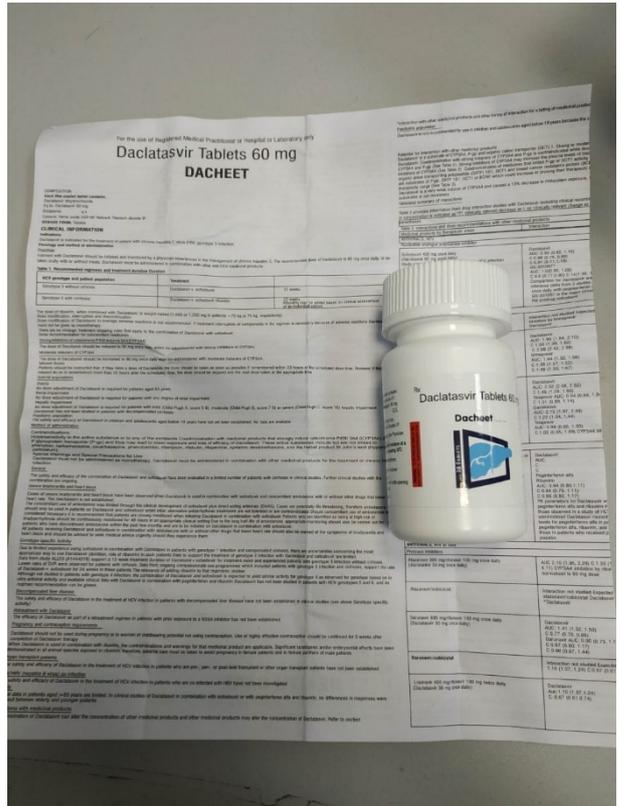
Приложение 3. Копии документов, подтверждающих компетенцию специалистов.

Приложение 4. Сертификаты соответствия экспертного учреждения.

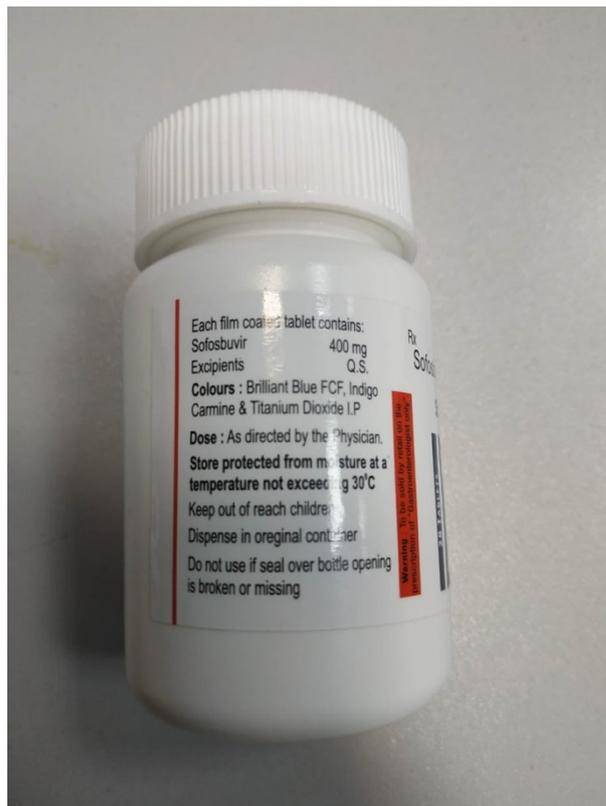
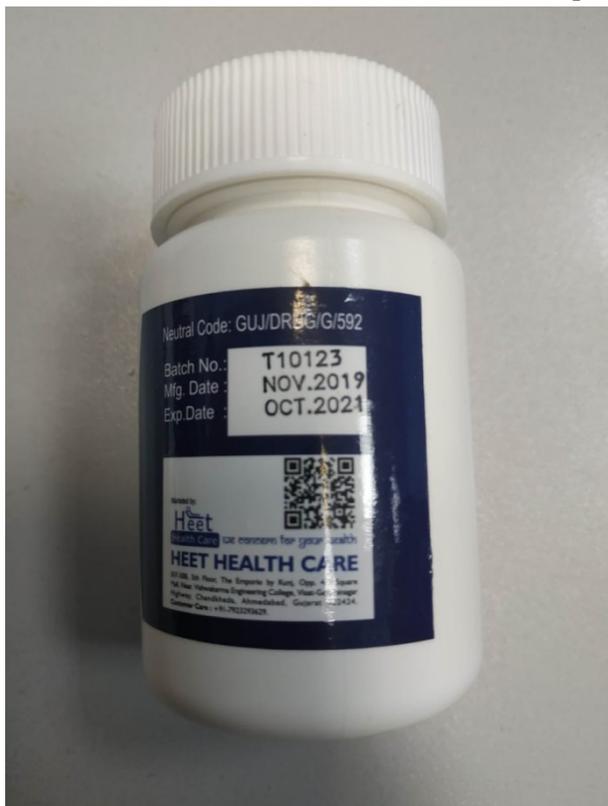
Приложение 1. Внешний вид образцов.

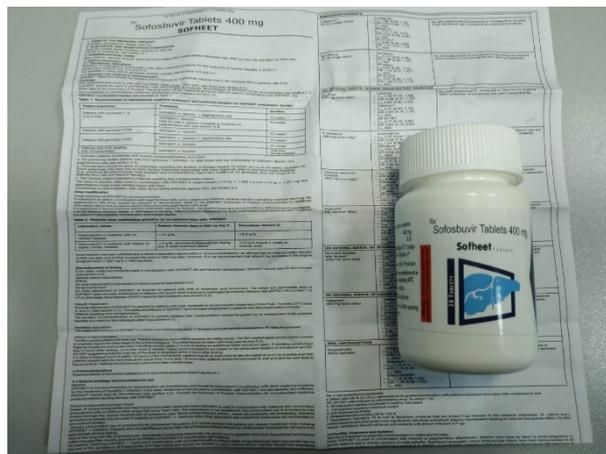
Образец № 1



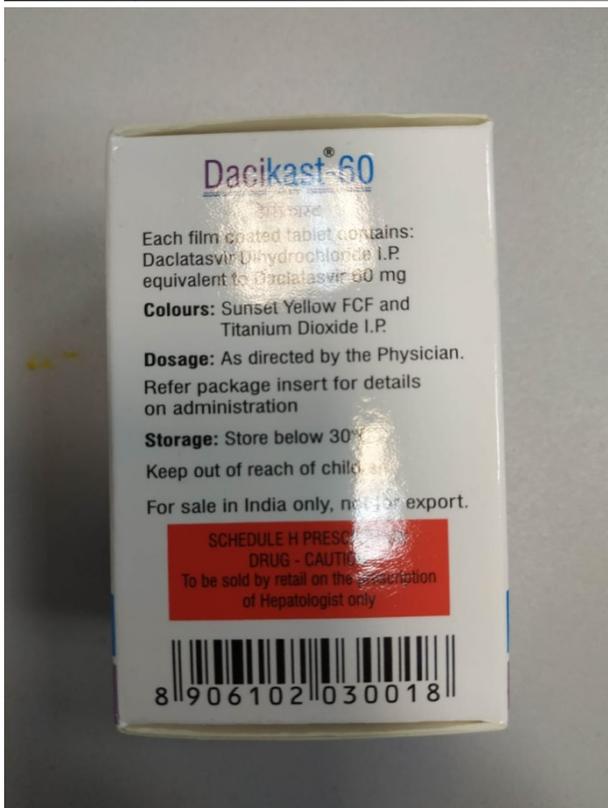
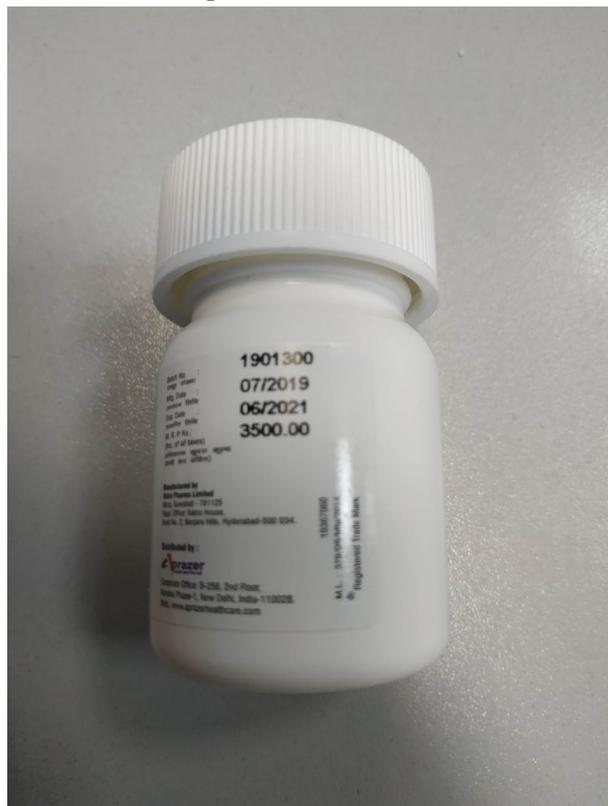
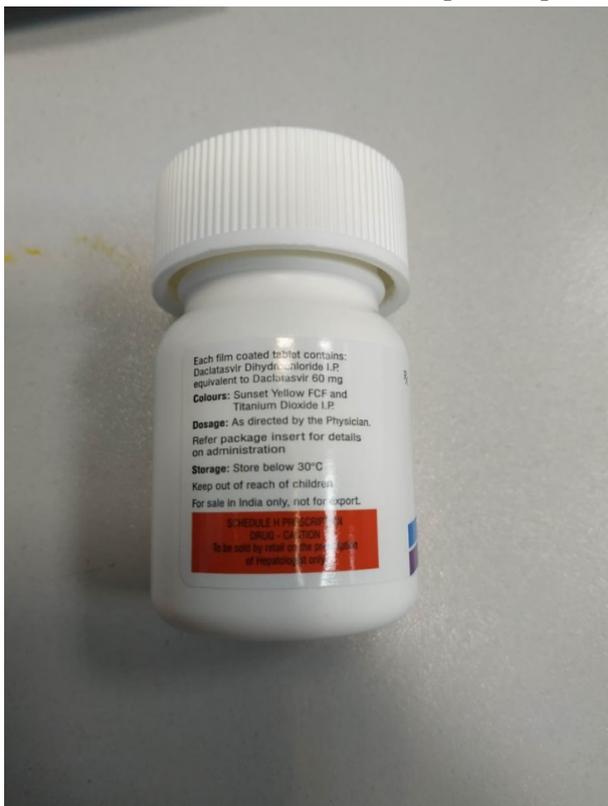


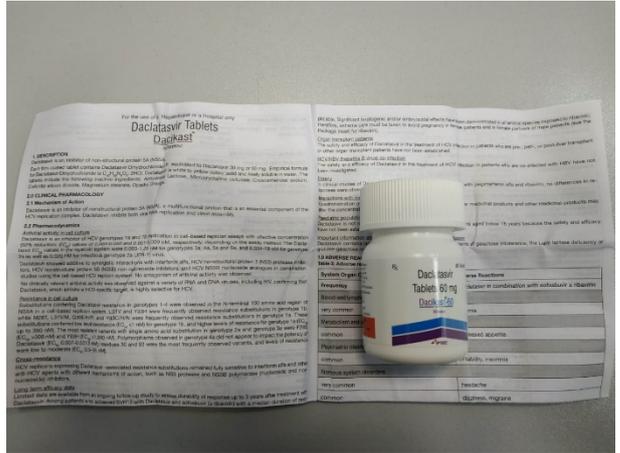
Образец № 2



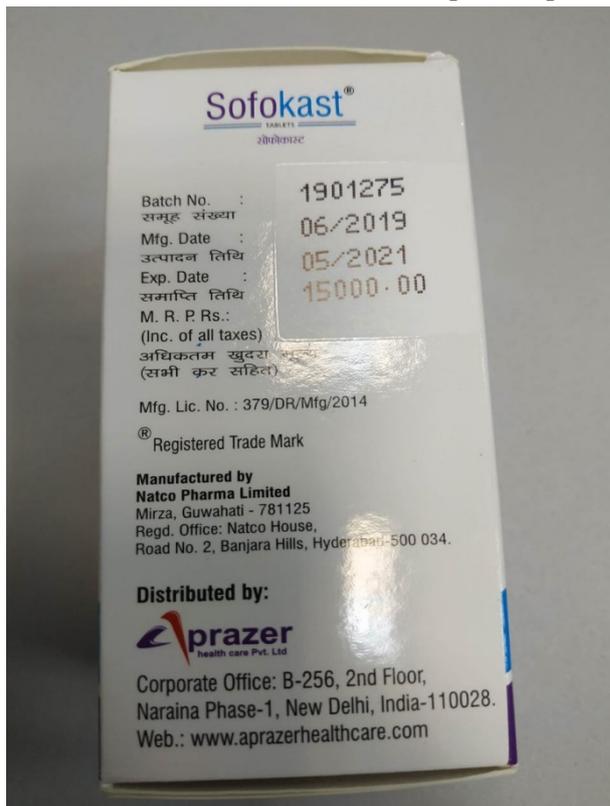


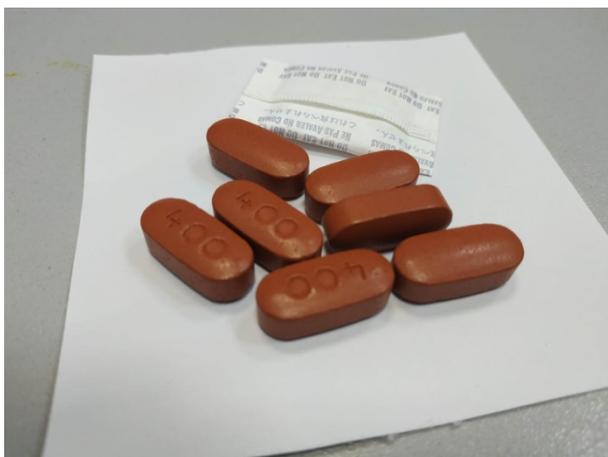
Образец сравнения даклатосвира





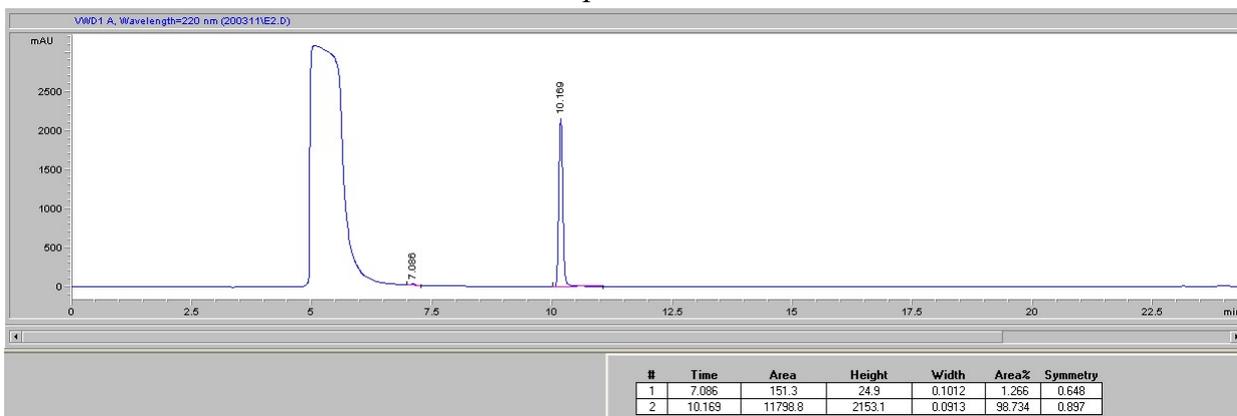
Образец сравнения софосбувира





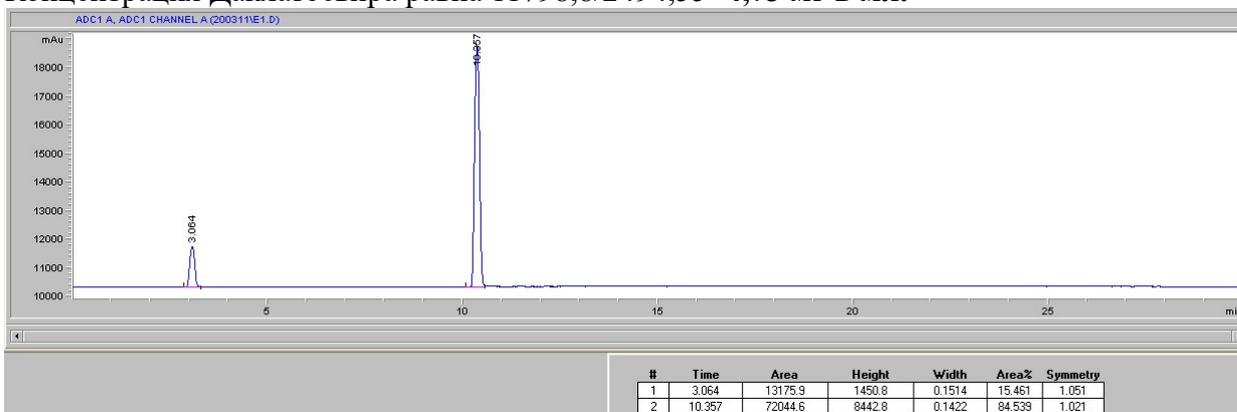
Приложение 2. Хроматограммы и масс-спектры образцов и образцов сравнения (ВЭЖХ/МС).

Образец № 1

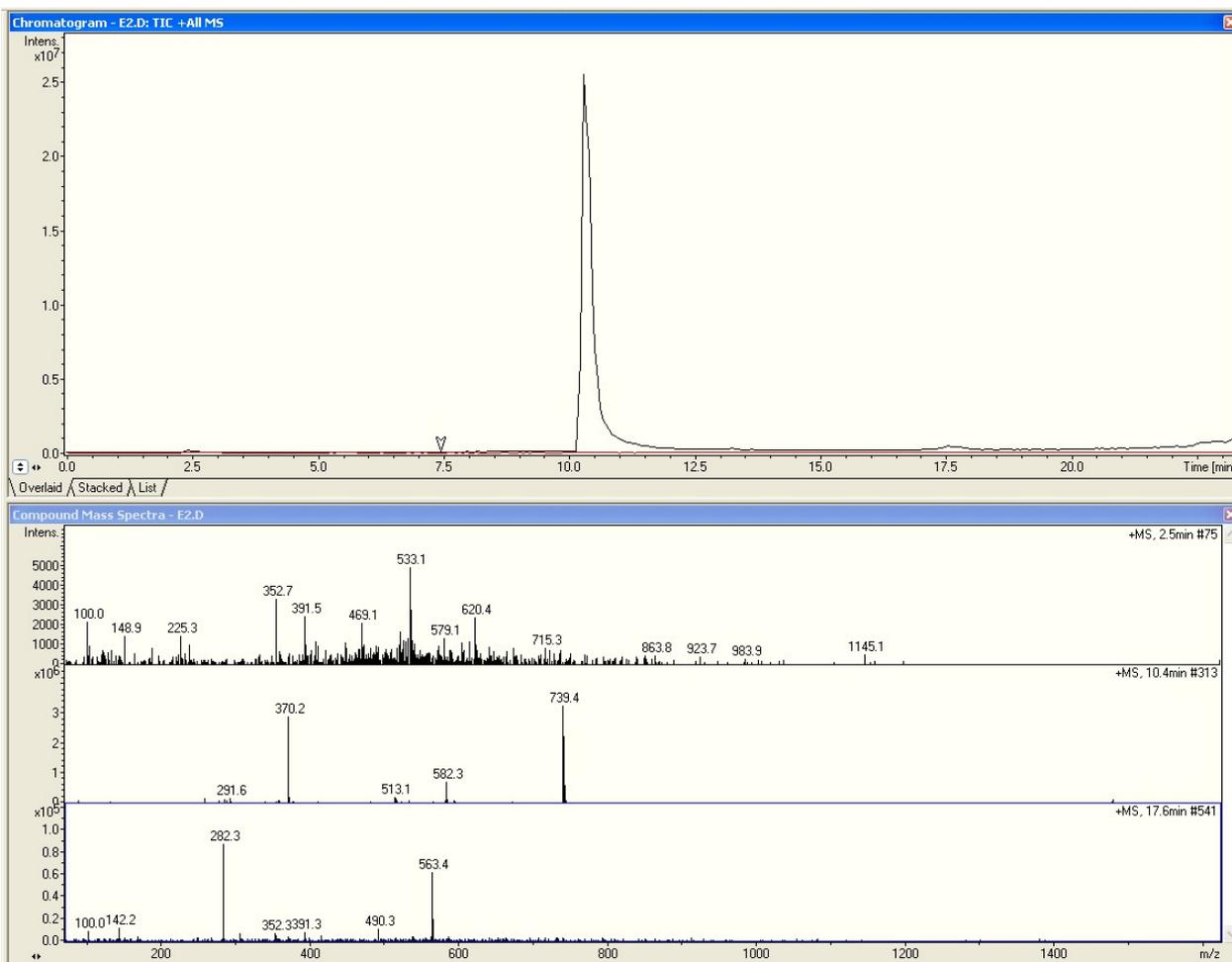


Хроматограмма с УФ детектором.

Концентрация Даклатосвира равна $11798,8/2494,55=4,73$ мг в мл.

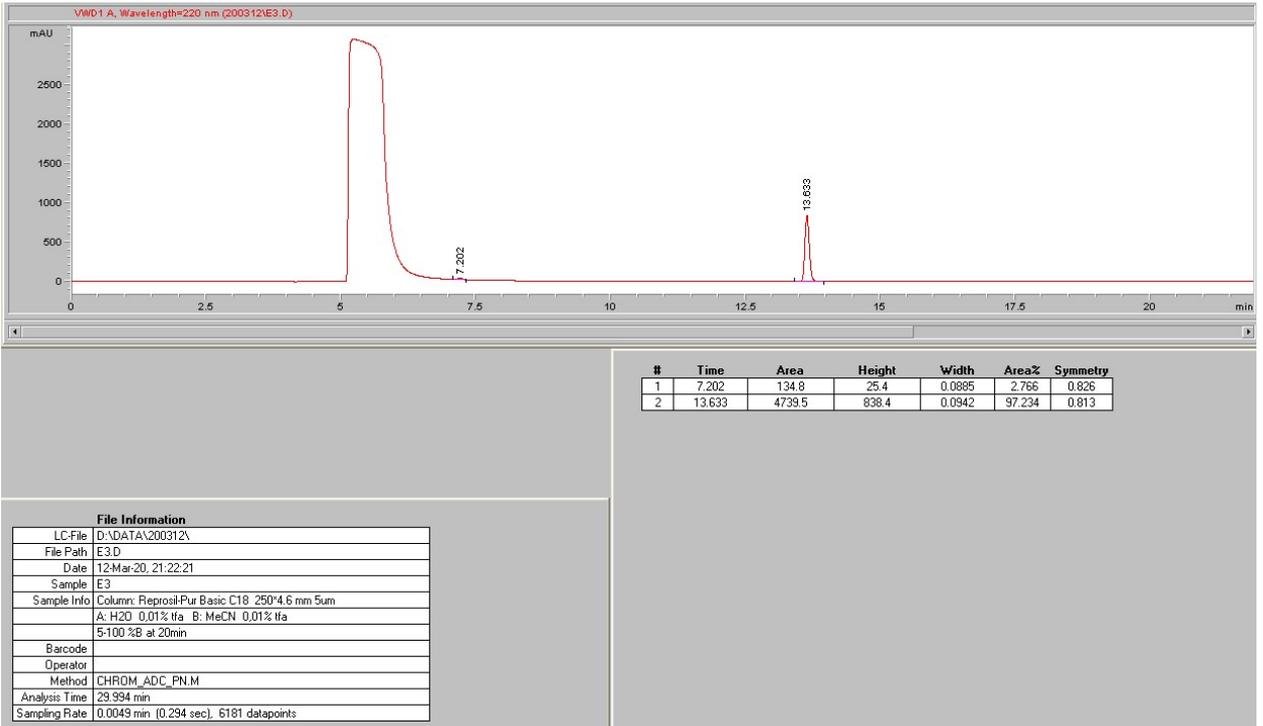


Хроматограмма с ELSD детектором.



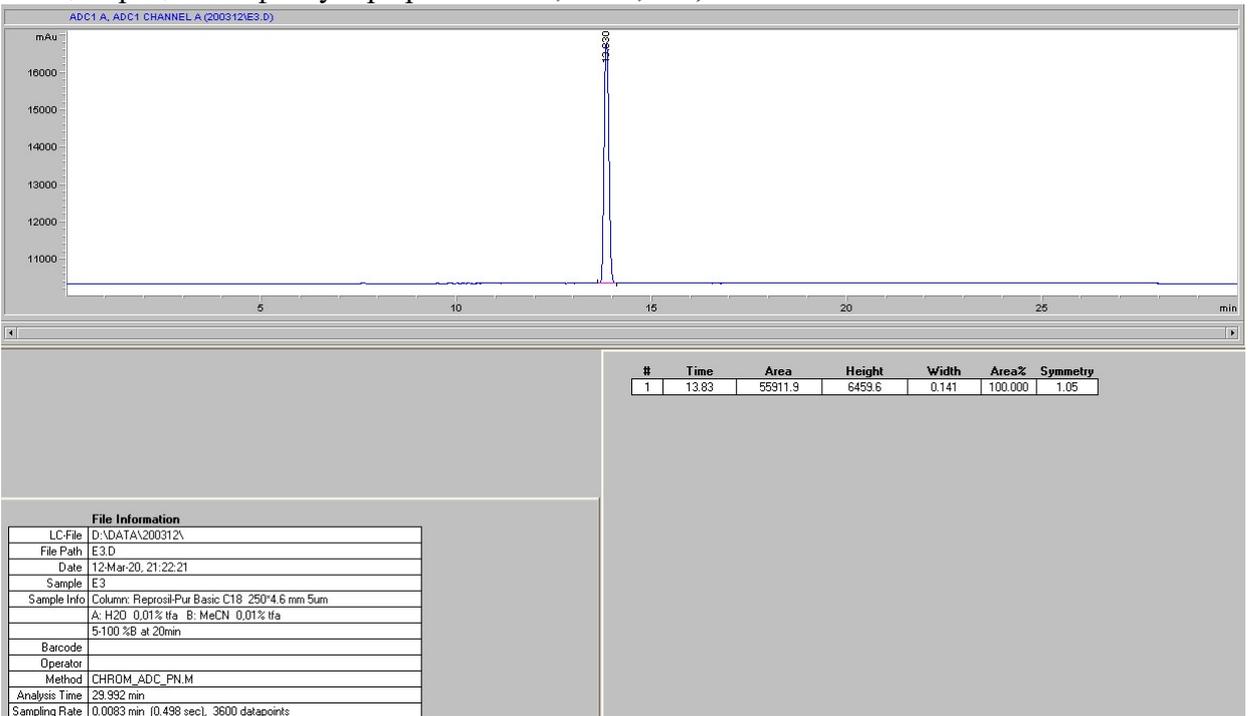
Масспектр (положительный) пика 2,5 мин; пика 10,4 мин; пика 17,6 мин.

Образец № 2

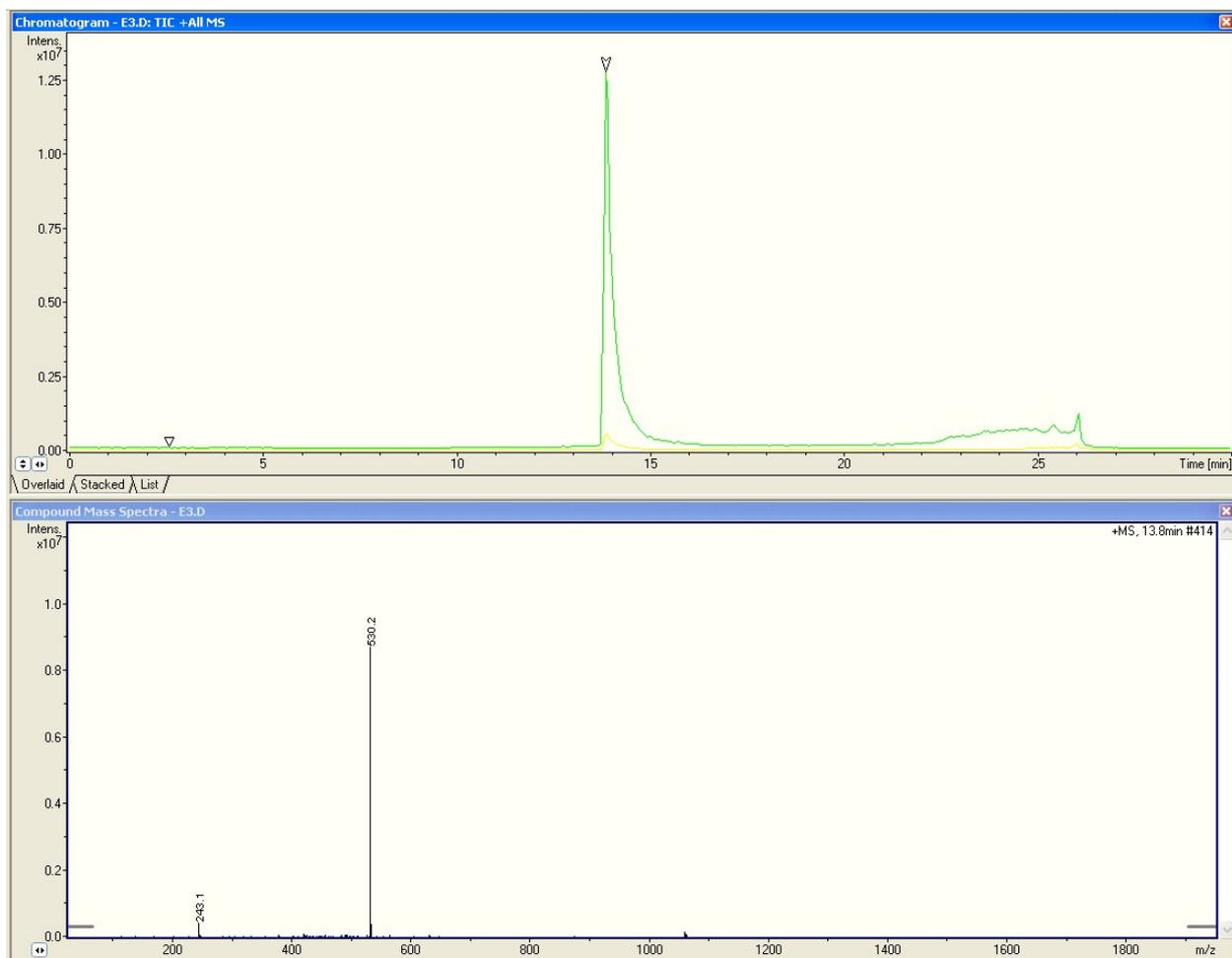


Хроматограмма с УФ детектором.

Концентрация Софосбувира равна $4739,5/920,5=5,15$ мг в мл.

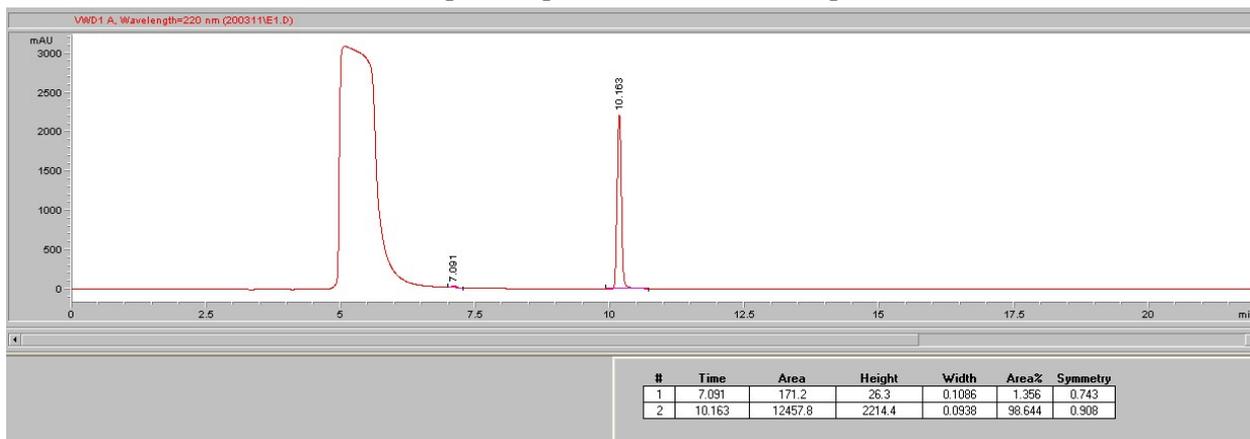


Хроматограмма с ELSD детектором.



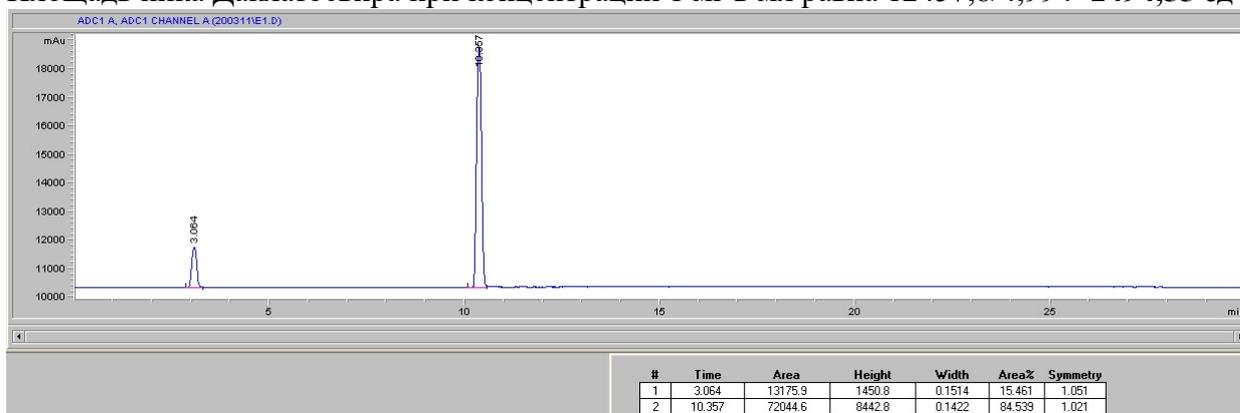
Масспектр (положительный) пика 13,9 мин;

Образец сравнения даклатосвира

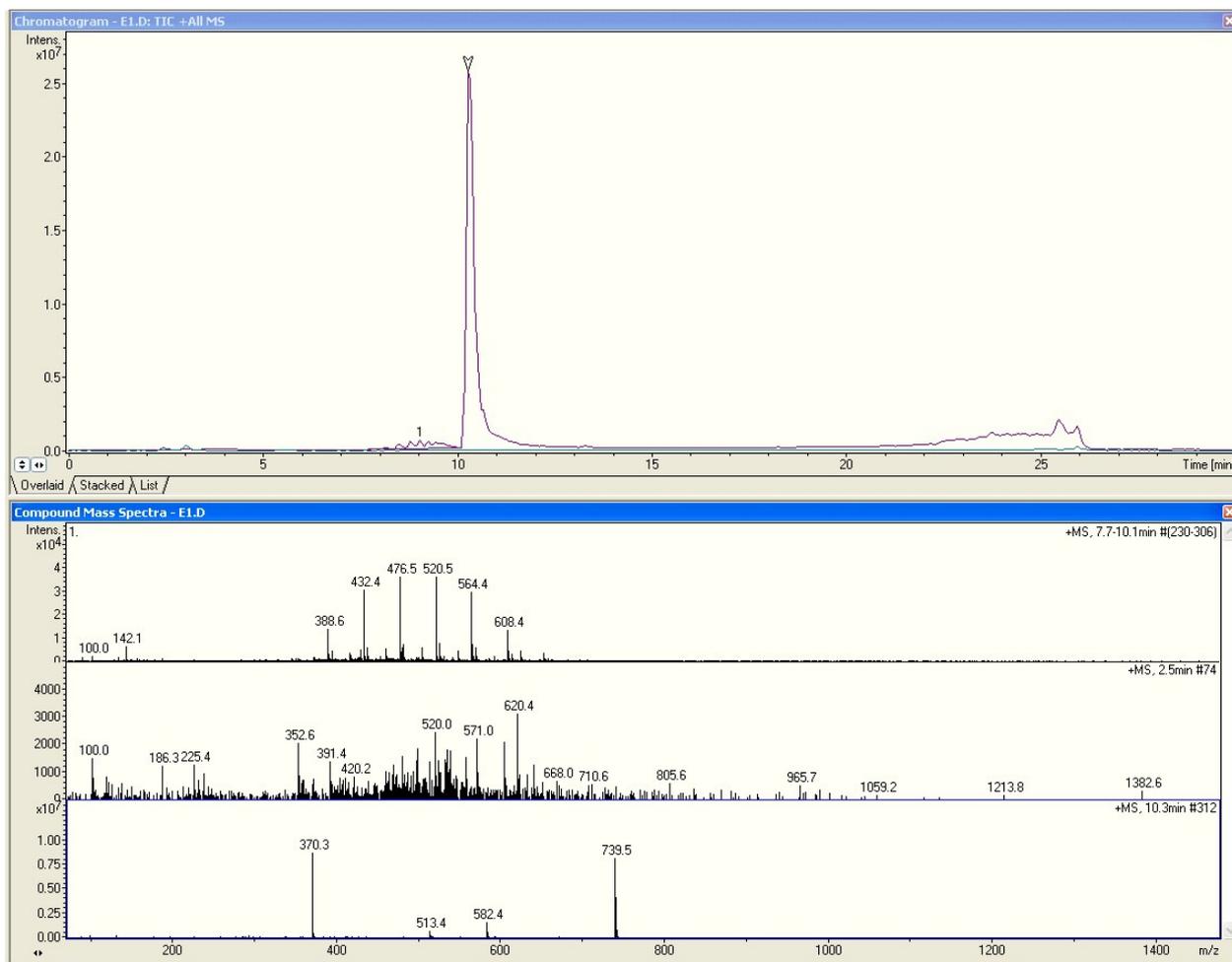


Хроматограмма с УФ детектором.

Площадь пика Даклатосвира при концентрации 1 мг в мл равна $12457,8/4,994=2494,55$ ед

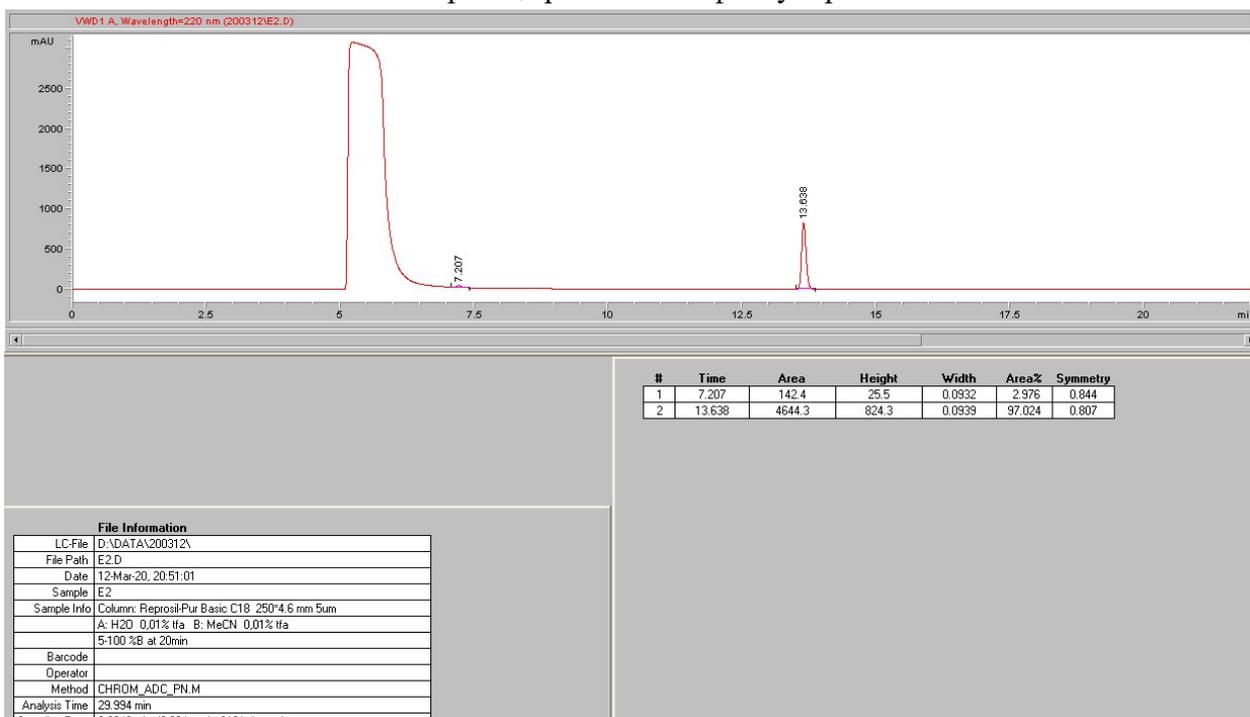


Хроматограмма с ELSD детектором.



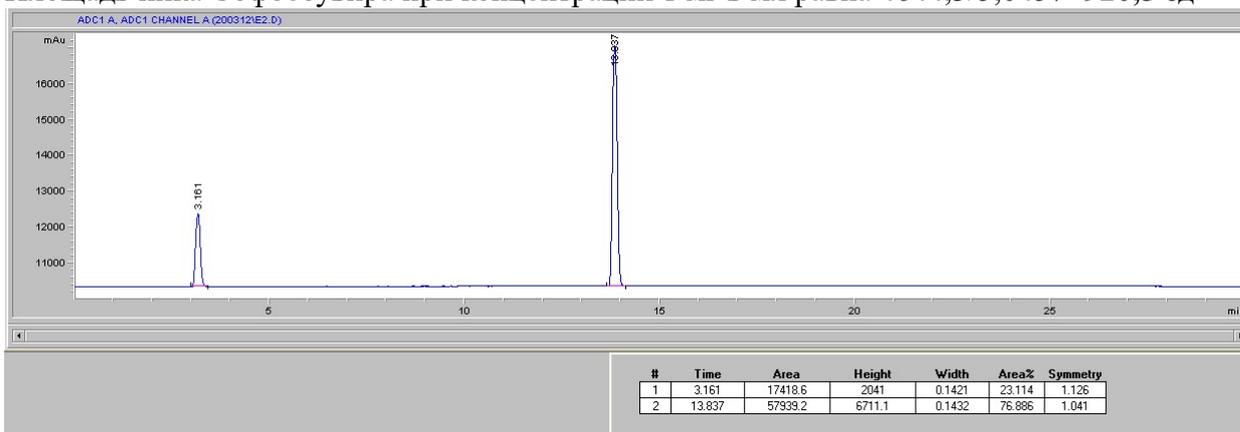
Масспектр (положительный) зоны 7,7-10,1 мин; пика 2,5 мин; пика 10,3 мин;

Образец сравнения софосбувира

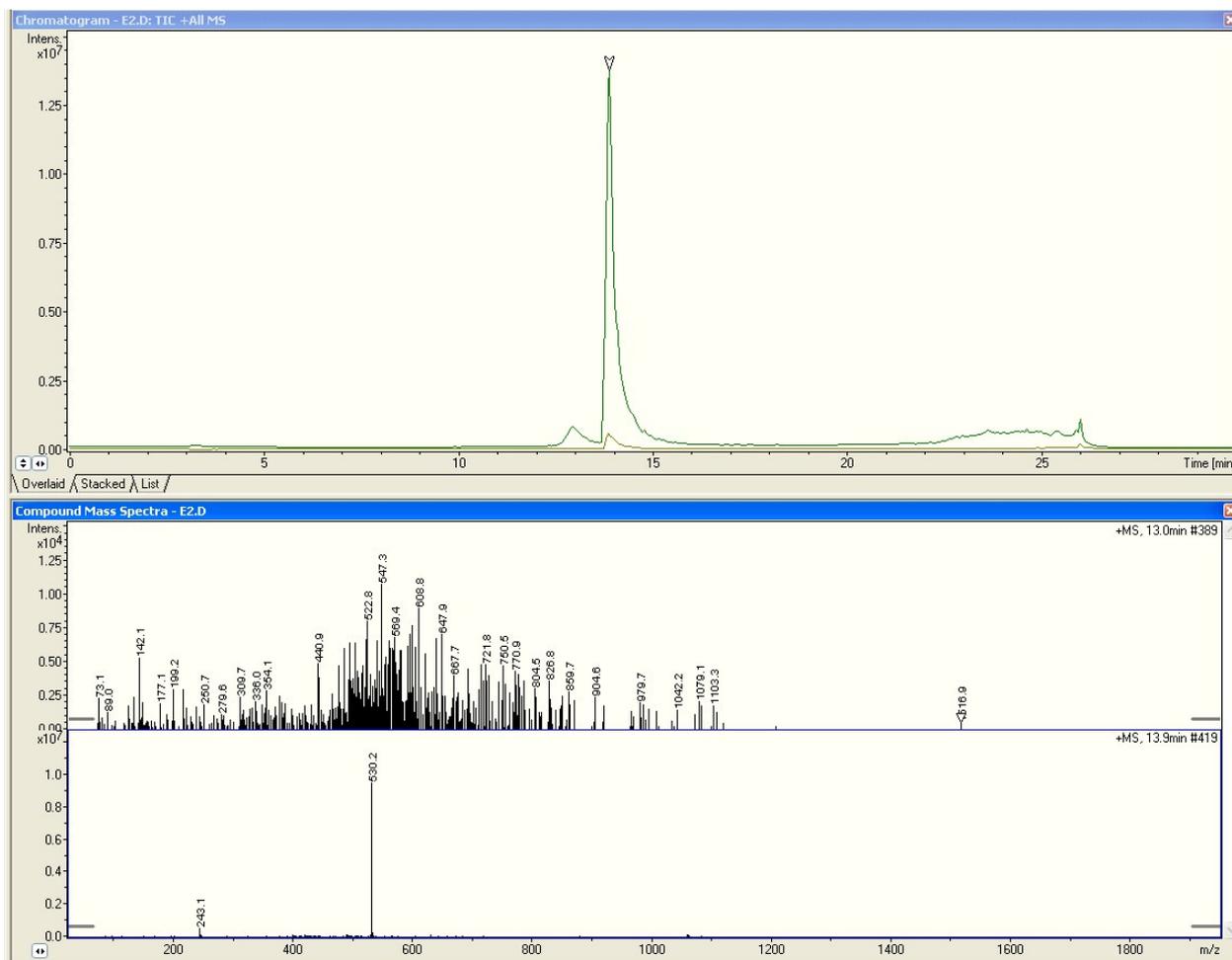


Хроматограмма с УФ детектором.

Площадь пика Софосбувира при концентрации 1 мг в мл равна $4644,3/5,0457=920,5$ ед

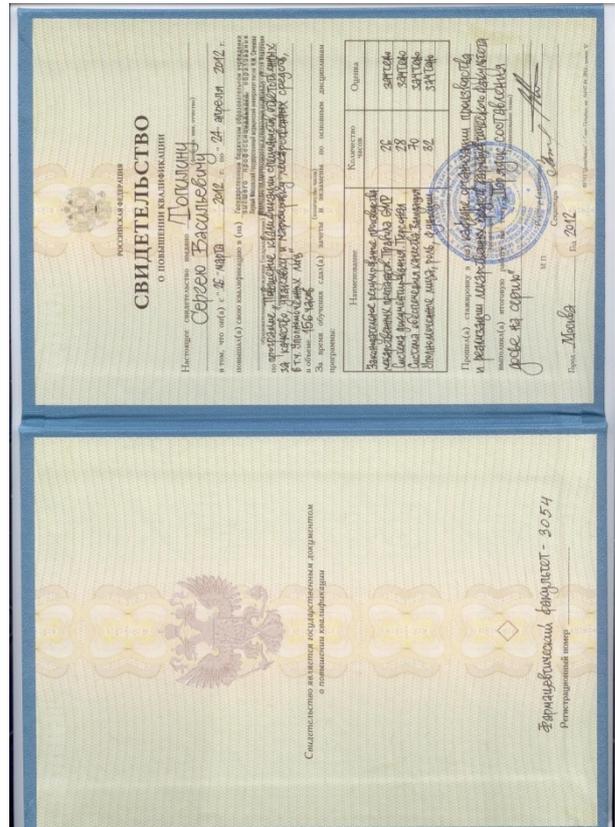
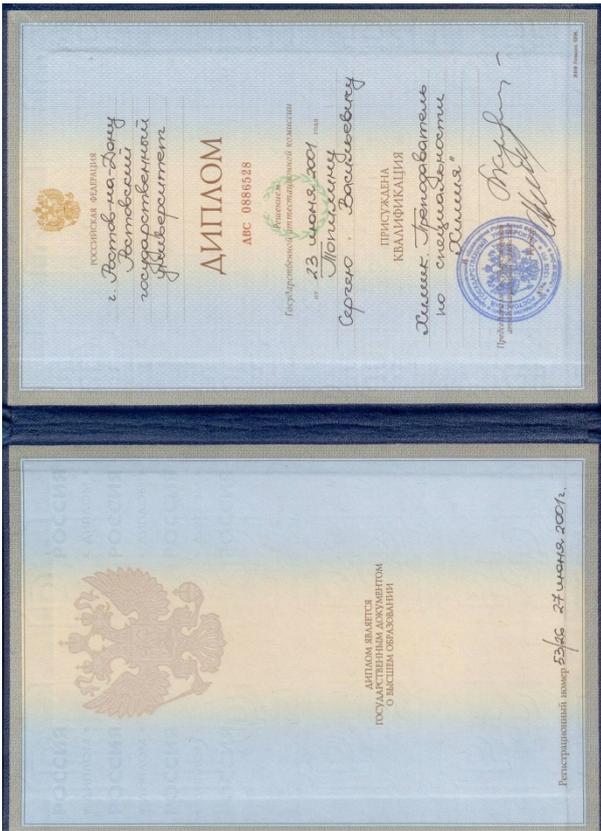


Хроматограмма с ELSD детектором.



Масспектр (положительный) пика 13,0; пика 13,9 мин;

Приложение 3. Копии документов, подтверждающих компетенцию специалиста.



Приложение 4. Сертификаты соответствия экспертного учреждения.



INTERNATIONAL QUALITY STANDART



МЕЖДУНАРОДНЫЙ
СТАНДАРТ
КАЧЕСТВА

INTERNATIONAL
QUALITY
STANDART

Система добровольной сертификации
«МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА»
(СИСТЕМА «МСК»)

Зарегистрирована в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии
Регистрационный номер в едином реестре зарегистрированных
Систем добровольной сертификации
РОСС RU.31734.04ЮАЕ1

Орган по сертификации «Современные Стандарты Качества»
115533 г. Москва, проспект Ашаролова д.22, тел.: 8-800-550-80-79; +7 (499) 951-01-90

СЕРТИФИКАТ СООТВЕТСТВИЯ

№ RU.MCK.009.005.CM.11886

Срок действия с 31 августа 2018 г. по 30 августа 2022 г.

Выдан: **Обществу с ограниченной ответственностью
«Центр химических исследований»**
107143, г. Москва, ул. Вербная, д. 8, стр. 5, офис 207
ОГРН: 1137746231314, ИПН: 7705535640

Настоящий сертификат удостоверяет, что
Система менеджмента качества
при осуществлении видов деятельности, указанных в
приложении к настоящему сертификату соответствия,
соответствует требованиям:
ГОСТ Р ИСО 9001-2015
«Системы менеджмента качества. Требования»

Основания для выдачи:
Решение экспертной комиссии ОС «Современные Стандарты Качества» № 623 от 08.08.2018 г.
Действие сертификата соответствия не имеет территориальных ограничений

Руководитель органа по сертификации: *Ю.А. Прохоров*
Эксперт: *В.С. Цой*

Зарегистрирован в Реестре Систем «МСК» на сайте www.ssk-iso.ru
Подтверждение действия сертификата соответствия:
30.08.2020 г. 30.08.2021 г.
м.п. м.п.

Сертификат соответствия без подтверждения его действия недействителен.

№01928

INTERNATIONAL QUALITY STANDART



МЕЖДУНАРОДНЫЙ
СТАНДАРТ
КАЧЕСТВА

INTERNATIONAL
QUALITY
STANDART

Система добровольной сертификации
«МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА»
(СИСТЕМА «МСК»)

Зарегистрирована в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии
Регистрационный номер в едином реестре зарегистрированных
Систем добровольной сертификации
РОСС RU.31734.04ЮАЕ1

Орган по сертификации «Современные Стандарты Качества»
115533 г. Москва, проспект Ашаролова д.22, тел.: 8-800-550-80-79; +7 (499) 951-01-90

ПРИЛОЖЕНИЕ К СЕРТИФИКАТУ СООТВЕТСТВИЯ

№ RU.MCK.009.005.CM.11886

Виды деятельности:

1. Работы в области проведения испытаний:
 - 1.1. Пищевых продуктов.
 - 1.2. Воды питьевой технической сточной и лобочных продуктов водного хозяйства.
 - 1.3. Лекарственных средств.
 - 1.4. Биологически-активных добавок к пище и спортивного питания.
 - 1.5. Парфюмерно-косметической продукции.
 - 1.6. Нефти и нефтепродуктов.
 - 1.7. Угля, торфа, топлива.
 - 1.8. Металлов сплавов и металлических изделий.
 - 1.9. Продукции неорганической и органической химии.
 - 1.10. Полимеров пластических масс и изделий из резины и пластмассы.
 - 1.11. Минеральных удобрений.
 - 1.12. Лакокрасочной продукции.
 - 1.13. Бытовой химии.
 - 1.14. Объектов окружающей среды: вода, воздух, почва, отходы.
2. Работы в области проведения судебных экспертиз:
 - 2.1. С применением методов молекулярной спектроскопии.
 - 2.2. С применением методов атомной спектроскопии.
 - 2.3. С применением рентгенографических методов.
 - 2.4. С применением рентгеноспектральных методов и методов электронной микроскопии.
 - 2.5. С применением хроматографических методов.
3. Проведение научных исследований.
- 3.1. В области аналитической и физической химии.
- 3.2. В области органического синтеза.
4. Работы в области разработок методик и репертур.

Руководитель органа по сертификации: *Ю.А. Прохоров*
Эксперт: *В.С. Цой*

Приложение без сертификата соответствия недействительно.

№019284