

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Бондарець Інна Русланівна**

УДК: 666.1:615.4

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**Розробка підходів та методик забезпечення якості імплантатів ін'єкційних  
на основі гіалуронової кислоти**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.



І.Р. Бондарець

Науковий керівник Георгіянц Вікторія Акопівна, доктор фармацевтичних  
наук, професор

Харків – 2026

## АНОТАЦІЯ

*Бондарець І.Р.* Розробка підходів та методик забезпечення якості імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2026.

Дисертаційна робота присвячена розробці сучасних підходів та впровадженню стандартів якості для медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти, а також дослідженню регуляторних вимог світу та України щодо медичних виробів. Робота базується на дослідженні питання якості, безпечності та регуляторного забезпечення імплантатів ін'єкційних з урахуванням сучасних європейських вимог до медичних виробів, а саме до оцінки ризиків, валідації методів контролю якості, технологічного процесу виготовлення продукту та проведення дослідження речовин що вимивають та екстрагуються з первинного пакування готового продукту.

У *вступі* представлено актуальність теми, мету, завдання дослідження, наведено наукову новизну та практичну значимість отриманих результатів. Висвітлено короткий опис використаних методів аналізу для визначення основного компоненту готового продукту, дослідження речовин що вимивають та екстрагуються.

В першому розділі розглянуто поняття «медичні вироби», їх класифікацію, сфери застосування та тенденції поширення у світовій медичній практиці. На сьогоднішній день на фармацевтичному ринку представлено величезний спектр різноманіття медичних виробів від пластира до апарату штучного дихання, від антисептичного розчину до ін'єкційного виробу. Такий широкий вибір типів медичних виробів ускладнює можливість регулювання даного типу фармацевтичного продукту для забезпечення сталого високого рівня якості та безпечності їх

використання. Визначено необхідність закладати характеристики якості та проводити оцінку ризиків застосування медичних виробів на етапі розробки. Проаналізовано особливості регулювання обігу медичних виробів в Україні та за кордоном, включно з нещодавно введеними в дію вимогами Європейського Союзу Регламенту (ЄС) 2017/745 (MDR), гармонізованих стандартів ISO та національного законодавства з визначенням проблематики даного питання. Окрему увагу приділено вимогам до безпечності, ефективності та управління ризиками. А також відмінностям оновленого законодавства Європейського Союзу порівняно його попередньою версією враховуючи відповідність діючих вимог України попереднім вимогам Європи та, відповідно, необхідність їх оновлення в рамках євроінтеграції.

Наведено характеристику та історію розвитку ін'єкційних імплантатів як окремої категорії медичних виробів. Узагальнено дані щодо фізико-хімічних, біологічних та фармакологічних властивостей гіалуронової кислоти, а також сфер її застосування у фармації та медицині.

Розглянуто історію розвитку, постановку потреби та сучасні підходи підтвердження безпечності медичних виробів, а саме дослідження речовин що екстрагуються (extractables) та речовин що вимиваються (leachables) з первинного пакування готового продукту, їх роль у забезпеченні якості фармацевтичних продуктів і медичних виробів, а також регуляторні очікування щодо контролю потенційних домішок.

*В розділі 2 «Об'єкти та методи досліджень»* обґрунтовано загальну концепцію досліджень. Описано загальну методологію досліджень, що базується на ризик-орієнтованому підході, принципах належної виробничої практики та вимогах до медичних виробів.

Першим етапом дослідження є формування регуляторної моделі класифікації медичних виробів для ринку України, розробки дерева рішень визначення класу ризику медичного виробу для коректної побудови стратегії його розробки. В дисертації об'єктом досліджень є медичний виріб найвищого III класу ризику, що дозволяє представити найбільш жорсткі вимоги до медичних виробів як українського,

так і європейського регулятора. Імпланти ін'єкційні є інвазивними виробами з пролонгованою дією що визначає високий ризик їх застосування для пацієнта.

Описано комплекс аналітичних, фізико-хімічних та інструментальних методів дослідження, застосованих для контролю якості, валідації методики кількісного визначення гіаулонату натрію в складі продукту, підтвердження валідності технологічного процесу виготовлення імплантатів ін'єкційних та вивчення extractables і leachables. А також представлено використані в ході експерименту методики досліджень.

*Розділ 3 «Валідація методик контролю якості та технологічного процесу виготовлення ін'єкційних імплантатів на основі гіалуринової кислоти».* Для забезпечення якості медичного виробу зважаючи на відсутність жорсткої регуляції показників якості кожного типу медичного виробу першочергово ще на етапі проектування та розробки обов'язковим етапом є проведення оцінки ризиків застосування продукту та визначення заходів мінімізації таких ризиків. В третьому розділі наведено методологію та результати оцінки ризиків для імплантатів ін'єкційних на основі гіалуринової кислоти та сформовано перелік показників якості медичного виробу, які необхідно включити в специфікацію на продукт.

Для визначення основного компоненту медичного виробу імплантату ін'єкційного було обрано фармакопейну методику. Задачею було підтвердити можливість застосування даної методики в складі готового продукту. Відповідно, в даному розділі описано валідацію методики кількісного визначення основного компоненту в складі імплантатів ін'єкційних гіаулонату натрію.

Найбільш поширеного застосування на сьогодні набула зшита, тобто стабілізована гіалуринова кислота зважаючи на її вищу стійкість до гіауронідази та пролонговану дію за рахунок вищої стійкості до біодеградації після введення продукту в організм людини. В даному розділі наведено визначення критичних точок виготовлення готового продукту та ретроспективну валідацію технологічного процесу з урахуванням вимог регуляторних документів для імплантатів ін'єкційних на основі зшитої гіалуринової кислоти де зшиваючим агентом є 1,4-бутандиол дигліцидиловий ефір.

Для визначення критичних точок було проведено аналіз кожного етапу технологічного процесу та визначено параметри, які відображають правильність ходу та виконання кожного підпроцесу для забезпечення отримання якісного продукту згідно встановленої специфікації. За результатами аналізу було побудовано діаграму Ісікави. Для проведення статистичної обробки даних було використано метод побудови контрольних карт Шухарта згідно ISO 8258:1991. Для побудови карт було обрано показники, які мають найбільший вплив на технологічний процес та мають людський фактор впливу, тобто ручний контроль: рН, час діалізу (хв), об'єм, що витягається (мл) та кількісний вміст гіалуронової кислоти в готовому продукті (мг/мл).

В розділі 4 «Дослідження якості та безпечності медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти» наведено алгоритм проведення дослідження речовин що вимивають та екстрагуються. Розділ присвячено експериментальним дослідженням безпечності лінійки досліджуваних медичних виробів з точки зору потенційної міграції домішок. Дослідження проводяться на одному виробі з лінійки, який було обрано в якості найгіршого випадку за кількісними вмістом гіалуронової кислоти в мг на одиницю продукту.

Для аналітичного дослідження речовин що вимиваються та екстрагуються було використано наступні методи: Head-space газова хроматографія для визначення летких органічних речовин; газова хроматографія в поєднанні з мас-спектрометричним детектором для визначення напівлетких органічних сполук; рідинна хроматографія в поєднанні з УФ- та мас-спектрометричними детекторами для визначення нелетких органічних сполук; мас-спектрометрія з індуктивно-зв'язаною плазмою (ІЗП/МС) для визначення вмісту металів; іонна хроматографія для визначення вмісту аніонів.

В розділі також наведено розрахунок порогу, нижче якого немає необхідності ідентифікувати речовини. Представлено результати поетапного дослідження речовин, що вимивають та речовин, що екстрагуються.

В результаті дослідження речовин що екстрагуються було ідентифіковано ряд металів вище встановленої допустимої норми, а саме ванадій (V), кобальт (Co), мідь

(Cu), молибден (Mo), осмій (Os), іридій (Ir), платина (Pt), хром (Cr) та нікель (Ni). Для оцінки безпечності виявлених елементів використано значення Permitted Daily Exposure (PDE), визначені міжнародною настановою ICH Q3D (R1) для парентерального шляху введення. Усі визначені кількості металів становлять менше 1 % від встановлених допустимих добових рівнів (PDE) для парентерального шляху введення. Таким чином доведено токсикологічну прийнятність наявного вмісту металів.

В результаті дослідження речовин що вимиваються при дослідженні напівлетких органічних речовин було визначено сполуку, яку ідентифікували як похідну основного компоненту досліджуваного медичного виробу - гіалуронової кислоти, тому джерелом її потрапляння в імплантат є не вимивання з первинного пакування. Натомість речовину ідентифіковано як похідну основного компоненту продукту, а саме гіалуронової кислоти. Токсикологію ідентифікованої домішки на даному етапі не розглядали, одержані результати потребують додаткового опрацювання щодо вимог до основного компоненту. Серед металів було ідентифіковано лише один елемент, який виходить за межі встановлених норм – літій. В наявній кількості літій не має токсикологічного чи біологічного ефекту. Джерелом потрапляння літію в гель ідентифіковано первинне пакування, яке складається з боросилікатного скла, що містить не тільки кремній та бор, але й лужні метали такі як натрій. Також оксид літію ( $\text{Li}_2\text{O}$ ) додають до скла для підвищення термостійкості, зменшення коефіцієнта теплового розширення та покращення хімічної стійкості скляних циліндрів.

Наукова новизна роботи полягає у сформованих науково обґрунтованих оригінальних рішеннях, алгоритмах та методологіях в сфері розробки та промислового виробництва, які раніше не було системно застосовано та формалізовано для медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти. Описані підходи розроблено з урахуванням оновлених європейських вимог, які найближчі роки буде впроваджено для ринку України в рамках євроінтеграції країни.

**Ключові слова:** гіалуронова кислота, імплантати ін'єкційні, забезпечення якості, контроль якості, валідація, аналіз ризиків, УФ-спектрофотометрія, хроматографія

*Список публікацій здобувача:*

1. Regulatory and risk oriented approach to the design and development of medical devices in accordance with Ukraine regulations / I. Bondarets et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69(2). P. 493–500. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e82316. (Особистий внесок – експертиза регуляторних вимог на ринку Європейського Союзу до медичних виробів, розробка дерева рішень для визначення класу ризику медичних виробів, аналіз результатів, розробка проекту алгоритму, оформлення та підготовка статті до друку).

2. An approach to the technological process validation of manufacturing medical devices using the example of injectable implants based on hyaluronic acid / I. Bondarets et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. Vol. 6(25). P. 111–123. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.319456. (Особистий внесок здобувача – розробка підходу до валідації технологічного процесу залежно від типу медичного виробу та його характеристик, а саме лінійки імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти, експериментальні дослідження, оформлення та підготовка статті до друку; внесок Сидоренко Л.В. - виконана частина експериментального дослідження; внесок Антоненко О. - виконання аналізу літературних даних; внесок Лебеда С. - виконання аналізу літературних даних та узагальнення фізико – хімічних даних; внесок Георгіяню В.А. - формулювання цілей та задач дослідження, формулювання висновків).

3. Бондарець І. Р., Георгіяню В. А. Оцінювання придатності методики кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Health Education*. 2024. № 2. P. 117–124. DOI: 10.32782/health-2024.2.15. (Особистий внесок здобувача – проведення дослідження, аналіз результатів, оформлення та підготовка статті до друку; особистий внесок Георгіяню В.А. -

допомога в організації експериментальних досліджень; формулювання цілей та задач дослідження).

4. Bondarets I. R., Georgiyants V. A. The experimental study of the quality and safety of injectable implant medical devices based on hyaluronic acid in accordance with the requirements of the EU Regulation. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23(3). P. 28–35. DOI: 10.24959/ophcj.25.339976. (Особистий внесок здобувача – формування стратегії дослідження, аналіз результатів, оформлення та підготовка статті до друку; особистий внесок Георгіяню В.А. - допомога в організації експериментальних досліджень; формулювання цілей та задач дослідження).

5. Управління ризиками в розробці та життєвому циклі медичних виробів / І. Р. Бондарець та ін. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 507–509.

6. Бондарець І. Р., Сидоренко Л. В., Георгіяню В. А. Підхід до стратегії розробки медичних виробів. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. дистанційної конф., м. Харків, 1 лют. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 89.

7. Бондарець І. Р., Сидоренко Л. В., Горохова О. В. Підхід до валідації технологічного процесу виготовлення медичних виробів. *Modern chemistry of medicines* : матеріали Міжнар. internet-конф., м. Харків, 1 трав. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 123–124.

8. Problems of medical devices standardization for the Ukraine market in view of European integration / I. Bondarets et al. *Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations* : materials of the international conference, March 22, 2024. Kaunas, 2024. P. 48.

9. Бондарець І. Р., Георгіяню В. А. Розрахунок очікуваного терміну використання медичного виробу на прикладі імплантатів ін'єкційних за вимогами оновлених регуляторних вимог Європейського Союзу. *Modern chemistry of medicines*:

матеріали Міжнар. internet-конф., до 85-річчя з дня народж. проф. П. О. Безуглого, м. Харків, 25 верес. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 65.

10. Бондарець І. Р., Георгіянци В. А. Валідація кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Modern chemistry of medicines* : матеріали Міжнар. internet-конф., до 85-річчя з дня народж. проф. П. О. Безуглого, м. Харків, 25 верес. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. *Poster presentation*.

11. Бондарець І. Р., Георгіянци В. А. Визначення речовин, що вимиваються, та речовин, що екстрагуються для медичних виробів. *Modern chemistry of medicines*: матеріали Міжнар. internet-конф., м. Харків, 7 листоп. 2025 р. Харків : НФаУ, 2025. С. 84.

## ANNOTATION

*Bondarets I.R.* Modern approaches to the development and implementation of quality standards for injectable implant based on hyaluronic acid. – Qualification scientific work, manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 "Pharmacy, Industrial Pharmacy" (22 - Health Care). - National Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2026.

The dissertation work is devoted to the development of modern approaches and the implementation of quality standards for medical devices of injectable implants based on hyaluronic acid, as well as the study of regulatory requirements of the world and Ukraine for medical devices. The work is based on the study of the issue of quality, safety and regulatory support of injectable implants taking into account modern European requirements for medical devices, namely, risk assessment, validation of quality control methods, the technological process of product manufacturing and conducting a study of substances that are washed out and extracted from the primary packaging of the finished product.

The introduction presents the relevance of the topic, the goal, objectives of the study, the scientific novelty and practical significance of the results obtained. A brief description

of the analysis methods used to determine the main component of the finished product, the study of substances that are washed out and extracted is highlighted.

The first section considers the concept of "medical devices", their classification, areas of application and trends in distribution in world medical practice. Today, the pharmaceutical market presents a huge range of medical products from plasters to artificial respiration apparatus, from antiseptic solutions to injectable products. Such a wide range of types of medical products complicates the possibility of regulating this type of pharmaceutical product to ensure a consistently high level of quality and safety of their use. The need to establish quality characteristics and conduct a risk assessment of the use of medical products at the development stage has been identified. The features of regulating the circulation of medical products in Ukraine and abroad have been analyzed, including the recently implemented requirements of the European Union Regulation (EU) 2017/745 (MDR), harmonized ISO standards and national legislation with a definition of the issues of this issue. Special attention is paid to the requirements for safety, effectiveness and risk management. As well as the differences of the updated European Union legislation compared to its previous version, considering the compliance of the current requirements of Ukraine with the previous requirements of Europe and, accordingly, the need to update them within the framework of European integration.

The characteristics and history of the development of injectable implants as a separate category of medical devices are presented. Data on the physicochemical, biological and pharmacological properties of hyaluronic acid, as well as its areas of application in pharmacy and medicine are summarized.

The history of development, the need statement and modern approaches to confirming the safety of medical devices are considered, namely the study of extractables and leachables from the primary packaging of the finished product, their role in ensuring the quality of pharmaceutical products and medical devices, as well as regulatory expectations regarding the control of potential impurities.

In section 2 "Objects and methods of research" the general concept of research is substantiated. The general methodology of research is described, which is based on a risk-

based approach, principles of good manufacturing practice and requirements for medical devices.

The first stage of the research is the formation of a regulatory model of classification of medical devices for the Ukrainian market, the development of a decision tree for determining the risk class of a medical device for the correct construction of a strategy for its development. In the dissertation, the object of research is a medical device of the highest risk class III, which allows presenting the most stringent requirements for medical devices of both Ukrainian and European regulators. Injectable implants are invasive products with prolonged action, which determines the high risk of their use for the patient.

A set of analytical, physicochemical and instrumental research methods used for quality control, validation of the method for quantitative determination of sodium hyaluronate in the product composition, confirmation of the validity of the technological process for manufacturing injectable implants and the study of extractables and leachables is described. The research methods used in the experiment are also presented.

Section 3 "Validation of quality control methods and the technological process for manufacturing injectable implants based on hyaluronic acid". To ensure the quality of a medical product, given the lack of strict regulation of the quality indicators of each type of medical product, the first and foremost mandatory stage at the design and development stage is to assess the risks of using the product and determine measures to minimize such risks. The third section presents the methodology and results of the risk assessment for injectable implants based on hyaluronic acid and a list of medical product quality indicators that must be included in the product specification is formed.

To determine the main component of the medical device, an injectable implant, a pharmacopoeial method was chosen. The task was to confirm the possibility of using this method in the composition of the finished product. Accordingly, this section describes the validation of the method for quantitative determination of the main component in the composition of injectable sodium hyaluronate implants.

The most widely used today is cross-linked, i.e. stabilized hyaluronic acid, due to its higher resistance to hyaluronidase and prolonged action due to higher resistance to biodegradation after the product is introduced into the human body. This section provides a

definition of critical points in the manufacture of the finished product and retrospective validation of the technological process, considering the requirements of regulatory documents for injectable implants based on cross-linked hyaluronic acid, where the cross-linking agent is 1,4-butanediol diglycidyl ether.

To determine the critical points, an analysis of each stage of the technological process was conducted and parameters were determined that reflect the correctness of the course and execution of each subprocess to ensure the production of a quality product according to the established specification. Based on the results of the analysis, an Ishikawa diagram was constructed. For statistical data processing, the Shewhart control chart construction method according to ISO 8258:1991 was used. To construct the charts, the indicators that have the greatest impact on the technological process and have a human factor of influence were selected: pH, dialysis time (min), extracted volume (ml) and quantitative content of hyaluronic acid in the finished product (mg/ml).

In section 4 "Study of the quality and safety of medical devices for injectable implants based on hyaluronic acid" an algorithm for conducting a study of leachable and extractable substances is presented. The section is devoted to experimental studies of the safety of the line of medical devices under study from the point of view of potential migration of impurities. The studies are conducted on one product from the line, which was selected as the worst case in terms of quantitative hyaluronic acid content in mg per unit of product.

For the analytical study of leachable and extractable substances, the following methods were used: Head-space gas chromatography for the determination of volatile organic compounds; gas chromatography in combination with a mass spectrometric detector for the determination of semi-volatile organic compounds; liquid chromatography in combination with UV and mass spectrometric detectors for the determination of non-volatile organic compounds; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP/MS) for the determination of metal content; ion chromatography for the determination of anion content.

The section also provides a calculation of the threshold below which it is not necessary to identify substances. The results of a phased study of leachable and extractable substances are presented.

As a result of the study of the extracted substances, several metals were identified above the established permissible norm, namely vanadium (V), cobalt (Co), copper (Cu), molybdenum (Mo), osmium (Os), iridium (Ir), platinum (Pt), chromium (Cr) and nickel (Ni). To assess the safety of the detected elements, the Permitted Daily Exposure (PDE) values determined by the international guideline ICH Q3D (R1) for the parenteral route of administration were used. All determined amounts of metals are less than 1% of the established permissible daily levels (PDE) for the parenteral route of administration. Thus, the toxicological acceptability of the present metal content was proven.

As a result of the study of substances leached during the study of semi-volatile organic substances, a compound was identified that was identified as a derivative of the main component of the medical product under study - hyaluronic acid, therefore the source of its entry into the implant is not leaching from the primary packaging, but rather the substance was identified as a derivative of the main component of the product - hyaluronic acid. The toxicology of the identified impurity was not considered at this stage, the results obtained require additional processing regarding the requirements for the main component. Among the metals, only one element was identified that exceeds the established norms - lithium. In the available amount, lithium has no toxicological or biological effect. The source of lithium entering the gel was identified as the primary packaging, which consists of borosilicate glass, which contains not only silicon and boron, but also alkali metals such as sodium. Lithium oxide ( $\text{Li}_2\text{O}$ ) is also added to glass to increase heat resistance, reduce the coefficient of thermal expansion and improve the chemical resistance of glass cylinders.

The scientific novelty of the work lies in the formed scientifically based original solutions, algorithms and methodologies in the field of development and industrial production, which have not previously been systematically applied and formalized for medical devices of injectable implants based on hyaluronic acid. The described approaches have been developed considering the updated European requirements, which will be introduced for the Ukrainian market in the coming years within the framework of the country's European integration.

**Keywords:** hyaluronic acid, injectable implants, quality assurance, quality control, validation, risk analysis, UV spectrophotometry, chromatography.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	16
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1	24
СУЧАСНІ ВИМОГИ ДО ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ МЕДИЧНИХ ВИРОБІВ. (Огляд літератури)	24
1.1 Поняття «медичні вироби». Їх застосування та поширення	24
1.2 Регулювання обігу та вимоги до забезпечення якості медичних виробів в Україні та в світі	26
1.3 Імплантати ін'єкційні	33
1.3.1 Імплантати інекційні: історія, визначення та призначення	33
1.3.2 Гіалуронова кислота як основний компонент імплантатів ін'єкційних	34
1.4 Extractables та Leachables як ключові параметри визначення якості та безпеки лікарських засобів та медичних виробів	38
Висновки до розділу 1	43
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	45
2.1. Вибір загальної методології досліджень	45
2.2 Регуляторна модель класифікації медичних виробів для ринку України та побудова дерева рішень для визначення їх класу ризику	46
2.3 Об'єкти дослідження	53
2.3.1 Фізико-хімічні властивості гелю імплантатів ін'єкційних	53
2.3.2 Фізико-хімічні властивості основного компонента імплантатів ін'єкційних.	54
2.4 Методи досліджень	56
Висновки до розділу 2	65
РОЗДІЛ 3 ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ТА ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМПЛАНТАТІВ ІН'ЄКЦІЙНИХ	66
3.1 Формування узагальненого алгоритму щодо забезпечення якості при виробництві (фармацевтичній розробці) МВ	66
3.2 Підхід до розробки специфікації медичних виробів на основі оцінки ризиків безпеки та ефективності продукту	66
3.2. Валідація методики контролю якості кількісного вмісту натрію гіалуронату в імплантатах ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти	86

3.3 Валідація технологічного процесу виготовлення медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі зшитої гіалуронової кислоти	94
Висновки до розділу 3	110
<b>РОЗДІЛ 4 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ РЕЧОВИН ЩО ЕКСТРАГУЮТЬСЯ ТА РЕЧОВИН ЩО ВИМИВАЮТЬСЯ З ІМПЛАНТАТІВ ІН'ЄКЦІЙНИХ НА ОСНОВІ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ</b>	<b>113</b>
4.1. Дослідження речовин що екстрагуються	119
4.1.2 Дослідження напівлетких органічних сполук	122
4.1.3 Дослідження нелетких органічних сполук	125
4.1.4 Дослідження металів	133
4.2. Дослідження leachables	135
4.2.1. Дослідження летких речовин	135
4.2.2. Дослідження напівлетких органічних сполук.	136
4.2.3. Домішки металів	138
Висновки до розділу 4	139
<b>ВИСНОВКИ</b>	<b>141</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	<b>143</b>

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ВКМ – верхня контрольна межа;

ГК – гіалуронова кислота;

ГХ – газова хроматографія;

ДЕГФ – діетилгексилфталат;

ДСТУ – Державний Стандарт України;

ДФУ – Державна Фармакопея України;

ЄС – Європейський Союз;

ІЗП – індукційно-зв’язана плазма;;

ІХ – іонна хроматографія;

ЛЗ – лікарський засіб;

МВ – медичний виріб;

МС – мас-спектрометрія;

НКМ – нижня контрольна межа;

СП – специфікація;

США – Сполучені Штати Америки;

УФ – ультрафіолет;

AET - Analytical Evaluation Threshold;

BDDE - 1,4-бутандіол дигліцидиловий ефір;

DMC – диметилкабонат;

E&L – extractables and leachables;

EMA - European Medicines Agency;

FDA - Food and Drug Administration;

ICH - International Council for Harmonisation;

ISO - International Organization for Standardization;

MDD - Medical Devices Directive;

MDR - Medical Devices Regulation;

PDE - Permitted Daily Exposure;

RSD - Relative Standard Deviation.

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми досліджень.** З кожним днем світовий фармацевтичний ринок розвивається і зростає з величезною швидкістю. З тією самою швидкістю зростає актуальність питання про забезпечення людей якісними та безпечними лікарськими засобами, медичними виробами, реактивами та виробами *in vitro*.

Актуальність теми зумовлена стрімким зростанням застосування ін'єкційних імплантатів у медичній та естетичній практиці, посиленням регуляторних вимог до медичних виробів у Європейському Союзі та перспектив зміни вимог для ринку України зважаючи на євроінтеграцію, а також необхідністю науково обґрунтованого підходу до розробки, забезпечення їх безпечності, ефективності та стабільної якості протягом життєвого циклу.

Медичні вироби є невід'ємною частиною у наданні якісної медичної допомоги, проте проблеми їх стандартизації стають викликом, що перешкоджає безпеці та ефективності їх поширення та застосування як для ринку України, так і для світового фармацевтичного ринку. Основні аспекти цієї проблеми є неоднорідність формуляцій медичних виробів, високої специфічності типів небезпеки для пацієнтів і фахівців та, основне, обмежена узгодженість та неоднорідність стандартів, які описують вимоги до конкретних типів виробів медичного призначення та регулюють вимоги на окремих ринках самостійних країн або груп країн, тобто відсутність єдиної системи стандартизації. Для України важливим є вирішення цих питань в контексті процесу євроінтеграції для забезпечення високого рівня безпеки та якості даного типу продукції.

Спектр медичних виробів є дуже широким та різноманітним зважаючи на технології їх виготовлення, спосіб застосування, цільове призначення та, особливо, форму випуску: від звичайних текстильних пластирів до штучних органів, серцево-судинних стендів, наноматеріалів, попередньо наповнених шприців тощо. Одними з найбільш популярних та відомих представників медичних виробів на сьогодні є імплантати ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти. Внутрішньосуглобові та

підшкірні ін'єкції гіалуронової кислоти – сучасний та ефективний метод терапії, який використовують для лікування артрозу суглобів, пришвидшення відновлення пацієнтів під час реабілітаційного періоду після оперативних втручань, зменшення проявів старіння шкіри, контуризації обличчя тощо.

Незважаючи на достатній досвід виготовлення даних типів медичних виробів у світових виробників, кожен виробник медичних виробів зобов'язаний гарантувати безпеку, ефективність та якість свого продукту для можливості отримання дозволу на виведення свого продукту на бажаний ринок. Окрім того, для ринку України виготовлення даного типу медичних виробів є новим та перспективним напрямком. Одними з першочергових методів підтвердження вищезазначених показників ще на етапі проектування та розробки є валідація процесу виготовлення для підтвердження, що розроблений процес буде забезпечувати постійне та безперебійне виготовлення якісного продукту зі збереженням його визначених показників, контроль кількісного вмісту гіалуронової кислоти для підтвердження факту досягнення заявлених характеристик продукту, а також підтвердження безпечності його застосування.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету за темами «Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (номер державної реєстрації 0114U000949) та «Управління якістю у сфері розробки, виробництва та обігу лікарських засобів» (№ держ. реєстрації: 0114U000950).

**Мета і завдання дослідження.** Мета дисертаційної роботи – теоретичне обґрунтування та експериментальна імплементація підходів для забезпечення якості імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Провести аналіз та узагальнити дані інформаційних джерел щодо сучасного стану регуляторних вимог до медичних виробів, а також щодо досліджень препаратів з вмістом гіалуронової кислоти.

2. Розробити підхід до регулювання та класифікації медичних виробів в Україні згідно сучасних регуляторних вимог Європейського Союзу. Розробити дерева

рішень щодо критеріїв до визначення класу ризику медичних виробів та обґрунтувати загальну методологію дослідження.

3. Запропонувати узагальнений підхід до визначення показників якості та розробки специфікації медичних виробів на основі оцінки ризиків безпеки та ефективності продукту та імплементувати цей підхід для імплантату ін'єкційного на основі гіалуронової кислоти.

4. Обрати/розробити методику кількісного визначення гіалуронової кислоти та довести її прийнятність для визначення АФІ у імплантатах ін'єкційних шляхом валідації.

5. Визначити критерії та провести валідацію технологічного процесу виробництва лінійки імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти.

6. Провести експериментальне дослідження речовин, що екстрагуються з циліндрів та пробок, які використовуються в якості первинного пакування для медичних виробів імплантатів ін'єкційних.

7. Провести експериментальне дослідження речовин, що вимиваються з циліндрів та пробок, які використовуються в якості первинного пакування для медичних виробів імплантатів ін'єкційних, розчинами гіалуронової кислоти.

*Об'єкт дослідження:* Забезпечення якості та стандартизація медичних виробів.

*Предмет дослідження:* обґрунтування підходів щодо технологічного процесу, методів контролю якості та підтвердження безпечності медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти для досягнення гарантії їх безпеки при застосуванні.

**Методи дослідження.** Для вирішення поставлених у роботі цілей згідно з вимогами Державної Фармакопеї України та Ph.Eur. застосовувались наступні методи дослідження: ретроспективний, аналітичний, логічний – проведення аналізу літературної бази, нормативно-правової бази, фізико-хімічні методи досліджень. Кількісне визначення гіалуронату натрію в медичному виробі імплантат ін'єкційний було проведено методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій ділянці згідно монографії Ph.Eur. Потенціометрично визначали рН розчинів. Head-space газова хроматографія використовувалась для визначення летких речовин. Газова

хроматографія в поєднанні з мас-спектрометричним детектором (ГХ/МС) використовувалась для визначення напівлетких органічних сполук. Рідинна хроматографія в поєднанні з УФ- та мас-спектрометричними детекторами (ВЕРХ/УФ/МС) використовувалась для визначення нелетких органічних сполук. Мас-спектрометрія з індуктивно-зв'язаною плазмою (ІЗП/МС) використовувалась для визначення металів. Іонна хроматографія (ІХ) використана для перевірки наявності аніонів в екстрактах для дослідження речовин що екстрагуються. Обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою методів математичної статистики згідно Державної Фармакопеї України (ДФУ) з використанням підходу застосування принципу незначущості і нормалізації координат.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено комплексний ризик-орієнтований підхід до розробки та забезпечення якості і безпечності медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти. Розроблено підхід до створення та сформовано специфікацію якості виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти.

Уперше визначено критичні точки технологічного процесу виробництва імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти та проведено ретроспективну валідацію з використанням статистичного методу аналізу – побудови карт Шухарта.

**Практичне значення роботи.** В результаті проведених літературних та експериментальних досліджень створено алгоритм необхідних доопрацювань медичних виробів враховуючи оновлені вимоги регулятора Європейського Союзу. Дослідження проводились для медичного виробу найвищого III класу ризику, що забезпечує врахування найвищих вимог регулювання. Проведено валідацію визначення основного компонента гіалуронату натрію в складі готового продукту. Експериментально визначено параметри безпеки для імплантатів ін'єкційних з гіалуроновою кислотою – речовини, що екстрагуються та речовини, що витягуються, відповідно до регуляторних вимог.

Для проходження європейської сертифікації згідно оновлених регуляторних вимог вперше було проведено валідацію технологічного процесу виготовлення

медичного виробу імплантату ін'єкційного на ТОВ «Юрія-фарм», м. Черкаси (акт впровадження 14.05.2025). Сертифікацію було пройдено успішно з урахуванням напрацьованих даних для включення в реєстраційне Досьє.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр вищих навчальних закладів України: фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії ДНП «Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького» (акт впровадження 12.03.2025), фармацевтичної хімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (акт впровадження 24.01.2024).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійно завершеною науковою працею. Дисертантом особисто проведено та узагальнено літературний пошук за темою дисертації. Дисертантом разом з науковим керівником визначено мету та задачі досліджень.

Безпосередньо авторкою здійснено:

- Аналіз регуляторних вимог
- Формування алгоритмів
- вивчення фізико-хімічних властивостей основного компоненту, критичних показників якості, які важливі для імплантатів ін'єкційних;
- розробка і стандартизація методології проведення оцінки ризиків для медичних виробів на прикладі імплантатів ін'єкційних;
- підготовка проекту специфікації (СП) готового продукту;
- розробка підходу до валідації технологічного процесу з використанням діаграмі Ісікави та карт Шухарта;
- розробка алгоритму проведення досліджень речовин що вимиваються та речовин що екстрагуються;
- узагальнення отриманих даних;
- науковий аналіз та систематизація отриманих результатів.

Аналітичні дослідження здійснювалися на базі лабораторії ТОВ «Юрія-фарм» під керівництвом директора з досліджень та розробки Литвиненко Н.В.

Випробування extractables та leachables проводилися згідно з протоколами STULV21AA1943-1 та STULV21AA1951-1.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантці належить фактичний матеріал та основний творчий доробок. Співавтором наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. Постановка мети і завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником. Співавтори наукових праць не захищали дисертацій, які пов'язані з темою цієї дисертаційної роботи.

**Апробація матеріалів дисертації.** Основний зміст дисертаційної роботи викладено на: XXVIII міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (Харків, 2021р.), *II Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти створення лікарських засобів»* (Харків, 2022 р.), *Міжнародній internet-конференція Modern chemistry of medicines* (Харків, 2023 р.), *Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations* (Kaunas, 2024 р.), Міжнародній Internet-конференції «Modern chemistry of medicines», до 85-річчя з дня народження професора Петра Овксентійовича Безуглого (Харків, 2024 р.) та Міжнародній internet-конференція *Modern chemistry of medicines* (Харків, 2025 р.)

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 162 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 118 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 22 таблицями, 54 рисунками. Список використаних джерел містить 135 найменувань, з них 7 кирилицею та 128 латиницею.

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНІ ВИМОГИ ДО ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ МЕДИЧНИХ ВИРОБІВ. (Огляд літератури)

#### 1.1 Поняття «медичні вироби». Їх застосування та поширення

Поняття «медичний виріб» є широким у своєму трактуванні і розповсюджується як на прості звичні речі такі як, медичні рукавички, так і на складне комп'ютерне обладнання для лабораторної медичної діагностики, а також, на хірургічні та терапевтичні медичні вироби.

Визначення поняття «медичний виріб» (МВ) походить від англ. «medical device» та включає в себе будь-який апарат, пристрій, інструмент, програмне забезпечення, матеріал або інший виріб, який застосовується як окремо, так і в поєднанні з іншими медичними виробами за призначенням визначеним виробником даного медичного виробу [**Error! Reference source not found.**]. За визначенням Національного Інституту біомедичної візуалізації та біоінженерії Сполучених Штатів Америки МВ – це технології, які взаємодіють з організмом людини для покращення здоров'я пацієнта. Ці технології можуть контролювати, модулювати та доповнювати функції або анатомічні структури організму. МВ можуть працювати всередині тіла, як-от імплантовані кардіостимулятори, або поза тілом, як-от переносні датчики.

У більшості випадків метою застосування МВ є забезпечення діагностики, профілактики, моніторингу, лікування та/або полегшення перебігу хвороби пацієнта, дослідження, заміни, видозмінювання або підтримування анатомії чи фізіологічного процесу, контролю процесу запліднення тощо [**Error! Reference source not found.**]. Ключовою відмінністю медичних виробів від лікарських засобів є те, що основна передбачувана дія медичних виробів в організмі або на організм людини не досягається за допомогою фармакологічної, імунологічної або метаболічної дії, але медичні вироби покликані сприяти нормальному функціонуванню організму людини [3]. Механізм дії медичних виробів завжди є фізичним без будь якого фармакокінетичного та фармакодинамічного ефекту, що, власне, і є їх основною

відмінністю від лікарських засобів. За останню чверть століття відбулося прискорення розробки нових медичних виробів, що обумовлено швидким розширенням наукових та інженерних знань.

Головною метою сучасних медичних виробів є досягнення високого рівня здоров'я пацієнтів та безпеки осіб, які їх застосовують, а також відповідність світовим вимогам, зазначеним у регламентуючих документах, що спрямовані на забезпечення постійного та безперебійного функціонування світового фармацевтичного ринку. Здебільшого якість, безпека та ефективність фармацевтичної продукції закладаються та досягаються ще на етапі їх розробки. Для правильного виробництва медичних виробів повинні бути визначені контрольні точки виробництва, процеси та характеристики продукту, які підлягають найретельнішому детальному нагляду [4]. Саме тому, необхідно напрацювати заздалегідь визначений підхід та стратегію щодо розробки МВ перед будь-яким дослідженням та затвердженням концепції нових фармацевтичних елементів.

Як зауважує американський дослідник Спілкер, з точки зору дизайну, способу використання та призначення МВ є набагато більш різномірною групою продуктів, ніж ліки; багато виробів ніколи не контактують з пацієнтами, деякі контактують короткочасно, а інші – постійно [5]. Відповідно, дизайн та об'єм досліджень на етапі розробки буде також надзвичайно різноманітним залежно від типу бажаного продукту, який необхідно отримати по факту завершення досліджень.

На сьогодні існує понад 1700 різних типів медичних виробів і біля 50 000 окремих продуктів [6]. Очевидно, що дослідження, необхідні для проектування та розробки одноразових голок, дуже відрізняються від досліджень для проектування та розробки сканера для проведення комп'ютерної томографії. Так само існує велике різноманіття науковців, винаходи яких спрямовані на розробку саме медичних виробів, аніж лікарських засобів. Дана галузь промисловості характеризувалася на початку свого становлення великою кількістю дрібних виробництв. Біля 50 % виробників медичних виробів в США мали у своєму штаті менше 20 співробітників, однак великі компанії домінували за рахунок об'єму продажів [7]. За словами Робертса, невеликі виробництва МВ і навіть окремі особи створювали переважну

більшість інновацій на ранніх стадіях розробки нового типу медичних виробів, тоді як більш великі фірми відіграли свою важливу роль пізніше в процесі їх масштабування.

Отже, поняття «медичний виріб» — доволі гнучке і широке, включає фізичні вироби, ПЗ, матеріали, які застосовуються для медичної мети без фармакологічної дії. Власне, саме поняття як термін закріпилось в законодавстві Сполучених Штатів Америки та країн Європейського Союзу (ЄС) ще в 1980-х роках. В той же час почали з'являтися перші регуляторні вимоги до такого типу продукції.

## 1.2 Регулювання обігу та вимоги до забезпечення якості медичних виробів в Україні та в світі

Наукові дослідження щодо впровадження і поширення медичних виробів продемонстрували, що без належного управління їх попитом, моніторингу виробництва та контролю якості готової продукції раціональне використання та якість надання медичних послуг з використанням МВ стають все більш ускладненими. Зазначене обумовлено щоденним зростанням і розвитком світового фармацевтичного ринку у світі [8]. Не виключенням є і Україна, де питання забезпечення людей якісними та безпечними ліками, медичними виробами, реагентами та пристроями *in vitro* також зростає, на що держава реагує відповідними регламентуючими документами [9, **Error! Reference source not found.**].

Перші стандарти для медичних виробів почали з'являтися у 1990-х роках, коли зросла потреба у міжнародній гармонізації вимог до якості та безпеки медичних виробів. Стандартизація відбувалась на рівні добровільних нормативних документів Міжнародної Організації Стандартизації / International Organization for Standardization (ISO).

Для стандартизації МВ ключовими та першими у своєму застосуванні були наступні ISO:

1. ISO 9001 Системи управління якістю [10], який було вперше введено в дію в 1987 році. Даний стандарт не є специфічним до медичних виробів, проте описує

загальні вимоги до системи якості виробництва і використовувався як обов'язковий стандарт для сертифікації до появи більш вузькопрофільних стандартів;

2. ISO 10993 Біологічне оцінювання медичних виробів [11] – це серія стандартів якості, направлених на контроль біосумісності МВ, перше введення в дію яких відбулось в 1992 році;

3. ISO 13485 Система управління якістю [12] – це перший спеціалізований стандарт системи управління якістю саме для виробників медичних виробів, перше введення в дію якого відбулось в 1996 році. Його розробка відбувалась на основі принципів ISO 9001 з урахуванням специфіки виробництва та застосування саме МВ. Основними відмінностями порівняно з материнським стандартом стало ведення технічної документації з моменту початку розробки продукту, а також контроль МВ після випуску на ринок.

4. ISO 14971 [13] Медичні вироби — Застосування менеджменту ризиків до медичних виробів, що ввів формалізований підхід до процесу управління ризиками для медичних виробів — від ідентифікації небезпек до контролю та моніторингу починаючи з старту проєктування та розробки та завершуючи останнім етапом життєвого циклу, а саме утилізацією. Перша публікація стандарту відбувалась в 2000 р.

Загалом, не дивлячись на розвиток ISO в напрямку МВ, до 1990-х років у країнах Європи не існувало єдиного стандартизованого законодавства для медичних виробів. Кожна держава-член ЄС мала свої власні правила, а ISO являлися не обов'язковими до впровадження та дотримання. Зважаючи на це, відсутність єдиного регулювання спровокувала ряд складнощів, а саме:

- вимоги до безпеки та якості відрізнялися в різних країнах в критичних сферах;
- для отримання можливості продавати свою продукцію в кількох країнах ЄС виробники були зобов'язані проходити багаторазові національні процедури;
- наявність національних вимог під країну уповільнювало впровадження інновацій, створювало бар'єри для внутрішнього ринку Європи;

- відсутній єдиний механізм управління безпекою та якістю медичних виробів, що являлось найбільш критичним чинником.

В результаті розвитку технологій, появи нових видів медичних виробів та розвитку наявних, багаторазових інцидентів з дефектами та безпекою медичних виробів, що викликали суспільний резонанс. Окрім того ЄС у 1980–1990-х знаходився в процесі побудови «єдиного внутрішнього ринку», що вимагало наявності гармонізованих технічних регламентів в багатьох сферах. Тож МВ потрапили під цю стратегію зважаючи на швидко зростаючий сектор з критично важливим впливом на здоров'я людей.

Таким чином 14 червня 1993 року вступила в дію Council Directive 93/42/EEC on Medical Devices (надалі MDD) [14] – директива, основною метою якої стало досягнення високого рівня безпеки та ефективності медичних виробів, створення єдиного ринку ЄС для МВ шляхом маркування знаком Європейської відповідності (далі по тексту CE, як скорочення від оригінальної назви Conformance Européenne франц.) продукції для її вільного поширення країнами Європи, а також з часом розвиток процедури визнання для ЄС-орієнтованих країн. Одним з принципово нових підходів стало впровадження класифікації МВ залежно від класу ризику: I, IIa, IIb, III.

Щодо фармацевтичного ринку України, до 2010-х в Україні не існувало окремого регулювання для медичних виробів як і в Європі до 1993 р. Регулювання було фрагментарним і в основному базувалося на державній реєстрації МВ в МОЗ, санітарно-епідеміологічних вимогах, а також Державних Стандартах України (часто радянського походження). Проте окрім внутрішніх факторів, аналогічних до європейських, причинами для створення специфічного регулювання для МВ в Україні стали також і певні зовнішні чинники. 2005–2013 рр. Україна бере курс на євроінтеграцію, де однією з умов була гармонізація технічних регламентів із директивами ЄС. Таким чином 2 жовтня 2013 року Кабінет Міністрів ухвалює Постанову № 753 “Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів” [15], основою якої стала MDD [14].

В цьому контексті варто також зазначити, що через ряд технічних, політичних та суспільних факторів в Європі було ініційовано процедуру перегляду регуляторних

вимог щодо медичних виробів починаючи з 2000-х років. Одним з ключових тригерів стало використання французькою компанією Poly Implant Prothèse промислового силікону у грудних імплантах, що призвело до тисяч випадків розривів та запалення тканин тіла пацієнтів, а також застарілий підхід до класифікації медичних виробів зважаючи на їх стрімкий розвиток, прогалини в системі пост-маркетингу, слабкі вимоги до клінічних даних та непрозорість для пацієнтів та лікарів. Відповідно, 2017 року Європейською Комісією було ухвалено Regulation (EU) 2017/745 [16] (MDR), який замінив MDD [14].

Основні причини переходу від MDD [14] до MDR [16] наведені нижче [17,18]:

I. Підвищення рівня безпеки: в період дії MDD [14] було зафіксовано ряд випадків, коли регуляція не визначала ряд продукції як медичні вироби, що допустило знехтування виробником вимогами до таких продуктів, які мали б підпадати під регуляцію МВ. Окрім того Регламент встановлює більш жорсткі вимоги до клінічної оцінки та необхідності проведення власних клінічних досліджень для МВ III класу ризику.

II. Зростання рівня інновацій та технологій в світі: за останні роки медицина та технології стрімко розвивались, з'являлись нові типи медичних виробів, які необхідно описати та стандартизувати та які не підпадали під вимоги MDD [14].

III. Підвищення рівня нагляду та контролю за МВ на ринку: MDR [16] описує жорсткіші вимоги до системи пост-маркетингового нагляду, тобто до контролю виробником та повідомлення органу з оцінки відповідності про небажані ефекти, побічні реакції, що дає змогу швидше виявляти та реагувати на такі інциденти.

III. Збільшення вимог до процесу виробництва: у порівнянні з MDD [14], MDR [16] вимагає від виробників медичних виробів III класу ризику обов'язкове проведення валідації технологічного процесу для підтвердження відтворюваності та стандартизації виготовлення якісного кінцевого продукту.

IV. Гармонізація та узгодження діючих стандартів: при формуванні Регламенту були враховані всі діючі стандарти щодо медичних виробів на території Європейського Союзу, а також враховані міжнародні сучасні вимоги.

V. Підвищення рівня значущості ризик-орієнтованого підходу: MDR [16] акцентує увагу на оцінці та управлінні ризиками щодо медичних виробів впродовж всього їх життєвого циклу.

Відповідно, дані питання є актуальними і для України. У майбутньому Україна планує оновлення Постанови № 753 “Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів” для її гармонізації з MDR [16], адже станом на сьогодні діючі регуляторні вимоги базуються на старій директиві MDD [14].

Важливо зазначити, що впровадження MDR [16] як для європейських виробників, так і для виробників, які планують виведення або підтримку своєї продукції на ринку Європи стало значним викликом, порівняно з попередніми вимогами MDD [14]. Причиною є те, що регламент не просто оновив вимоги до МВ, а повністю змінив філософію регулювання медичних виробів у ЄС.

Зважаючи на це, з впевненістю можна сказати, що як сам процес оновлення Постанови № 753 “Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів”, так і приведення у відповідність своєї продукції українськими виробниками стане надзвичайно великим викликом. Проте для виробників, хто вже матиме досвід сертифікації МВ за вимогами MDR [16], ця задача буде однозначно простіша.

Станом на сьогодні відсутність євро-орієнтованих норм і правил призводить до складнощів для українських виробників МВ у взаємодії між різними ринками та розширення своєї географії. Така неоднорідність виражається у відсутності стандартів, які б описували вимоги до багатьох вузькоспецифічних МВ та недостатньо швидкому реагуванні на зміни в регуляторних вимогах Європейського Союзу (ЄС). Вирішення даного питання може бути у формуванні гармонізованих міжнародних стандартів ISO та оновленню монографій Державної Фармакопеї України щодо ряду найбільш застосовуваних медичних виробів.

Якісний медичний виріб — це фармацевтичний продукт, який відповідає визначеним застосовуваним стандартам безпеки та ефективності за умов його використання за призначенням. Поняття якості медичного виробу включає в себе дотримання ряду аспектів [19,20,21]:

1. **Безпека:** за умов використання виробу згідно медичної інструкції він не повинен завдавати шкоди пацієнту, яка не перевищує ризик його не використання. Відповідно, продукт має бути виготовленим з матеріалів, речовин та в таких умовах, які не передбачають прояву у пацієнта непередбачених ускладнень та побічних реакцій.

2. **Ефективність:** медичний виріб повинен забезпечувати безперебійне виконання своїх функцій впродовж його використання за призначенням.

3. **Надійність:** ефективне використання медичного виробу повинно бути забезпеченими впродовж усього його терміну придатності або терміну експлуатації залежно від типу виробу.

4. **Якість виготовлення:** процес виготовлення медичного виробу на виробництві має відповідати вимогам якості. Процес виготовлення повинен бути валідованим та стандартизованим.

5. **Регуляторні вимоги:** медичний виріб повинен відповідати регуляторним вимогам ринків присутності та перспективних ринків збуту для можливості його реєстрації та реалізації. Для підтвердження відповідності цим вимогам в більшості країн необхідною є процедура сертифікації, яка включає в себе аудит виробничої площадки.

6. **Інструкції з використання:** медичний виріб повинен супроводжуватись чітким описом методу використання з вказанням засобів застереження та можливих побічних реакцій де це застосовано. Зазвичай така інформація надається в інструкції з використання або на упаковці.

Досягнення та забезпечення всіх описаних вище пунктів дає можливість виробнику гарантувати якість медичного виробу, який він випускає в обіг. Проте регуляторні вимоги щодо МВ мають свою специфіку на окремих ринках, що певною мірою зменшує можливість їх стандартизації тим самим перешкоджаючи безпеці та ефективності їх поширення та застосування як для ринку України, так і для світового фармацевтичного ринку. Для України важливим є вирішення цих питань в контексті процесу євроінтеграції для забезпечення високого рівня безпеки та якості даного типу продукції.

Не дивлячись на те, що регуляторні вимоги України не вимагають проведення валідації технологічного процесу медичних виробів станом на зараз, для виробників, які планують виведення своїх продуктів на ринки Європейського Союзу, Сполучених Штатів Америки та ряду інших країн, і адаптують свої нормативні документи до вимог MDR [16] або Food and Drug Administration (FDA) [4] валідація технологічного процесу є обов'язковою.

Валідація технологічного процесу визначається як збір і оцінка даних, починаючи від етапу проектування та розробки медичного виробу і закінчуючи налагодженням безперебійного комерційного виробництва, з метою встановлення того, що процес здатний постійно виробляти якісний продукт [22]. Підготовку до валідації можна розділити на три основні етапи.

- Етап 1 – Проектування та розробки процесу виготовлення продукту: визначення технологічного маршруту з урахуванням характеристик, яким має відповідати кінцевий продукт та технічних можливостей відповідного виробництва.

- Етап 2 – Атестація процесу: тестування процесу (виготовлення лабораторних зразків) для перевірки можливості реалізації процесу та випуску продукту в виробничих масштабах. На даному етапі на основі отриманих знань та результатів тестування формується план та протокол валідації.

- Етап 3 – Безпосередня валідація технологічного процесу в промислових масштабах: проведення визначеного об'єму досліджень та впевненість у спроможності процесу забезпечити випуск якісного продукту у промислових масштабах.

При плануванні валідації гарною практикою є формування валідаційних груп, які складаються зі спеціалістів різних напрямків. У першу чергу технологи, які відповідають за хід процесу виробництва, його правильність та результат. Окрім технологів до валідації слід залучити також спеціалістів сфери управління якістю та регуляторними вимогами, клінічних експертів, спеціалістів лабораторії та відділів планування продажів, тощо. Усі експерти валідаційної групи залучаються до формування плану валідації, який визначає ті процеси, які підлягають валідації, містить графік валідації, описані взаємозв'язки між процесами, що вимагають

валідації, параметри контролю, які є критичними точками технологічного процесу і час повторної валідації (ревалідації). Лише після формування плану, чіткого встановлення параметрів валідації, мети та обсягу робіт можна розпочинати розробку протоколу [23,24].

### 1.3 Імпланти ін'єкційні

#### 1.3.1 Імпланти ін'єкційні: історія, визначення та призначення

Як вже було зазначено вище, спектр медичних виробів є дуже широким та різноманітним зважаючи на технології їх виготовлення, спосіб застосування, цільове призначення та, особливо, форму випуску: від звичайних текстильних пластирів до штучних органів, серцево-судинних стендів, наноматеріалів, попередньо наповнених шприців тощо.

Імпланти ін'єкційні - це медичні вироби, які вводяться у певні шари тканини тіла людини для відновлення об'єму, контурів, зволоження тощо. Ще в 1899 р. Роберт Герсуні ввів мінеральну олію (вазелін) для корекції відсутності яєчка у пацієнта, кастрованого через туберкульозний епідидиміт [25]. Безпосередній успіх операції спонукав його використовувати вазелін як наповнювач для дефектів м'яких тканин. Принцип методики полягав у введенні продукту, який стає напіврідким при нагріванні, але твердне при охолодженні. Окрім того важливо, що такий матеріал залишається стабільним та інертним в організмі людини. Фактично це був перший імплантат ін'єкційний в історії медицини. Методика викликала ентузіазм. Її використовували для лікування гриж та у косметичних цілях: заповнення зморшок на обличчі, збільшення різних частин тіла та корекція дефектів. Хоча повідомлялося про серйозні ускладнення, така методика залишалася популярною протягом першої половини 20-го століття [25].

Все ж, враховуючи наявність ускладнень, тривав пошук інших речовин для проведення аналогічних ін'єкцій. Наприклад, в 1950-х популярними були ін'єкції силікону, від яких також згодом відмовились враховуючи серйозні ускладнення,

через що навіть FDA [4] попереджає щодо небезпеки введення силікону в тіло людини літ.

Незважаючи на відносно позитивний досвід застосування перших філерів з інформацією щодо можливих негативних наслідків, попит на дермальні ін'єкції все одно зростає. 1981 р. було схвалено FDA перший матеріал для ін'єкцій у шрами, борозни та зморшки на обличчі - бичачий колаген (95% колагену I типу та 5% колагену III типу) [26].

У 1934 році Карл Мейер та Джон Палмер заявили про незвичайний полісахарид з надзвичайно високою молекулярною масою, виділений зі склоподібного тіла очей великої рогатої худоби. За короткий період між 1948 і 1951 роками кілька хіміків розпочали дослідження для з'ясування структури цього полісахариду - гіалуронової кислоти. Протягом другої половини двадцятого століття гіалуронова кислота (ГК) була виявлена в різних тканинах і рідинах хребетних тварин, а також людей. Також було виявлено, що вона має клінічне застосування [27]. Це стало поштовхом для використання гіалуронової кислоти в якості основного компонента для імплантатів ін'єкційних.

Однією з основних практичних переваг філерів на основі гіалуронової кислоти є можливість їх розчинення шляхом ін'єкційного введення в місце локалізації філера гіалуронідазою у випадку появи ускладнень або надлишкового об'єму що дає можливість швидкого та ефективного шляху «видалення» імплантату з організму [28]. Вже 1996 року в Європі було схвалено перший філер на основі гіалуронової кислоти [29].

### 1.3.2 Гіалуронова кислота як основний компонент імплантатів ін'єкційних

На сьогодні одними з найбільш популярних та відомих представників медичних виробів є імплантати ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти. Внутрішньосуглобові та підшкірні ін'єкції гіалуронової кислоти – сучасний та ефективний метод терапії, який використовують для лікування артрозу суглобів, пришвидшення відновлення

пацієнтів під час реабілітаційного періоду після оперативних втручань, зменшення проявів старіння шкіри, контуризації обличчя тощо.

Гіалуронова кислота є природним полісахаридом з повторюваною дисахаридною одиницею, що складається з D-глюкуронової кислоти і N-ацетил-D-глюкозаміну (GlcNAc), з'єднаних глікозидними зв'язками (рис. 1.1) [30]. Гіалуронова кислота була вперше виділена зі склоподібного тіла ока великої рогатої худоби Карлом Мейером та Джоном Палмером ще в 1934 році. Їм вдалось ідентифікувати високомолекулярний біополісахарид, який містив уронову кислоту. Тому вони запропонували назву «гіалуронова кислота», об'єднавши слова гіалоїд (склоподібне тіло) і, власне, уронова кислота [31].

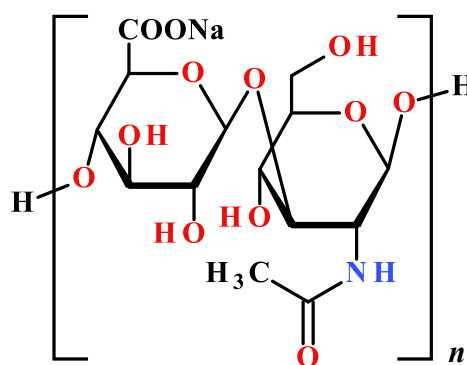


Рис 1.1 Структура гіалуронової кислоти

Цей полісахарид фактично являє собою не кислоту, а гіалуронову сіль з катіоном натрію (гіалуронат натрію) (Рис 1.1). У 1986 році для цієї речовини був запропонований термін «гіалуронан» за сучасною номенклатурою. З розвитком науки та технологій дана сполука отримувала різні назви (Таблиця 1.1) відповідно до сфери її застосування [31].

Гіалуронова кислота наявна у всіх хребетних тварин, вона забезпечує функціональність суглобів, а саме їх еластичність за рахунок ефекту змащування та відсутності неправильного тертя, а також приймає участь у гідратації тканин, адгезії та диференціюванні клітин сполучних тканин.

## Варіації назв гіалуронової кислоти в літературі

Назва	Сфера застосування	Частота вживання, %
Гіалуронова кислота	Медицина	60
Na-гіалуронат (гіалуронат натрію)	Фармація	10
Гіалуронан	Наукова сфера	30
Натрій гіалурон	Деякі фармакопеї	Дуже рідко

На сьогодні отримання гіалуронової кислоти можливе в два способи [32,33]:

- фізико-хімічний спосіб шляхом вилучення з тканин ссавців, тварин, птахів та навіть пуповини новонароджених дітей;
- мікробний спосіб на основі бактерій, культивованих в живильному середовищі.

Перший є доволі дорогим і часозатратним через необхідність ретельного очищення отриманого продукту від комплексів білків, інших полісахаридів та домішок тваринного походження. Другий спосіб є більш економічним і передбачає використання бактерії *Pasteurella multocida* або бактерій роду *Streptococcus* [34,35]. Зараз найбільшого поширення набув метод отримання гіалуронової кислоти у промислових масштабах саме з використанням бактерій *Streptococcus zooepidemicus*, які синтезують гіалуронову кислоту як позаклітинну капсулу [36]. Зважаючи на широке застосування даного методу існує також багато способів оптимізації процесу синтезу за рахунок компонентів середовища для збільшення виходу гіалуронової кислоти: шляхом двоетапної оптимізації [37], покращення процесу бродіння [38], додавання лізоциму [39], додавання перекису водню та аскорбату [40] і зміни складу живильного середовища [41].

Синтезована гіалуронова кислота за хімічною структурою практично ідентична природній гіалуроновій кислоті, яка міститься в організмі людини. Зважаючи на це, як вже зазначалось вище, її використання стало поширеним в багатьох сферах медицини: ортопедії [42,43,44] (відновлення рухливості суглобів), косметології [45]

(зволоження тканин, збільшення об'ємів губ, контурна пластика), дерматологія [46,47] (лікування опіків, посттромботичних трофічних порушень шкіри), офтальмології [48,49] (пересадка рогівки, лікування катаракти, глаукоми), тощо.

Ключем до тривалості дії імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти стало хімічне зшивання. Ретикульована («зшита» або стабілізована) гіалуронова кислота є найбільш використовуваною варіацією гіалуронової кислоти в медицині насамперед через свою підвищену стійкість до дії гіалуронідази. Відповідно, зшита кислота сьогодні є лідером рішень в напрямку виготовлення імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти пролонгованої дії.

Гелі на основі зшитої гіалуронової кислоти відрізняються процесом зшивання (стабілізації) та, перш за все, зшиваючим агентом. На сьогодні на ринку існують імплантати ін'єкційні, для зшивання яких використовуються два різні зшиваючі агенти: 1,4-бутандіол дигліцидиловий ефір (BDDE) [50,51] та дивінілсульфон [52]. Обидва агенти працюють за одним принципом: реагують на гідроксильні групи в ланцюгах гіалуронової кислоти. За рахунок процесу зшивання сповільнюється процес деградації імплантату в тканинах шкіри і, відповідно, досягається пролонгація дії медичного виробу. У процесі синтезу імплантатів, які підлягають дослідженню в даній роботі, в якості зшиваючого агенту використовується саме BDDE.

BDDE біологічно розкладається, має незначну токсичність порівняно з іншими відомими зшиваючими агентами, тому він безпечніший для біомедичного застосування, що є безумовною перевагою для виготовлення медичних виробів, що імплантуються [50].

Зшивання ланцюгів молекул гіалуронової кислоти досягається за рахунок утворення етерних зав'язків молекул ГК та BDDE як представлено на Рис 1.2 [53]. Цей синтез відбувається виключно в лужному середовищі. BDDE під час реакції реагує з гідроксилом гідроксиметильної групи  $-\text{CH}_2\text{OH}$  гіалуронової кислоти з утворенням зшитих ланцюгів (гідрогелю).

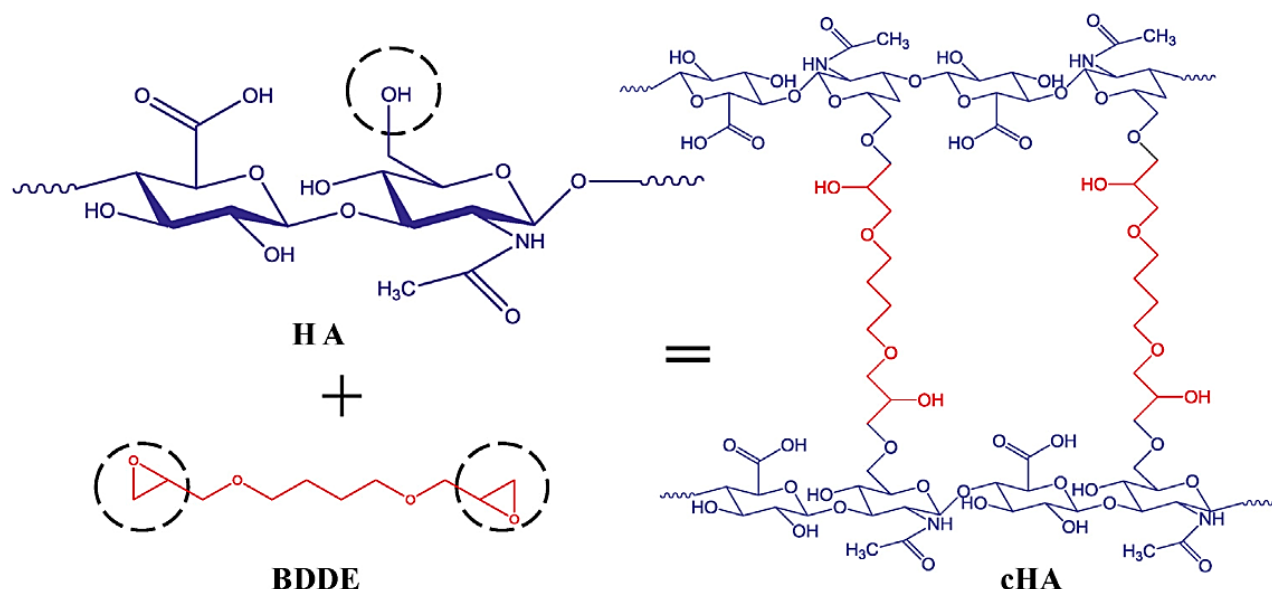


Рис 1.2 Процес отримання зшитої ГК за рахунок зшивання ланцюгів молекул ГК з використанням BDDE [53]

У процесі синтезу є ряд ключових факторів, які впливатимуть на ступінь модифікації гідрогелю, його в'язкість, реологічні властивості, що в результаті дає можливість застосування продукту у різних медичних сферах: контурна пластика обличчя, заповнення зморшок, введення в колінний суглоб для заміни синовіальної рідини тощо. Виходячи з цього, надзвичайно важливим є контроль і валідація технологічного процесу для забезпечення досягнення повторюваних та очікуваних фізико-хімічних характеристик кінцевого гелю імплантату.

1.4 Extractables та Leachables як ключові параметри визначення якості та безпеки лікарських засобів та медичних виробів

Однією з найбільш значущих та критичних проблем у світі є забруднення навколишнього середовища пластиком, що викликає занепокоєння через шкідливий вплив на дику природу та на людину безпосередньо [54]. Для прикладу, фталати – це хімічні речовини, що широко використовуються в промисловості, і наслідки для здоров'я людини, спричинені впливом цих речовин, є предметом значного інтересу на даний момент. Токсичний вплив фталати мають першочергово на репродуктивну та дихальну системи, проте вони також можуть мати канцерогенний вплив та навіть

впливати на розлади аутистичного спектру [55]. Забруднення пластиком вивчено не на достатньому рівні, особливо говорячи про врахування всіх джерел міграції. Дане твердження стосується в першу чергу мікропластику, а саме міграція мікрокілківостей речовин з пакування в їжу, лікарські засоби, медичні вироби, які надалі потрапляють в організм людини.

Дослідження речовин що екстрагуються, тобто *extractables*, та речовин що вимиваються, тобто *leachables*, (E&L) є критично важливим дослідженням в сфері фармацевтичної промисловості, а саме для доказу безпечності, якості та біосумісності лікарських засобів та медичних виробів, особливо ін'єкційних, імплантованих або тих, що контактують з організмом тривалий час.

Проблематика E&L сформувалася в промисловості не одразу. Її розвиток пов'язаний із еволюцією упаковки, технологій виробництва та зростаючими вимогами до безпечності лікарських засобів і медичних виробів.

На початкових етапах фармацевтичне виробництво використовувало скляні та металеві контейнери [56], де, не зважаючи на інші фактори, ризик міграції домішок був мінімальним. Проте з часом розвитку індустрії поява полімерних матеріалів для упаковки та компонентів обладнання привела до випадків міграції сторонніх речовин. У 1970-х зростало усвідомлення, що пакувальні компоненти можуть змінювати властивості лікарських форм в результаті міграції сторонніх речовин [57]. Зважаючи на це, з'явилися перші підходи до контролю, а саме органолептичні [58]. Користуючись знаннями сьогодення очевидно, що такі методи мають ряд обмежень. Первинна упаковка є одним із найкритичніших компонентів цього процесу, оскільки вона значною мірою впливає на можливість візуального контролю продукту і, звичайно, повинна бути прозорою. Більше того, основним обмеженням є те, що органолептичні методи являються не специфічними, не чутливими та не точними.

В 1980-х зросла кількість ін'єкційних препаратів та парентеральної терапії, що посилює вимоги до чистоти продукту, враховуючи спосіб їх застосування. Регулятори США та Європейського Союзу почали включати питання сумісності упаковки та фармацевтичного продукту в регуляторні та нормативні документи. З'являються перші поняття *extractables* — сполуки, які можуть бути вилучені при екстремальних

умовах, але ще не обов'язково переходять у продукт. Таким чином регулятори почали вводити вимоги до сумісності упаковки, що свідчить про початок усвідомлення ризику можливої міграції речовин з пакування та їх передбачувану шкоду.

Поява високочутливих аналітичних інструментів таких як газова та рідинна хроматографії з мас-спектрометрією дозволила вперше кількісно та якісно визначати навіть слідові кількості домішок у матеріалах для медичного призначення та первинної упаковки. Це стало важливим кроком у розвитку досліджень extractables та leachables [59].

Окрім того наукові дослідження і досягнення 1990-х років мали вплив не лише на розвиток науки, а і на регулятора в сфері фармації. Так в 1999 р. FDA вперше публікує рекомендації щодо оцінки упаковки, а саме вимоги до опису матеріалів пакування та оцінки сумісності матеріалів упаковки із фармацевтичними препаратами [60]. На початку 2000-х в Європі також починає формуватися регулювання речовин, що вимиваються (leachables). Так European Medicines Agency (EMA) [61] в 2005 р. публікує вимоги до пластикових матеріалів, які використовуються для первинної упаковки лікарських засобів, а саме вимагає надавати дані про склад матеріалу, добавки, які використовуються у виробництві упаковки, а також результати екстракційних і міграційних досліджень. В цьому ж керівництві з'являється чітке визначення поняття leachables та опис умов проведення дослідження. Вперше з'являється роз'яснення щодо речовин, які можуть переходити з упаковки або компонентів системи введення продукту в умовах їх нормального використання [62].

У наукових статтях та оглядах з'являються чіткі розмежування понять extractables та leachables [63,664].

Extractables – це речовини, що мігрують в фармацевтичний продукт з його первинного пакування в експериментальних стресових умовах моделюючи найгірший випадок його використання (наприклад, кисле або лужне середовище, висока температура зберігання, тривалий час зберігання тощо).

Leachables – це речовини, що мігрують в продукт в реальних умовах його використання або зберігання в заявлених виробником умовах в заявлений термін зберігання.

Настанови Міжнародної ради з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських засобів для медичного застосування (ICH), які стосуються контролю домішок у фармацевтичних препаратах ICH Q3C [65] та Q3D [66] опублікували токсикологічну значимість потенційних домішок, що стало підґрунтям для сучасних методологій оцінки результатів досліджень extractables та leachables.

Розвиток рівня наукових досліджень та регулятора сприяє розвитку стандартизації методів проведення досліджень міграції, екстракції та вилуговування.

Для багатьох медичних виробів дана тема мала значний розвиток та досягла високого рівня результативності в меті підвищення якості та безпечності застосування МВ пацієнтом. Так було проведено ряд досліджень наявності діетилгексилфталату (ДЕГФ) у наборах для діалізу та інфузій для перитонеального діалізу та парентерального харчування, виготовлених з полівінілхлориду (далі по тексту ПВХ) та інших пластикових полімерних матеріалів. Дослідження для визначення фталатів в більшості проводяться методом газової хроматографії-мас-спектрометрії. Результати досліджень показали, що набір для перитонеального діалізу, виготовлений з ПВХ, містить ДЕГФ у значній кількості. Отримані значення є нижчими за верхню допустиму межу дози ДЕГФ, яку отримують пацієнти, що проходять процедури перитонеального діалізу та парентерального харчування [67]. При потраплянні в організм ДЕГФ переважно при пероральному живленні метаболізується з утворенням токсичних речовин, що може призводити до гострих і хронічних пошкоджень нирок, печінки, нервової системи, включно з нефротоксичністю, нейротоксичністю, метаболічним ацидозом, поліурією [68, 69].

Результати деяких досліджень ілюструють, що пластики можуть бути джерелом також і металевої контамінації продукту [70]. Дана група речовин здебільшого визначається за допомогою індуктивно-зв'язаної плазми методом розкладання. Пакувальні матеріали, харчові продукти та фармацевтичні продукти оцінюються на

вміст вилуговуваних металів шляхом піддавання матеріалів стресовим умовам прискореної стабільності [71].

Для закупорювання флаконів у фармацевтичній промисловості часто використовуються гумові кришечки, які при різних умовах екстракції (вода, фізіологічний розчин, кислоти тощо) можуть вивільняти такі метали як Pb, As, Sb, Fe, Al, Zn. Таким чином продукт може бути контамінований наведеними вище металами, які надалі потрапляють в організм людини [72]. Метали мають властивість накопичуватися в організмі, ушкоджувати нирки, печінку, нервову систему, викликати хронічні хвороби, мутації чи канцерогенез, що є значним приводом для занепокоєння та причиною необхідності проведення досліджень для визначення вмісту металів в фармацевтичних продуктах.

Окрім вище згаданих груп речовин є також велика кількість органічних домішок, які підлягають дослідженню extractables та leachables. Такі речовини кількісно визначаються найчастіше методом мас-спектрометрії. У цьому контексті мас-спектрометрія є аналітичним методом для виявлення та кількісного визначення як навмисно доданих речовин, таких як антиоксиданти, стабілізатори, технологічні добавки, так і ненавмисно доданих речовин, що потрапляють в склад продукту в ході технологічного процесу [73].

Найбільші ризики безпеки при застосування лікарських засобів та медичних виробів несе наявність домішок. Ці домішки можуть мати різне походження, тому при впровадженні та розробці обов'язковим є урахування всіх факторів, що можуть сприяти утворенню будь-яких супутніх та сторонніх домішок та здійснення відповідної регламентації останніх.

Одним з акцентів нещодавно набутого чинності MDR [16] є дотримання стандартів безпеки медичних виробів для мінімізації отримання шкоди пацієнтом при їх використанні за призначенням. Оцінка біосумісності є ключовим елементом у підтвердженні безпечності виробів для організму людини [74]. Відповідно до вимог MDR [16] виробники медичної продукції повинні провести дослідження, які підтвердять можливість медичного виробу взаємодіяти з пацієнтом без нанесення шкоди. Враховуючи, що джерелом потрапляння небезпечних домішок при

застосування медичних виробів являються контейнери, одним з елементів дослідження біосумісності є проведення фізичних та хімічних властивостей матеріалів, а саме визначення E&L з первинного пакування медичного виробу, в якому він зберігається впродовж свого терміну придатності [75, 76, 77].

## Резюме до розділу 1

Медичні вироби займають велику частину фармацевтичного ринку та представлені у величезній різноманітності за формою випуску та способом їх використання. Таким чином, деякі медичні вироби є доволі простими з мінімальним ризиком нанесення шкоди при їх застосуванні, а деякі можна прирівняти до лікарських засобів зважаючи на нозології та форми їх застосування. Імпланти ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти застосовуються перентерально та можуть бути прирівняні до ін'єкційних препаратів. Зважаючи на доволі узагальнені вимоги до медичних виробів, МВ з високим ризиком нанесення шкоди повинні бути краще врегульовані, а підходи до їх розробки та подальшого масштабування необхідно стандартизувати.

Більше того, зважаючи на оновлення європейського регулювання, вимоги України до медичних виробів станом на сьогодні потребують актуалізації для досягнення кращого рівня управління МВ на українському ринку.

Впровадженням Технічного регламенту № 753 Україна почала адаптацію своєї регуляторної системи до європейських стандартів. Проте станом на зараз вимоги України вже є застарілими та потребують гармонізації з сучасними регуляцією ринку Європи. Перехід до вимог MDR [16] став і досі є викликом як для українських виробників МВ, так і для виробників у всьому світі. Відповідним викликом є також адаптація українських вимог до сучасних європейських. Відсутність єдиної системи стандартизації медичних виробів призводить до конфузів сертифікаційних вимог та різниці в стандартах між Україною та Європою. Це ускладнює можливість обміну інноваційними рішенням між країнами та поширення продукції українського виробництва на світовому фармацевтичному ринку.

Опрацьований літературний аналіз наукових джерел та міжнародних стандартів чітко демонструє, що дослідження E&L є одним з ключових кроків загального шляху демонстрації та підтвердження безпеки лікарських засобів та медичних виробів. Особливо важливе значення ці дослідження мають для інвазивних продуктів, таких як імпланти ін'єкційні. Історичний розвиток даної сфери досліджень відображає шлях розуміння значимості невидимих людським оком частинок, які можуть потрапити в продукт як в ході його виробництва, так і зберігання у вибраних виробником умовах.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1 Вибір загальної методології досліджень

Одним з завдань нашого дослідження було побудувати та стандартизувати алгоритм розробки медичних виробів високого класу ризику. Об'єктом досліджень було обрано імплантати ін'єкційні, які використовуються перентерально та прирівнюються до лікарських засобів за рівнем їх впливу на організм людини з точки зору можливих шкод та небезпек.

Методологічною основою досліджень стали сучасні підходи до аналізу та валідації систем забезпечення якості медичних виробів імплантатів ін'єкційних. Дослідженню підлягали як аналіз регуляторних вимог з розробкою методів оптимізації вибору класу ризику MB, так і проведення валідації технологічного процесу виготовлення, аналітичних методів контролю основного компоненту натрію гіалуронату та проведення дослідження речовин що вимиваються та екстрагуються з первинного пакування медичного виробу. Вибір методології зумовлений необхідністю:

- встановлення підходу до розробки медичного виробу імплантату ін'єкційного зважаючи на його характеристики та клас ризику для забезпечення відповідності регуляторним вимогам європейського зразку;
- підтвердження відтворюваності характеристик продукту в обраних технологічних умовах;
- підтвердження якості та ефективності готового продукту;
- підтвердження безпечності готового продукту, який зберігається в обраному первинному пакуванні.

Зважаючи на вищеописане, дослідження ґрунтується на поєднанні регуляторного аналізу, валідаційних процедур технологічного процесу та експериментальних методів контролю якості кількісного визначення основного компоненту та E&L.

## 2.2 Регуляторна модель класифікації медичних виробів для ринку України та побудова дерева рішень для визначення їх класу ризику

На відміну від лікарських засобів (ЛЗ) для медичних виробів відсутні міжнародні класифікації критеріїв продукції. Розробка медичних виробів вимагає врахування і поєднання вимог міжнародної нормативної загальнопрофільної щодо типу МВ документації [78, 79], різноманітного профілю користувачів і великого об'єму наукової бази. Додаткова складність полягає у тому, що команда розробки складається здебільшого з інженерів-технологів, які, як правило, не є експертами в медичній галузі і часто не мають глибоких знань щодо потенційних користувачів або передбачуваного середовища використання та ризиків, пов'язаних з ними [80, 81]. Неможливість повністю врахувати всі описані вимоги може негативно вплинути на дизайн кінцевого концепту медичного виробу [82]. Враховуючи описані вище складнощі класифікації медичних виробів, даний тип фармацевтичної продукції класифікують за рівнем ризику, який визначає ступінь їх безпечності для користувача та споживача [83]. Більшість регуляторних вимог регламентує наступну класифікацію:

клас I – медичні вироби низького ступеня ризику (додатково виділяючи I та Ic, де Ic – стерильний виріб);

клас IIa – медичні вироби середнього ступеня ризику;

клас IIb – медичні вироби підвищеного ступеня ризику;

клас III – медичні вироби високого ступеня ризику.

Така класифікація застосовується в Україні відповідно до вимог Технічного регламенту № 753 [15], на території Європейського Союзу згідно вимог MDR [116] тощо. Правила класифікації в Технічному регламенті № 753 [15] представлені у *Додатку 2 Критерії класифікації медичних виробів* в описовому форматі. Правила класифікації базуються на цільовому призначенні виробу, враховуючи співвідношення користі та ризик при застосуванні МВ за призначенням у визначених виробником умовах.

Базуючись на регуляторних вимогах України та Європейського Союзу, в даній роботі було розроблено дерево рішень для визначення класу ризику медичного виробу з урахуванням профілю його використання, складу та технології.

Враховуючи, що критерії класифікації сформовані з урахуванням максимально можливих варіацій медичних виробів, дерево рішень було поділено на чотири взаємопов'язані блоки [84]:

- Спеціальні правила (Рис 2.1);
- Критерії, що застосовуються для класифікації активних медичних виробів (Рис. 2.2);
- Критерії, щодо неінвазивних медичних виробів (Рис 2.3);
- Критерії, щодо інвазивних медичних виробів (Рис. 2.4).

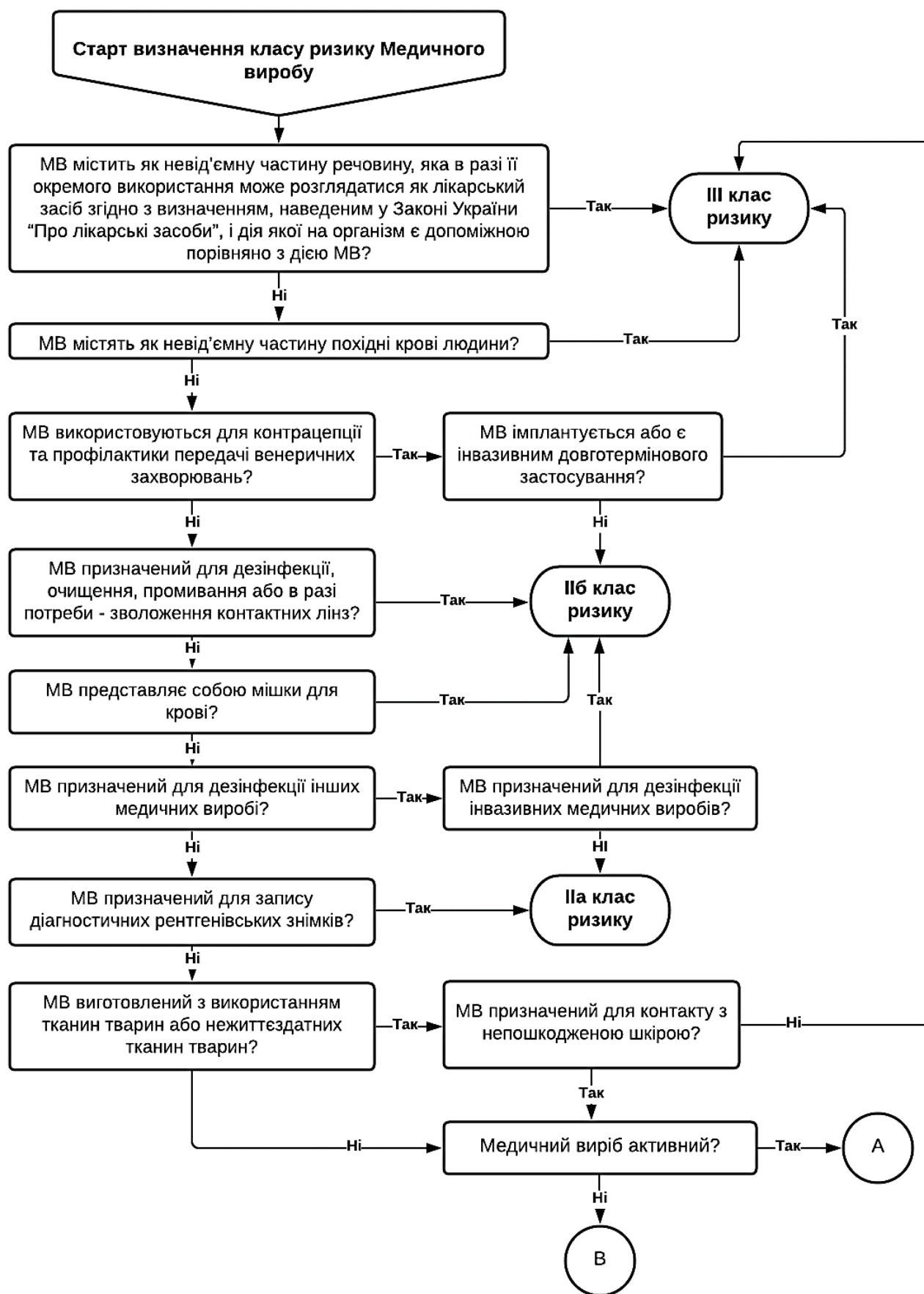


Рис 2.1. Визначення класу ризику (спеціальні правила класифікації)

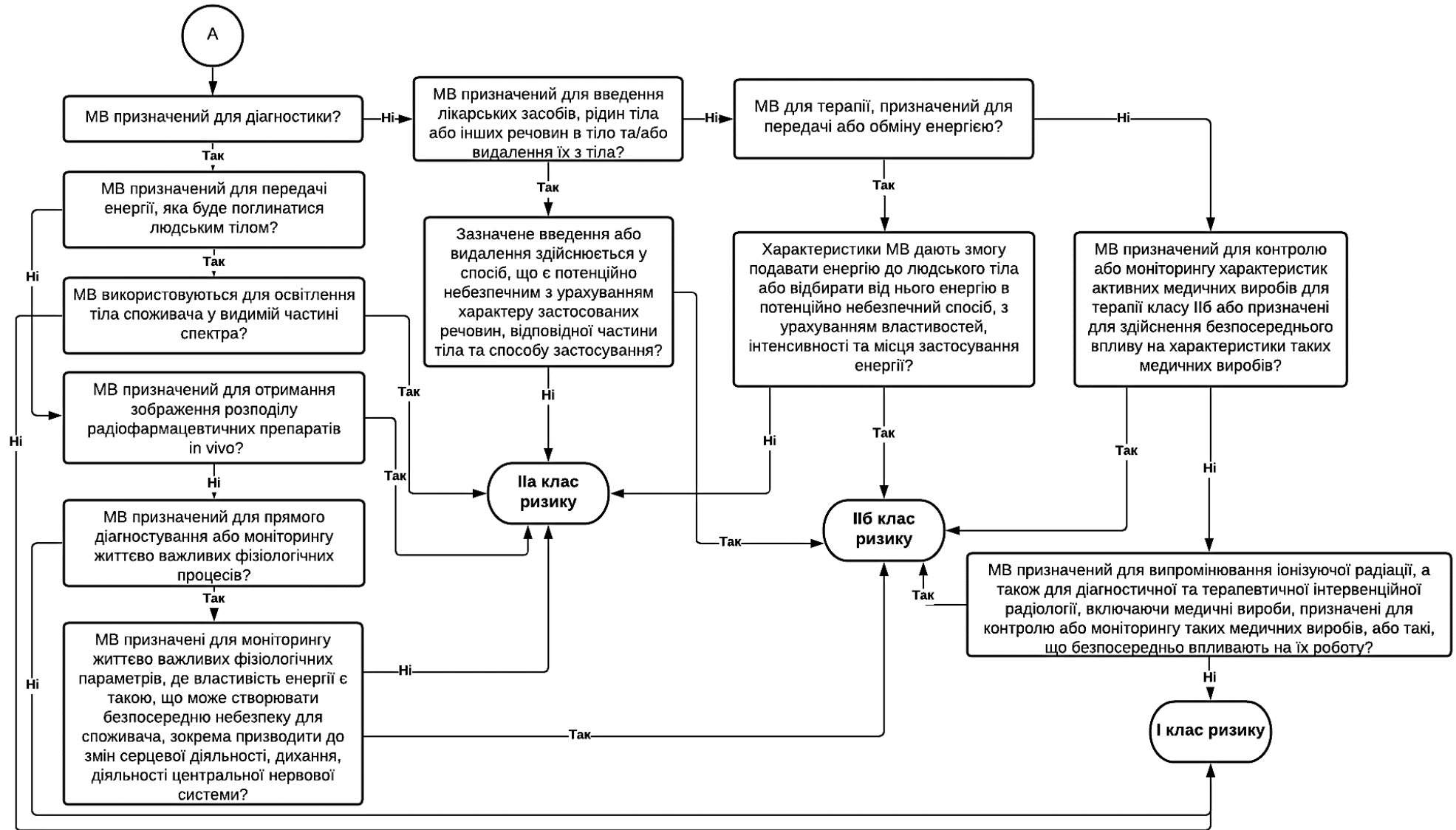


Рис 2.2 Визначення класу ризику (критерії, що застосовуються для класифікації активних медичних виробів)

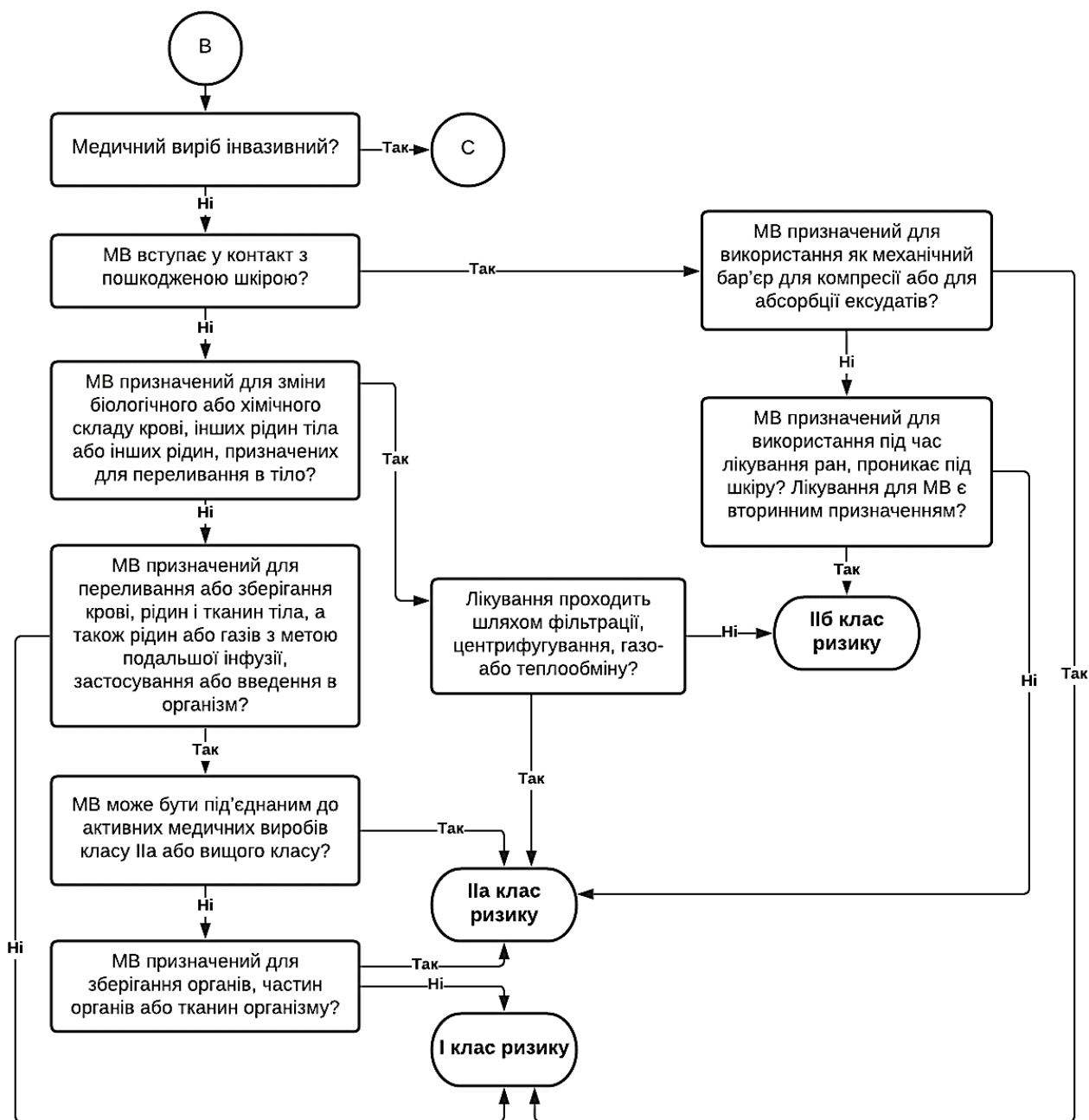


Рис 2.3 Визначення класу ризику (критерії, щодо неінвазивних медичних виробів)

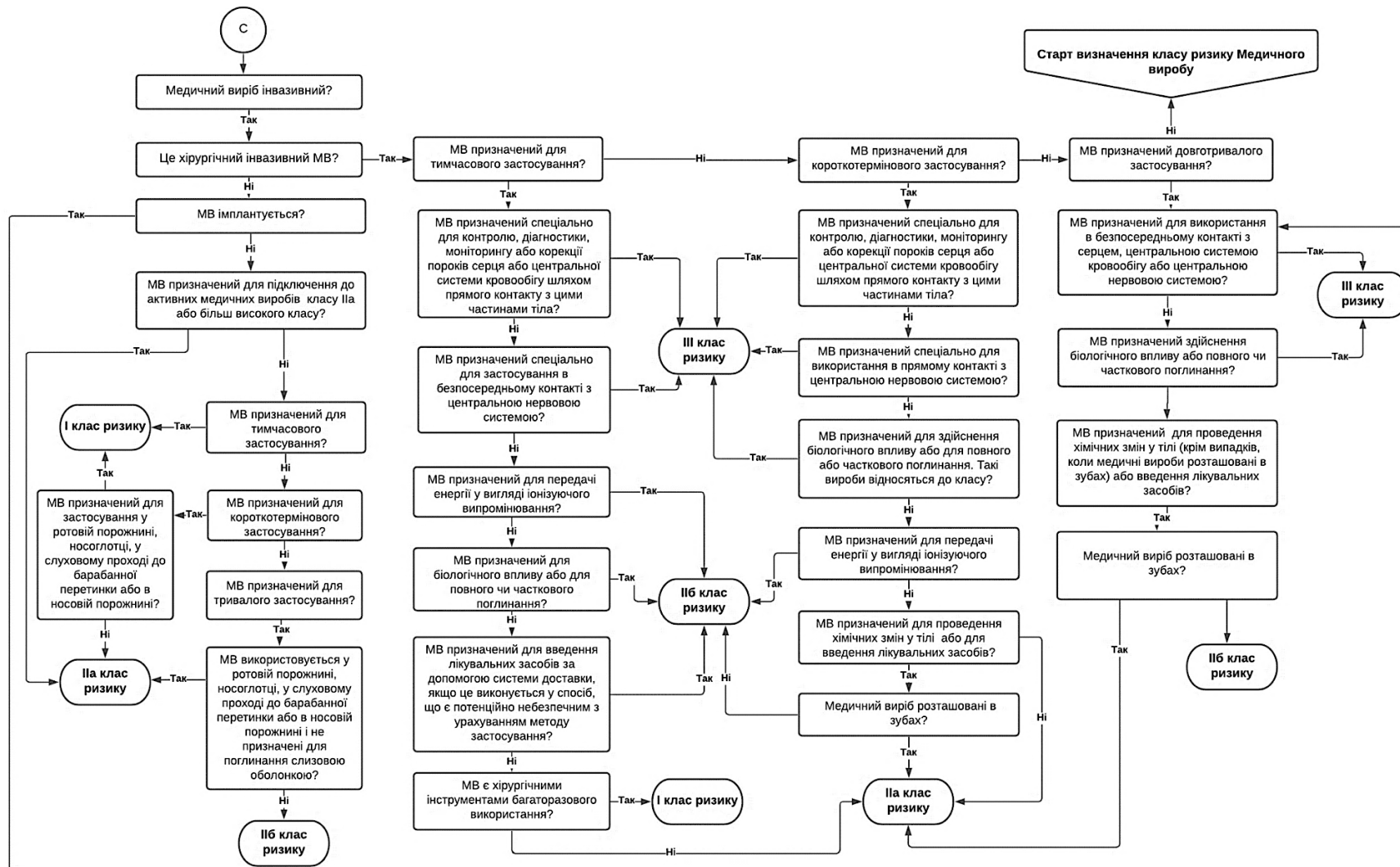


Рис 2.4. Визначення класу ризику (критерії, щодо інвазивних медичних виробів).

Залежно від класу ризику та типу медичного виробу визначається об'єм необхідних досліджень в процесі розробки та затвердження концепту, виробничі дослідження для підтвердження можливості виготовлення безперебійного виготовлення готового медичного виробу, клінічні та доклінічні дослідження для підтвердження безпеки та ефективності продукту, тощо.

Імплантат ін'єкційний є медичним виробом інвазивного способу застосування, імплантується та призначений для здійснення часткового поглинання організмом людини. Таким чином, імплантати ін'єкційні відносяться до III найвищого класу ризику. Зважаючи на спосіб їх застосування та рівень ризику для дисертаційної роботи було визначено необхідні етапи дослідження (рис. 2.5).

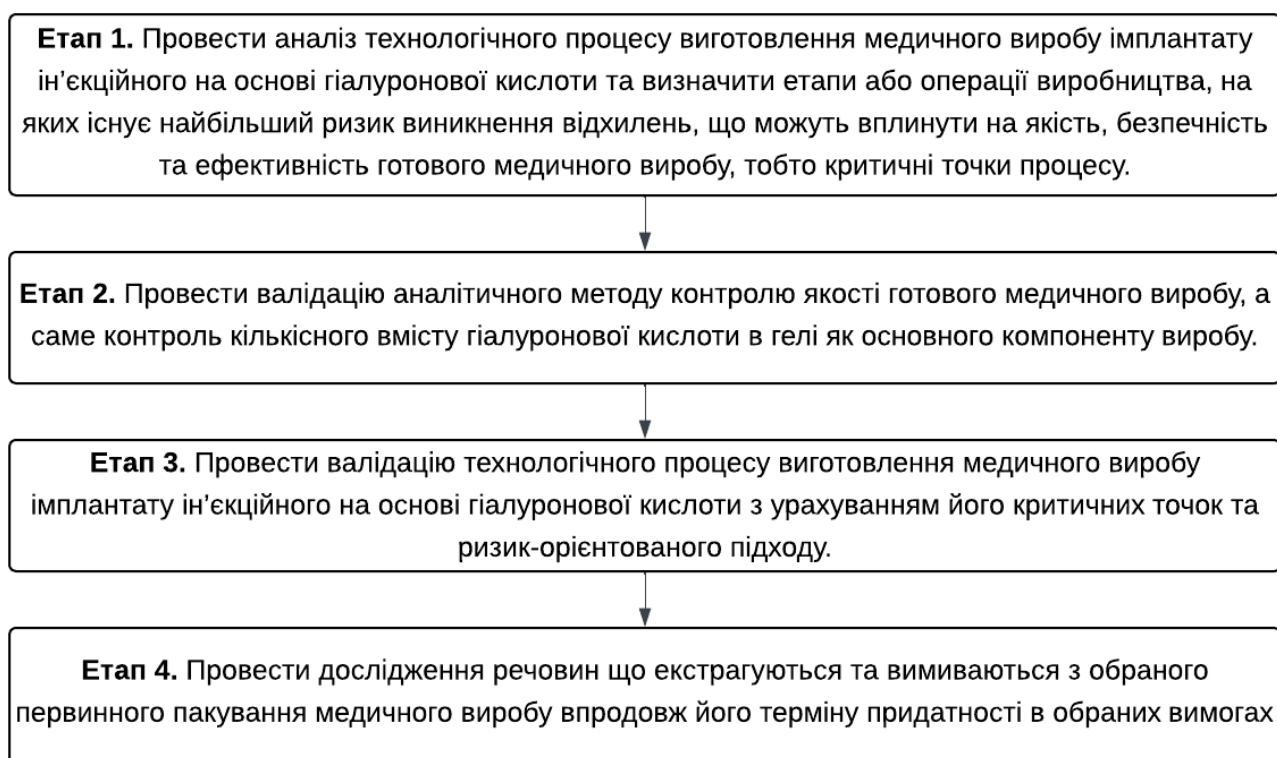


Рис 2.5 Загальний алгоритм дослідження

Валідація технологічного процесу є обов'язковою для МВ III класу ризику, проте для визначення підходу до валідації необхідним є визначення критичних точок та проведення оцінки ризиків. Окрім того, зважаючи на спосіб застосування досліджуваних медичних виробів обов'язковим є проведення дослідження речовин що екстрагують та вимиваються.

## 2.3 Об'єкти дослідження

У цьому розділі представлено опис об'єктів досліджень, а саме лінійки імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти.

Імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти – це стерильний гель з фізіологічним рН гіалуронової кислоти нетваринного походження. Гель представлено в попередньо наповненому шприці одноразового використання. Дослідна лінійка являє собою виконання імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти з єдиним якісним складом і відмінним кількісним складом основного компоненту, а саме натрію гіалуронату.

Імплантати ін'єкційні за рахунок своїх фізико-хімічних властивостей використовуються в медицині напрямку краси та здоров'я. МВ являє собою біологічно сумісний ін'єкційний імплантат пролонгованої дії. Завдяки своїм особливим в'язко-еластичним властивостям створює природний рівномірний і однорідний об'єм при корекції шкіри, що втратила тонус, зон зневодненої шкіри, при заповненні складок, впадин. Гіалуронова кислота, що міститься в МВ, забезпечує довготривалу абсорбцію ін'єкційного імплантату шкірною тканиною. Ця особливість дозволяє підтримувати оптимальний рівень гідrataції дерми, сприяє тривалій еластичності шкіри. Окрім того даний МВ діє як амортизатор, засіб, що відновлює рухомість суглобів. Враховуючи всі вищеописані сфери застосування, такий медичний виріб є широко застосовуваний в різних напрямках медицини, що підтверджує актуальність вибору такого продукту для дослідження з метою досягнення максимального рівня якості та безпечності.

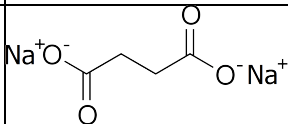
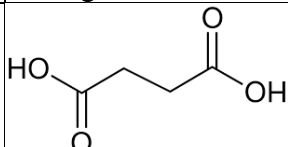
### 2.3.1 Фізико-хімічні властивості гелю імплантатів ін'єкційних

Імплантати ін'єкційні являють собою безбарвний, прозорий, еластичний гель на основі гіалуронової кислоти нетваринного походження. Гель є стерильним, апірогенним, з фізіологічним рівнем рН.

Сировина, яка використовується для виготовлення імплантатів ін'єкційних представлена в Таблиця 2.1.

Таблиця 2.1

**Вихідна сировина для виготовлення імплантатів ін'єкційних**

CAS номер	Формула	Назва	Функція
7732-18-5	H <sub>2</sub> O	Вода	Розчинник
9067-32-7	(C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> NNaO <sub>11</sub> ) <sub>n</sub>	Натрію гіалуронат	Основна речовина
2425-79-8	C <sub>4</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	1,4-бутандиолдиглицидиловий ефір	Зв'язуючий агент
1310-73-2	NaOH	Натрію гідроксид	Компонент середовища синтезу
7647-01-0	HCl	Хлористоводнева кислота	Коректор рН
7646-14-5	NaCl	Натрію хлорид	Осмотичний агент
7447-40-7	KCl	Калію хлорид	Осмотичний агент
7558-79-4	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Натрію гідрофосфат безводний	Компонент буферу
7778-77-0	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Калію дигідрофосфат	Компонент буферу
150-90-3		Компонент буферу, антиоксидант	Натрію сукцинат
110-15-6		Регулятор рН, антиоксидант	Янтарна кислота

2.3.2 Фізико-хімічні властивості основного компоненту імплантатів ін'єкційних.

Натрію гіалуронат є сольовою формою гіалуронової кислоти. Гіалуронова кислота, також відома як гіалуронан (Рис ), є високомолекулярним, природним, біорозкладним полімером. ГК являє собою лінійний (негілкований) та

несульфатований глікозаміноглікан. Вона складається з повторюваних дисахаридних одиниць N-ацетил-D-глюкозаміну та D-глюкуронової кислоти, які хімічно з'єднані чергуючимися глікозидними зв'язками  $\beta$ -(1,4) та  $\beta$ -(1,3) [85,86]. ГК широко розповсюджена в усьому людському організмі та є основним елементом позаклітинного матриксу [87,88,89]. Період напів виведення лінійної ГК у шкірі становить близько 12 годин, і вона швидко розщеплюється ферментом гіалуронідазою [90,91].

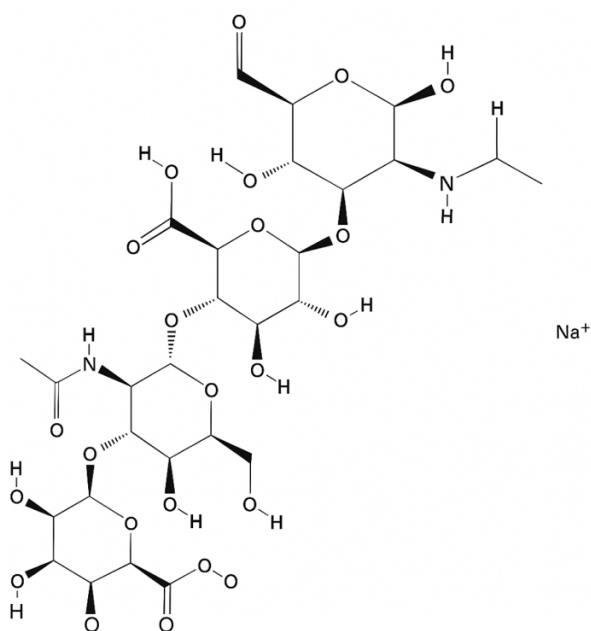


Рис 2.6 Структура гіалуронату натрію

Натрію гіалуронат, що використовується для виробництва медичних виробів імплантатів ін'єкційних, відповідає вимогам до сировини медичного застосування і призначений для застосування при парентеральних, внутрішньоочних та внутрішньосуглобових введеннях. Контрольовані параметри основного компоненту включають мікробіологічну чистоту та вміст бактеріальних ендотоксинів. Ферментаційне виробництво натрію гіалуронату здійснюється без використання матеріалів тваринного походження, субстанція повинна відповідати високим стандартам мікробіологічної чистоти (відсутність патогенів, обмеження по важких металах) [92].

## 2.4 Методи досліджень

При виконанні роботи були використані сучасні фізико-хімічні та аналітично/логіко-графічні методи дослідження:

- Аналіз ризиків методом «аналізування причинно-наслідкових зв'язків» для визначення критичних точок виробничого процесу;

- Спектрофотометричний метод для якісного та кількісного визначення гіалуронової кислоти в готовому медичному виробі;

- Head-space газова хроматографія (HS-ГХ/МС) для визначення летких речовин (капілярна колонка Agilent RTX-624, 30м x 0.25мм, об'єм аліквоти 1,0 мл, температура інжектора 200°C, швидкість потоку 1 мл/ хв, гелій в якості газу носія, температурна програма ГХ від 40°C до 240°C зі швидкістю 8°C/хв);

- Газова хроматографія в поєднанні з мас-спектрометричним детектором (ГХ/МС) для визначення напівлетких органічних сполук (капілярна колонка Agilent HP-5MS, 30m 0.25mm, об'єм аліквоти 1,0 мл, температура інжектора 280°C, швидкість потоку 1,0 мл/хв, гелій в якості газу носія, температурна програма ГХ від 40°C до 280°C зі швидкістю 10°C/хв, потім до 310°C зі швидкістю 15°C/хв);

- Рідинна хроматографія в поєднанні з УФ- та мас-спектрометричними детекторами (ВЕРХ/УФ/МС) для визначення нелетких органічних сполук (колонка Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18, 2.1 mm x 50 mm 1.8 μm, об'єм аліквоти 5 мкл, в якості рухомої фази було використано 5 мМ ацетату амонію у воді та 50:50 Ацетонітрил:Метанол об./об., швидкість рухомої фази 0,4 мл/хв, температура 380°C, детектор ЮФ 210 нм; MS ESI+ and ESI-);

- Мас-спектрометрія з індуктивно-зв'язаною плазмою (ІЗП/МС) для визначення металів (Параметри збору даних: режим збору даних – спектр; пікова картина - 3 точки; повторення – 3; повторення – 100; час стабілізації - 20 сек; роздільна здатність – стандартна).

- Іонна хроматографія (ІХ) використана для перевірки наявності аніонів в екстрактах для дослідження речовин що екстрагуються.

### ***Методика кількісного та якісного визначення гіалуронату натрія***

Визначення проводять методом абсорбційної спектрофотометрії згідно *ДФУ/Ph Eur 2.2.25*. Валідація методики направлена на підтвердження відтворюваності та специфічності визначення гіалуронату натрія в складі медичного виробу імплантату ін'єкційного з вмістом всіх допоміжних речовин.

Кількісне визначення концентрації гіалуронату натрію проводиться на основі реакції D-глюкуронової кислоти з карбазолом.

Для проведення аналізу необхідним є приготування опорного розчину порівняння, 5 розчинів порівняння в діапазоні необхідних концентрацій та досліджуваний розчин. Для приготування розчинів порівняння було використано зразки фармакопейної якості та приготовано 5 концентрацій кожної по 3 розчини (тобто отримано 15 розчинів порівняння).

Для валідації методики використовувався спектрофотометр Perkin Elmer Lambda 25. Вимірювання оптичної густини проводилось при довжині хвилі 530 нм проти холостого розчину без гіалуронату натрію. На основі отриманих результатів було побудовано калібрувальну криву за середнім значенням оптичної густини, визначеної для кожної з п'яти концентрацій.

Для приготування досліджуваного розчинну наважку імплантату перенесли в мірний стакан, додали воду масою, визначеною за формулою:

$$m_{H_2O} = \frac{m_{impl} * W}{0,17} - m_{impl} \quad (2.1)$$

де  $m_{H_2O}$  – необхідна маса води,  $m_{impl}$  – маса імплантату,  $W$  – передбачуваний вміст гіалуронату натрію в імплантаті %, 0,17 – необхідний вміст гіалуронату натрію в кінцевому розчині, %.

Було приготовано 4 зразки досліджуваного розчину однієї концентрації та проведено підготовку розчину аналогічно до розчинів порівняння згідно методики, описаної в *Ph.Eur 2.2.25*. Оптичну густину розчинів виміряно аналогічно розчинам порівняння при довжині хвилі 530 нм проти холостого розчину.

За калібрувальною кривою визначено концентрація D-глюкуронової кислоти в досліджуваному розчині. Концентрація гіалуронату натрію в процентах визначається за формулою:

$$C = \frac{C_g}{C_s} * Z * \frac{\omega}{100 - \lambda} * \frac{401,3}{194,1} \quad (2.2)$$

де  $\omega$  - вміст гіалуронату натрію в медичному виробі, %;  $C_g$  – концентрація D-глюкурованої кислоти у досліджуваному розчині, мг/мл;  $Z$  – процентний вміст  $C_6H_{10}O_7$  в D-глюкурованій кислоті, %;  $\lambda$  - втрата маси при висушуванні дисахаридних фрагментів, %; 401,3 – відносна молекулярна маса дисахаридних фрагментів; 194,1 - відносна молекулярна маса глюкуронової кислоти.

Аналітична методика кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках Імплантатах ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти передбачає використання методу абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці. Методика ґрунтується на лінійній залежності оптичної густини досліджуваного розчину від вмісту в ньому гіалуронату натрію.

#### *Приготування реактивів.*

##### Реактив А

- розчин 0.95 г динатрію тетраборату Р в 100 мл сірчаної кислоти Р.

##### Реактив Б

- розчин 0.125 г карбазолу Р в 100.0 мл етанолу Р.

#### *Приготування розчинів.*

##### *Опорний розчин порівняння*

Розчинити 0.1 г D-глюкуронової кислоти Р у воді Р і довести до 100 г тим самим розчинником.

##### *Розчини порівняння*

Приготувати п'ять розведень опорного розчину порівняння, що містять кількість D-глюкуронової кислоти в діапазоні від 6.5 мкг/г до 65 мкг/г.

#### *Побудова калібрувальної кривої:*

- 6 пронумерованих пробірок вміщують у водяну баню та за потреби охолодити до температури від 15 °С до 25 °С;

- додати до пробірок від 1 до 5 по 1.0 мл кожного з п'яти розчинів порівняння;

- додати у 6 пробірку 1.0 мл води Р (холостий розчин);

- додати по 5.0 мл реактиву А до кожної пробірки;

- пробірки щільно закрити пластиковою кришкою, перемішати та гріти пробірки на водяній бані при температурі 89.5 °С до 90.5 °С протягом 15 хв;
- помістити пробірки в льодяну баню та охолодити до температури від 15°С до 25 °С;
- додати в кожен пробірку 0.2 мл реактиву Б;
- пробірки струсити і знову гріти на водяній бані при температурі 89.5 °С до 90.5 °С протягом 15 хв;
- помістити пробірки в льодяну баню та охолодити до температури від 15°С до 25 °С;
- виміряти оптичну густину отриманих розчинів за довжини хвилі 530 нм проти холостого розчину;
- роздрукувати калібрувальну криву зі значеннями оптичної густини, визначеної для кожного з п'яти розчинів порівняння.

*Випробовуваний розчин:*

Перенести розрахункову кількість розчину в колбу:

- для концентрації натрію гіалуронату 11 мг/мл – 1.545 г,
- для концентрації натрію гіалуронату 18 мг/мл – 0.944 г,
- для концентрації натрію гіалуронату 22 мг/мл – 0.773 г.
- розчинити у воді Р, довести до 200 г тим же розчинником та перемішати розчин не менше 15 хв.

Розрахунковий вміст гіалуронату натрію в отриманому розчині складає 0.085 мг/г.

Визначення оптичної густини.

- чотири пронумерованих пробірки помістити в водяну баню та охолодити до температури від 15 °С до 25 °С;
- додати в пробірки № 1-3 по 1 мл випробуваного розчину, в пробірку № 4 внести 1 мл води Р (холостий розчин);
- додати до кожної пробірки по 5 мл реактиву А. Щільно закрити пробірки пластиковими кришками, перемішати вміст і гріти на водяній бані при температурі від 89.5 °С до 90.5 °С протягом 15 хв;

- помістити пробірки в льодяну баню та охолодити до температури від 15<sup>0</sup>С до 25<sup>0</sup>С;
- додати в кожен пробірку 0,2 мл реактиву Б;
- пробірки знову струсити і гріти на водяній бані при температурі від 89.5<sup>0</sup>С до 90.5<sup>0</sup>С протягом 15 хв;
- помістити пробірки в льодяну баню та охолодити до температури від 15<sup>0</sup>С до 25<sup>0</sup>С;
- виміряти оптичну густину за довжини хвилі 530 нм проти холостого розчину;
- вміст натрію гіалуронату визначити за калібрувальною кривою D-глюкуронової кислоти в мкг/г за формулою:

$$C_g = \frac{A}{b}, \quad (2.3)$$

де: А – середня оптична густина випробуваного розчину;

б – кутовий коефіцієнт для калібрувальної кривої.

Вміст натрію гіалуронату в мг/мл розрахувати за формулою:

$$C = \frac{C_g}{C_s} \cdot Z \cdot \frac{w}{100 - \lambda} \cdot \frac{401,3}{194,1}, \quad (2.4)$$

де: w - вміст натрію гіалуронату в МВ, який вказано на упаковці, мг/мл;

C<sub>г</sub> – концентрація D-глюкуронової кислоти у випробуваному розчині, мкг/г;

C<sub>с</sub> – концентрація випробуваної речовини у випробуваному розчині, мкг/г;

Z – відсотковий вміст глюкуронової кислоти в D-глюкуроновій кислоті, %;

λ – втрата в масі при висушуванні в D-глюкуроновій кислоті, %;

401.3 – відносна молекулярна маса дисахаридних фрагментів;

194.1 – відносна молекулярна маса глюкуронової кислоти.

### ***Методика визначення летких органічних сполук в ході дослідження extractables***

#### *Приготування розчинів*

Для приготування розчину порівняння готують спершу проміжний стандартний розчин: 98,93 мг толуену розчиняють та доводять об'єм до 10 мл розчинником ДМІ.

0,5 мл отриманого розчину толуену розбавляли до 50 мл водою. Для приготування розчину порівняння 0,5 мл проміжного стандартного розчину розбавляють до 50 мл водою. Отриманий розчин вносять у флакон для аналізу газової фази (headspace) та використовували як поріг аналітичної оцінки (Analytical Evaluation Threshold, AET).

В даному дослідженні аналізувались два дослідні зразки: зразок 1 для аналізу ковпачку та зразок 2 для аналізу ущільнювача як елементів, що контактують з медичним виробом в шприці.

Для приготування дослідного зразку 1 ущільнювач поміщали у флакон для аналізу газової фази об'ємом 20 мл та додавали 5 мл води.

Для приготування дослідного зразку 2 ковпачок поміщали у флакон для аналізу газової фази об'ємом 20 мл та додавали 5 мл води.

Зразок готували у двох примірниках.

В якості холостого розчину було використано воду.

### ***Методика визначення напівлетких органічних сполук в ході дослідження extractables***

#### *Приготування розчинів*

Для приготування розчину порівняння було приготовано проміжний розчин шляхом розбавлення 0,1 мл розчину фенантрени-d10 розчином диметилкарбонату (DMC) до 10 мл. 0,5 мл проміжного розчину розвели до 50 мл DMC та аналізували.

Для приготування дослідних зразків аліквоту 2,0 мл кожного з розчинів 1, 2 та 3 було розведено водою до 5,0 мл. Для зразка 3 було відібрано органічну фазу для аналізу.

Зразок готували у двох примірниках.

В якості холостих розчинів було використано екстракційні розчинники, з попереднім методом підготовки аналогічно дослідним зразкам.

## ***Методика визначення нелетких органічних сполук в ході дослідження extractables***

### ***Приготування розчинів***

В якості розчину порівняння було використано розчин з вмістом 0.05 мг/л Hg та Os. Аліквота стандартного розчину використовувалась без подальшої обробки як розчин рівня кількісного визначення та розчин порогу аналітичної оцінки.

Для приготування дослідних зразків аліквоту 1,0 мл кожного з розчинів 1, 2 та 3 було розведено до 5,0 мл розчином ACN:H<sub>2</sub>O (50:50) (розведення 1:5). Отримані розчини аналізували без подальшої обробки.

В якості холостих розчинів було використано екстракційні розчинники, з попереднім методом підготовки аналогічно дослідним зразкам.

## ***Методика визначення металів в ході дослідження extractables***

### ***Приготування розчинів***

В якості розчинів порівняння було використано 0,5 мл сертифікованого стандартного розчину (1000 мг/л) для кожного металу (Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni, Tl, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Se, Ag, Pt, Li, Sb, Ba, Mo, Cu, Sn and Cr) та 1,0 мл концентрованої HNO<sub>3</sub> розбавляли водою до 50,0 мл.

В якості дослідних зразків аліквоту розчину 1 аналізували безпосередньо на приладі, а аліквоту розчину 2 обробили HCl для досягнення рН 1,99, а потім безпосередньо проаналізували на приладі.

В якості холостих розчинів аліквоту екстракційного розчинника 1 аналізували безпосередньо на приладі, а аліквоту екстракційного розчинника 2 обробили HCl для досягнення рН 1,99, а потім безпосередньо проаналізували на приладі.

## ***Методика визначення аніонів в ході дослідження extractables***

### ***Приготування розчинів***

Для приготування розчину порівняння аліквоти по 20 мкл стандартних розчинів хлориду, фториду та бромиду з концентрацією 1000 мкг/мл змішали та розвели до 100 мл водою.

В якості дослідного розчину було використано розчин 4 без подальшої обробки.

В якості холостого розчину було використано екстракційний розчинник 4 без подальшої обробки.

### ***Методика визначення летких органічних сполук в ході дослідження leachables***

#### *Приготування розчинів*

Для приготування розчину порівняння було приготовано проміжний розчин шляхом розбавлення 0,2 мл розчину толуолу водою до 20 мл. Далі 0,5 мл проміжного розчину розвели до 50 мл водою. Аліквоту 5 мл цього розчину внесли у флакон з герметичною пробіркою для аналізу.

Для приготування дослідного зразку аліквоту зразку гелю медичного виробу, який було отримано після дослідження його стабільності в зазначених виробником умовах в первинному пакуванні об'ємом 1 мл і змішали з 4 мл води (розведення 1:5).

Отриманий розчин внесли у флакон з герметичною пробіркою об'ємом 20 мл та проаналізували без подальшої обробки.

Зразок готували у двох примірниках.

В якості холостого розчину було використано воду.

### ***Методика визначення напівлетких органічних сполук в ході дослідження leachables***

#### *Приготування розчинів*

Для приготування розчину порівняння було приготовано проміжний розчин шляхом розбавлення 0,5 мл розчину фенантрени-d10 до 5 мл розчином дихлорметану (DCM). Далі 0,1 мл проміжного розчину розбавили до 10 мл DCM. Цей розчин

використовувався як поріг аналітичного оцінювання (*Analytical Evaluation Threshold* АЕТ).

Для приготування дослідного зразку дві аліквоти по 5 мл зразків гелю медичного виробу, який було отримано після дослідження його стабільності в зазначених виробником умовах в первинному пакуванні, змішували з 5 мл DCM за допомогою лабораторного шейкера (час струшування 1 хв). 1 мл органічної фази змішали з 4 мл DCM (5-кратного розведення). Отримані розчини аналізували без подальшої обробки.

В якості холостого розчину було використано аліквоту DCM.

### ***Методика визначення нелетких органічних сполук в ході дослідження leachables***

#### *Приготування розчинів*

В якості розчину порівняння було використано суміш стандартного розчину порівняння Irganox® 1098 та Reserpine (1 мкг/мл).

Для приготування дослідного зразку 1 мл гелю медичного виробу, який було отримано після дослідження його стабільності в зазначених виробником умовах в первинному пакуванні, розбавляли в 5 разів водою до кінцевого об'єму 5 мл і аналізували без подальшої обробки

В якості холостого розчину було використано аліквоту H<sub>2</sub>O.

### ***Методика визначення металів в ході дослідження leachables***

#### *Приготування розчинів*

В якості розчинів порівняння було використано 0,5 мл сертифікованого стандартного розчину (1000 мг/л) для кожного металу та 1,0 мл концентрованої HNO<sub>3</sub> розбавляли водою до 50,0 мл.

Для приготування дослідного зразку 1 мл гелю медичного виробу, який було отримано після дослідження його стабільності в зазначених виробником умовах в

первинному пакуванні, змішували з 3 мл  $\text{HNO}_3$  та розщеплювали за допомогою мікрохвильової процедури. Отримані зразки розбавляли до 50 мл водою (розведення 1:100).

Для приготування холостого розчину 1 мл  $\text{H}_2\text{O}$  змішували з 5 мл  $\text{HNO}_3$  та розщеплювали за допомогою мікрохвильової процедури. Отриманий розчин розбавляли до 50 мл  $\text{H}_2\text{O}$  (розведення 1:100).

## Висновки до розділу 2

1. Теоретично обґрунтовано та визначено загальну методологію проведення досліджень, складено алгоритм фармацевтичної розробки медичного виробу.

2. Розроблено та описано регуляторну модель класифікації медичних виробів для ринку України та побудовано дерева рішень для визначення їх класу ризику. На основі теоретичних обґрунтувань сформовано загальну методологію дисертаційних досліджень.

3. Охарактеризовано об'єкт дисертаційного дослідження - імпланти ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти, описано фізико-хімічні характеристики основного компоненту продукту.

4. Представлено опис методик, які використовувались в дослідженні.

*Результати теоретичних та експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1) Regulatory and risk oriented approach to the design and development of medical devices in accordance with Ukraine regulations / I. Bondarets et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69(2). P. 493–500. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e82316.

2) Бондарець І. Р., Сидоренко Л. В., Георгіянц В. А. Підхід до стратегії розробки медичних виробів. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. дистанційної конф., м. Харків, 1 лют. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 89.

### РОЗДІЛ 3

## ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ТА ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМПЛАНТАТІВ ІН'ЄКЦІЙНИХ НА ОСНОВІ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ

### 3.1 Формування узагальненого алгоритму щодо забезпечення якості при виробництві (фармацевтичній розробці) МВ

Високий рівень якості та надійності медичних виробів є критично важливими аспектами, які потребують детальної розробки та впровадження ефективних процесів контролю якості. Один із ключових етапів у створенні медичних виробів - це розробка специфікації контролю якості, показники якої визначаються на основі оцінки ризиків. Власне процес управління ризиками – це систематичне застосування політик, процедур та практик до аналізу, оцінки, контролю та моніторингу ризиків в продовж всього життєвого циклу медичних виробів для досягнення їх безпечності та ефективності для пацієнта.

Специфікація контролю якості є одним з необхідних елементів для досягнення безпеки продукту, дотримання регуляторних вимог та досягнення довіри споживача.

Розглядаючи процес розробки специфікації контролю якості можна виділити певні етапи, які були нами сформовані у алгоритм забезпечення якості МВ (рис 3.1).

### 3.2 Підхід до розробки специфікації медичних виробів на основі оцінки ризиків безпеки та ефективності продукту

Зважаючи на широке різноманіття медичних виробів, вичерпний чіткий перелік вимог до показників якості кожної категорії МВ відсутній і сформувавши такий в цілому не є можливим. Проте можливим та необхідним є формування загальних принципів щодо вибору показників якості та формування специфікації. Згідно з ISO 13485 [12], MDR [16] та інших специфічних регуляторних вимог при визначенні

показників якості повинен бути застосований ризик-орієнтований підхід відповідно ISO 14971 [13].

#### Етап 1: Визначення цілей та вимог

визначення цілей контролю якості та необхідних вимог до медичного виробу. Це включає в себе розгляд регуляторних вимог, клінічних потреб, специфікацій замовника продукту та інших ключових аспектів, які можуть бути визначені та контрольовані за певними фізико-хімічними та мікробіологічними показниками.

#### Етап 2: Вибір методів та процедур контролю

визначаються методи та процедури контролю якості, які можуть забезпечити контроль ідентифікованих фізико-хімічних та мікробіологічних показників.

#### Етап 3: Встановлення критеріїв прийнятності

специфікація контролю якості визначає критерії, які вказують, коли продукція вважається придатною та відповідною на основі отриманих результатів досліджень в певних межах. Це допомагає визначити, чи задовольняє виріб встановленим стандартам якості.

#### Етап 4: Розробка методів контролю

створення детальних інструкцій для проведення тестів та вимірювань. Вони повинні бути чіткими та повторюваними, щоб забезпечити відтворюваність та релевантні результати або релевантність результатів

#### Етап 5: Валідація методів контролю

перед впровадженням тестових процедур в виробництво вони піддаються обов'язковій валідації, тобто підтвердженні, що методи дійсно відповідають вимогам, є відтворюваними, вибілковими, чутливими та точними.

#### Етап 6: Моніторинг та аналіз результатів

процес контролю якості передбачає постійний моніторинг результатів отриманих за допомогою встановлених методів. У разі спостереження відхилень від специфікації обов'язковим є проведення розслідування та прийняття коригувальних дій.

Рис 3.1 Узагальнений алгоритм забезпечення якості МВ

Вимоги до переліку характеристик якості, що мають контролюватись у медичному виробі від партії до партії можуть відрізнятися залежно від конкретного виробу, його призначення та регуляторних вимог, які до нього можуть бути застосовані.

Для зручності побудови підходу до визначення показників специфікації, можна виділити наступні типи показників якості МВ:

- Загальні вимоги, застосовано до медичного виробу будь-якої категорії і є неспецифічними;
- Вимоги міжнародних стандартів до конкретного медичного виробу (за наявності таких);
- Вимоги, визначені специфікою продукту та ідентифіковані в рамках процесу управління ризиками згідно ISO 14971 [13].

Загальні вимоги є найлегшими для ідентифікації. Вони будуть застосовані до усіх категорій медичних виробів і є обов'язковими для можливості перевірки базової якості продукту незважаючи на специфіку самого МВ. До загальних показників можна також віднести ряд вимог, які необхідні до перевірки для стерильних медичних виробів. Такі показники наведено в Таблиця 3.1.

*Таблиця 3.1*

### **Загальні неспецифічні показники якості медичних виробів**

Показник СП МВ	Тип показника
1	2
Зовнішній вигляд	Загальний показник для стерильного та нестерильного продукту
Цілісність пакування	
Маркування	
Перевірка стійкості до дії кліматичних факторів	
Перевірка стійкості до механічних факторів	
Стерильність	Загальний для стерильного продукту
Бактеріальні ендотоксини	
Стійкість до стерилізації	

1	2
Залишкова кількість етиленоксиду/ радіаційне забруднення (залежно від типу стерилізації)	Загальний для стерильного продукту
Мікробне навантаження	
Герметичність пакування	

Для ідентифікації специфічних показників необхідним є проведення ідентифікації та оцінки ризиків з подальшим визначення характеристик контролю якості як заходів їх контролю та мінімізації. Відповідно до вимог ISO 14971 [13] ризик являється комбінацією ймовірності настання шкоди і тяжкості цієї шкоди. В свою чергу тяжкість являється ступенем вимірювання можливих наслідків небезпеки, а небезпека є потенційним джерело шкоди.

Для кожного ризику необхідним є проведення оцінка його рівня шляхом множення значень ймовірності і тяжкості. Нижче описано принцип, який було розроблено на основі вищеописаних регуляторних вимог для кількісної оцінки ймовірності і тяжкості.

Враховуючи, що тяжкість має відображати ступінь вимірювання потенційної небезпеки для пацієнта, в даному випадку застосовано п'ятибальну шкалу вимірювання рівня небезпеки з співставленням її до критичності нанесення шкоди. В Таблиця представлено дану шкалу.

Таблиця 3.2

## Шкала вимірювання тяжкості небезпеки

Якісне значення	Опис	Числове значення
Катастрофічний рівень шкоди	Смерть	5
Критичний рівень шкоди	Призводить до незворотного погіршення стану здоров'я або незворотної травми	4
Шкода середньої тяжкості	Призводить до травм або пошкоджень, що вимагають медичного або хірургічного втручання	3
Незначна шкода	Призводить до тимчасової травми або пошкодження, що не потребує медичного або хірургічного втручання	2
Мінімальна шкода	Призводить до незручностей або тимчасового дискомфорту	1

Ймовірність сформована на основі статистичного визначення критеріїв частоти настання небезпеки та співставлення з п'ятибальною шкалою як представлено в Таблиця .

Таблиця 3.3

## Шкала вимірювання ймовірності небезпеки

Якісне значення	Числове значення	Критерії визначення частоти
Дуже часто	5	$>1/10$ ( $>10\%$ )
Часто	4	$>1/100$ - $<1/10$ ( $>1\%$ - $<10\%$ )
Нечасто	3	$>1/1000$ - $<1/100$ ( $>0.1\%$ - $<1\%$ )
Рідко	2	$>1/10000$ - $<1/1000$ ( $>0.01\%$ - $<0.1\%$ )
Дуже рідко	1	$<1/10000$ ( $<0.01\%$ )

Відповідно, шляхом комбінації ймовірності настання шкоди і тяжкості цієї шкоди отримано матрицю ризиків для визначення рівня прийнятності ризику (Таблиця).

За даною матрицею рівень ризику від 1 до 9 є низьким (не потребує обов'язкового зниження рівня), а від 10 до 25 є високим (потребує обов'язкового зниження рівня).

Таблиця 3.4

#### Матриця ризиків для визначення рівня прийнятності ризику

Тяжкість \ Ймовірність	1	2	3	4	5
1	1	2	3	4	5
2	2	4	6	8	10
3	3	6	9	12	15
4	4	8	12	16	20
5	5	10	15	20	25

Незважаючи на отриману первинну оцінку ризику, кожен ідентифікований ризик, незалежно від його рівня, повинен бути знижений наскільки це можливо. Виробник повинен визначити та задокументувати відомі та передбачувані небезпеки пов'язані з медичним виробом, на основі даних щодо використання МВ за призначенням як у нормальних умовах, так і в умовах несправності.

Для кожної ідентифікованої небезпеки виробник повинен розглянути передбачувану послідовність або комбінацію подій, які можуть призвести до небезпечної ситуації, а також ідентифікувати та задокументувати небезпечну ситуацію, що може виникнути у наслідку. І, на завершення, необхідним є визначення заходу контролю ризику для мінімізації рівня даного ризику на скільки це можливо.

Кожна з характеристики якості, яка включається в специфікацію на медичний виріб являються заходами контролю певного ризику і дозволяє мінімізувати даний ризик до визначеного рівня. В Таблиця 3.5 нижче представлено ризики, які

мінімізуються за рахунок внесення в специфікацію загальних вимог, застосованих до медичного виробу будь-якої категорії.

Таблиця 3.5

**Таблиця ідентифікації загальних показників якості МВ як заходів  
мінімізації ризиків**

№	Небезпека	Розумно передбачувані послідовності або комбінації подій	Небезпечна ситуація	Шкода	Заходи контролю ризику для мінімізації впливу ризику
1	2	3	4	5	6
1.	Невідповідні експлуатаційні і характеристики медичного виробу	Наявність дефектів чи відхилень в конструкції медичного виробу. Вплив на функціональність та безпечність медичного виробу	Використання медичного виробу невідповідної якості	Травмування користувача/ пацієнта	Контроль за показником <b>Зовнішній вигляд</b>
2.	Пакувальні матеріали невідповідної якості/ Пошкоджене пакування готового медичного виробу	Порушення цілісності пакування. Вплив зовнішніх факторів на експлуатаційні характеристики медичного виробу	Використання медичного виробу невідповідної якості	Травмування користувача/ пацієнта	Контроль за показником <b>Цілісність пакування</b>
3.	Друковано-пакувальні матеріали з невідповідним маркуванням	Використання медичного виробу з невідповідним маркуванням	Помилки при застосуванні медичного виробу	Непередбачений вплив на пацієнта чи користувача/ прояв побічних реакцій	Контроль за показником <b>Маркування</b>

1	2	3	4	5	6
4.	Втрата експлуатаційних характеристик медичного виробу	Медичний виріб не витримує впливу дії кліматичних факторів. Втрати експлуатаційних характеристик медичного виробу під час зберігання	Використання медичного виробу невідповідної якості	Травмування користувача/ пацієнта	Контроль за показником <b>Перевірка стійкості до дії кліматичних факторів</b>
5.	Втрата експлуатаційних характеристик медичного виробу	Медичний виріб не витримує впливу дії механічних факторів. Втрата експлуатаційних характеристик медичного виробу під час транспортування	Використання медичного виробу невідповідної якості	Травмування користувача/ пацієнта	Контроль за показником <b>Перевірка стійкості механічних факторів</b>
6.	Втрата стерильності медичного виробу	Помилка в режимі стерилізації	Застосування нестерильного медичного виробу	Інфікування пацієнта	Контроль за показником <b>Стерильність</b>
7.	Медичний виріб з високим рівнем мікробного вірусного забруднення до процесу стерилізації	Використання матеріалів невідповідного рівня чистоти. Порушення функціонування чистих приміщень виробництва. Показник БЕТ перевищує допустимі норми	Використання медичного виробу з підвищеними рівнем БЕТ	Прояв пірогенних реакцій	Контроль за показником <b>Бактеріальних ендотоксинів</b>
8.	Втрата експлуатаційних характеристик медичного виробу	Вплив процесу стерилізації на якість медичного виробу. Порушення функціональності та безпечності медичного виробу	Використання медичного виробу невідповідної якості	Травмування користувача/ пацієнта	Контроль за показником <b>Стійкість до стерилізації</b>

1	2	3	4	5	6
9.	Хімічна небезпека/ радіаційна небезпека	Відсутність контролю за показником Залишкова кількість етиленоксиду/радіаційного забруднення. Показник Залишкова кількість етиленоксиду/радіаційне забруднення перевищує допустимі норми	Використання медичного виробу з підвищеним рівнем Залишкової кількості етиленоксиду/радіаційного забруднення	Прояв побічних реакцій	Контроль за показником <b>Залишкова кількість етиленоксиду/радіаційне забруднення (залежно від методу стерилізації медичного виробу)</b>
10.	Медичний виріб з високим рівнем мікробного вірусного забруднення до процесу стерилізації	Відсутність контролю мікробного навантаження (до стерилізації). Показник БЕТ перевищує допустимі норми	Використання медичного виробу з підвищеними рівнем БЕТ	Прояв пірогенних реакцій	Контроль за показником <b>Мікробне навантаження</b>
11.	Пакувальні матеріали невідповідної якості	Порушення герметичності пакування Втрата стерильності медичного виробу	Використання забрудненого медичного виробу	Інфікування користувача/пацієнта	Контроль за показником <b>Герметичність пакування</b>

Для кожного медичного виробу залежно від його специфіки і сфери застосування рівень ймовірності його виникнення і тяжкості наслідків оцінюється індивідуально.

Вимоги міжнародних стандартів регламентують перелік характеристик та їх допустимі межі контролю для певних видів МВ. Наприклад, ISO 7864 [93] описує вимоги до МВ Голки ін'єкційні, ISO 10555-3 [94] до МВ канюлі інфузійні тощо. При наявності стандарту, який описує вимоги до продукту, необхідним є проведення аналізу даного стандарту щодо необхідних показників контролю якості. На основі

проведеного аналізу визначається перелік характеристик контролю якості та критерії їх прийнятності.

Наступними є вимоги, визначені специфікою продукту. Тобто ті, які визначаються необхідними до контролю для підтвердження якості, безпеки та ефективності продукту зважаючи на специфіку його конструкції, складу, застосування тощо, та базуються аналогічним чином на основі оцінки ризиків настання небезпечної ситуації та нанесення шкоди пацієнту при їх використанні згідно інструкції. В Таблиця представлено матрицю оцінки ризиків для медичного виробу імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти, згідно якої формуються показники якості відповідного продукту.

## Матриця оцінки ризиків для медичного виробу імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти

№	Небезпека	Розумно передбачувані послідовності або комбінації подій	Небезпечна ситуація	Шкода	Початковий рівень ризику			Заходи контролю ризику	Рівень ризику після впровадження заходів контролю			Рівень ризику знижено на скільки це можливо?
					Ймовірність	Тяжкість	Рівень ризику		Ймовірність	Тяжкість	Оцінка залишкового ризику	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1.	Біологічна небезпека (стерильність)	Використання невідповідного методу стерилізації медичного виробу. Отримання нестерильного виробу	Застосування нестерильного медичного виробу	Інфікування пацієнта	3	4	12	Проведення підбору методу та режиму стерилізації для МВ; валідація обраного методу.	2	4	8	Ризик знижено на скільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2.	Біологічна небезпека (біосумісність)	Відсутність або недостатній об'єм даних щодо біосумісності медичного виробу	Використання біологічно несумісного медичного виробу	Інтоксикація	3	4	12	Проведення контролю аномальної токсичності (показник СП)	2	4	8	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
3.	Біологічна небезпека (біосумісність)	Відсутність або недостатній об'єм даних щодо біосумісності медичного виробу	Використання біологічно несумісного медичного виробу	Прояв пірогенних реакцій	3	4	12	Проведення періодичних випробувань (кількість контролю 10 партій на рік) на апірогенність (показник СП)	2	4	8	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
4.	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Отримання некоректних результатів розрахунків. Невідповідність фактичного виходу проміжної продукції очікуваному. Виготовлення МВ невідповідної якості	Використання медичного виробу невідповідної якості	Непередбачений вплив на пацієнта /погіршення стану пацієнта	3	3	9	Проведення контролю показника Кількісний вміст натрію гіалуронату (показник СП)	2	3	6	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
5.	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Недотримання персоналом вимог ТІ/ПВП. Невідповідність показника рН. Виготовлення МВ невідповідної якості	Використання медичного виробу невідповідної якості	Непередбачений вплив на пацієнта /погіршення стану пацієнта	3	3	9	Проведення контроль показника рН (показник СП)	2	3	6	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
6.	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Не підтвердження альтернативності нового диспергатора. Порушення технологічного процесу (гомогенізації). Виготовлення медичного виробу невідповідної якості	Використання медичного виробу невідповідної якості	Прояв побічних реакцій	2	3	6	Проведення контролю показника Осмолярність та коефіцієнт зшивання (показник СП)	1	3	3	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
7.	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Температура транспортування не відповідає встановленим умовам зберігання продукції. Невідповідність проміжної продукції вимогам СП після транспортування. Виготовлення медичного виробу невідповідної якості	Використання медичного виробу невідповідної якості	Непередбачений вплив на пацієнта /погіршення стану пацієнта	3	3	9	Внесення в специфікацію показника Транспортні випробування (показник СП)	2	3	6	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
8.	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Відсутність або недостатній об'єм даних щодо стабільності медичного виробу	Деградація медичного виробу після виготовлення протягом визначеного терміну придатності	Прояв побічних реакцій/погіршення стану пацієнта	3	4	12	Проведення випробувань стабільність	2	4	8	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
9.	Друковано - пакувальні матеріали (невідповідність маркування)	Використання медичного виробу з невідповідним маркуванням	Помилки при застосуванні медичного виробу	Непередбачений вплив на пацієнта / травмування пацієнта	3	3	9	Проведення контролю показника Маркування (показник СП)	2	3	6	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
10	Біологічна небезпека (мікробне вірусне забруднення)	Пошкодження первинного пакування. Виріб негерметичний, вміст витікає зі шприца	Контамінація МВ	Інфікування пацієнта	2	4	8	Проведення контролю показника герметичності медичного виробу (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
11	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Недотримання режимів зберігання та транспортування МВ. Медичний виріб не витримує транспортування до місця призначення	Використання МВ невідповідної якості	Прояв побічних реакцій/травмування пацієнта	2	4	8	Проведення транспортних випробувань	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
12	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Невідповідність зовнішнього вигляду медичного виробу, непрозорість, наявність сторонніх домішок	Використання медичного виробу невідповідної якості	Непередбачуваний вплив (протяв побічних реакцій, інфікування)	2	4	8	Проведення контролю показника Контроль зовнішнього вигляду (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
13	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Недотримання персоналом вимог технологічної інструкції, розлив невідповідного гелю в шприци. Відсутній контроль за показником Ідентифікація. Вплив на функціональність та безпечність медичного виробу	Використання МВ з невідповідними заявленими експлуатаційними характеристиками Використання медичного виробу з невідповідними якісним і кількісним вмістом компонентів	Погіршення стану пацієнта /прояв симптомів передозування	2	3	6	Проведення контролю показника ідентифікації основного компоненту (показник СП)	1	3	3	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
14	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Відсутність контролю за показником Об'єм наповнення	Використання невідповідної дози медичного виробу	Погіршення стану пацієнта /прояв симптомів передозування	2	3	6	Проведення контролю показника об'єму наповнення шприца гелем (показник СП)	1	3	3	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
15	Біологічна небезпека (мікробне вірусне забруднення)	Виріб негерметичний, вміст витікає зі шприца	Контамінація МВ	Інфікування пацієнта	2	4	8	Проведення контролю показника герметичного первинного пакування (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
16	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Відсутність контролю за показником Кількісне визначення гіалуронату натрію	Використання медичного виробу невідповідної якості	Прояв побічних реакцій/погіршення стану пацієнта	2	4	8	Проведення контролю показника кількісного визначення гіалуронату натрію (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
17	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Виготовлення медичного виробу з невідповідною залишковою кількістю BDDE	Використання медичного виробу невідповідної якості	Прояв побічних реакцій	2	4	8	Проведення контролю показника кількісного визначення зшиваючого агента (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
18	Біологічна небезпека (мікробне вірусне забруднення)	Відсутність контролю за показником Бактеріальні ендотоксини. Показник БЕТ перевищує граничний вміст ендотоксинів	Використання медичного виробу з перевищенням граничної пірогенної дози	Прояв пірогенних реакцій	2	4	8	Проведення контролю показника вмісту бактеріальних ендотоксинів (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
19	Біологічна небезпека (мікробне вірусне забруднення)	Відсутність контролю мікробного навантаження (до стерилізації). Невідповідність нормам за мікробіологічними показниками	Використання медичного виробу з мікробним навантаженням, що перевищує норму	Прояв пірогенних реакцій	2	4	8	Проведення контролю показника мікробного навантаження (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
20	Експлуатаційні характеристики (порушення функціональності)	Виготовлення медичного виробу з невідповідним коефіцієнтом зшивання через невірну кількість зшиваючого агенту, недотримання температурних вимог синтезу або занадто інтенсивне перемішування гелю	Використання медичного виробу невідповідної якості	Прояв побічних реакцій	2	4	8	Проведення контролю показника коефіцієнту зшивання (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю
21	Біологічна небезпека (біосумісність)	Наявність токсичних характеристик готового продукту	Використання медичного виробу невідповідної якості	Інтоксикація	2	4	8	Проведення контролю показника гостра системна токсичність (показник СП)	1	4	4	Ризик знижено наскільки це можливо та немає потреби у впровадженні додаткових заходів контролю

Як видно з таблиці 3.6, при ідентифікації шкоди, аналізу розумно передбачуваної послідовності подій, які призводять до небезпечної ситуації та настання шкоди було ідентифіковано заходи контролю ризиків для їх мінімізації. Таким чином було визначено перелік показників контролю якості медичного виробу імплантату ін'єкційного на основі зшитої гіалуронової кислоти для включення в специфікацію контролю якості готового продукту:

1. Гостра системна токсичність
2. Пірогенність
3. Ідентифікація натрію гіалуронату
4. Кількісний вміст натрію гіалуронату
5. рН
6. Осмолярність
7. Коефіцієнт зшивання
8. Транспортні випробування
9. Мікробне навантаження
10. Коефіцієнт ефективності зшивання
11. Вміст бактеріальних ендотоксинів
12. Стерильність
13. Кількісного вмісту зшиваючого агенту
14. Герметичності первинного пакування медичного виробу
15. Об'єм наповнення
16. Контроль зовнішнього вигляду МВ
17. Маркування

У зв'язку з цим було заплановано провести валідацію основного показника для імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти, а саме методики контролю кількісного визначення гіалуронату натрію, а також валідації технологічного процесу виготовлення МВ.

### 3.2 Валідація методики контролю якості кількісного вмісту натрію гіалуронату в імплантатах ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти

Однією з ключових характеристик якості медичного виробу імплантату ін'єкційного на основі гіалуронової кислоти є кількісний вміст гіалуронату натрію як основного компоненту, від якого залежить ефективність застосування продукту. Даний показник якості є одним з ключових в ході валідації технологічного процесу готового продукту.

В літературі описано різні методи для кількісного визначення гіалуронової кислоти. Деякі з них описано нижче:

- Карбоазольний (уроновокислотний) колориметричний тест — класичний колориметричний метод для визначення загальної кількості уронових кислот [95];
- Іон-парна / деградаційна високоефективна рідинна хроматографія (кількісне визначення продуктів гіалуронідазного розщеплення) — застосовується при кількісному визначенні ГК в тканинах і біофлюїдах [96];
- ВЕРХ/УФ для кількісного визначення ГК в різного типу препаратах — застосовують для контролю вмісту ГК у дієтичних добавках та фармацевтичних гелях [97];
- ELISA / імуноферментні тести — комерційні ELISA-кіт-методи (антитела до НА або НА-binding protein-based assays) використовуються для конкретного вимірювання intact НА у плазмі/сироватці й проходять валідацію для біоматеріалів [98], тощо

В ході дослідження контролю кількісного вмісту гіалуронату натрію нами було обрано методику, яка описана в Європейській Фармакопеї для субстанції гіалуронату натрію, а саме методику кількісного визначення гіалуронату натрію методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області за результатами дериватизації.

Кількісне визначення концентрації гіалуронату натрію проводиться на основі реакції її компоненту - D-глюкуронової кислоти - з карбазолом. Реакція ґрунтується на попередньому нагріванні розчину з додаванням концентрованої сірчаної кислоти.

В результаті глюкуронова кислота перетворюється на хромоген – 5-форміл-2-фуранкарбонову кислоту (ФФК) [99] (рис. 3.1).

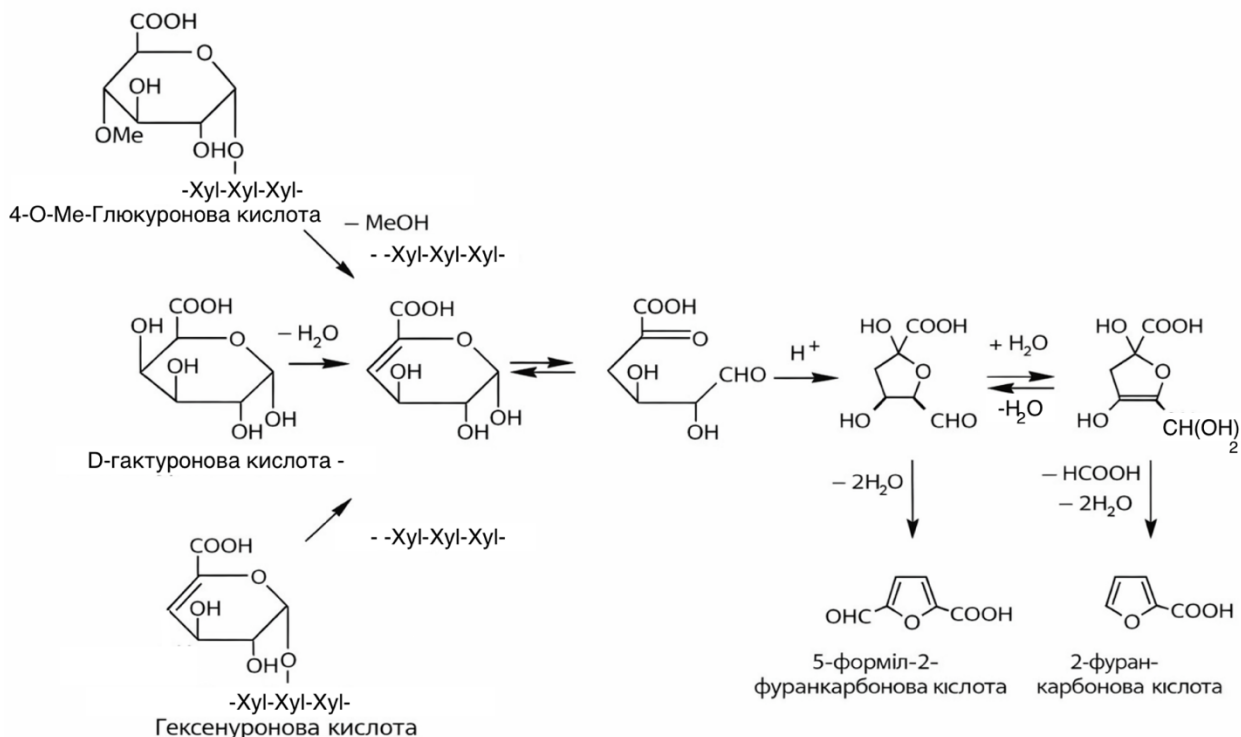


Рис 3.1 Реакція D-глюкуронової кислоти з карбазолом

Саме ФФК реагує з карбазолом, в результаті чого виникає рожеве забарвлення, а продукт реакції має максимум поглинання при 525-530 нм. Дана методика є валідованою для субстанції, включена до монографії ЄФ [100].

Для підтвердження можливості використання даної методики саме для визначення ГК в складі досліджуваних продуктів було проведено валідацію визначення натрію гіалуронату в лінійці медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти 1,1%, 18%, 2,2%, 2,5%, 3,3%. В даному розділі представлено отримані експериментальні дані, критерії валідності та статистичні розрахунки, що демонструють валідність методики в досліджуваних умовах та можливість її використання для визначення гіалуронату натрію в готовому медичному виробі.

Для підтвердження придатності методики було обрано наступні критерії: специфічність, діапазон застосування методики, правильність, прецизійність, лінійність.

*Специфічність*: вміст гіалуронату натрію, визначений за даною методикою для приготованих розчинів гіалуронату натрію 0,011 г/мл, 0,018 г/мл, 0,022 г/мл та 0,033 г/мл повинен співпадати з вмістом гіалуронату натрію в розчинах, приготованих на основі медичного виробу з вмістом гіалуронової кислоти 1,1%, 1,8%, 2,2%, 2,5%, 3,3% (останні три взяті як модельні розчини продуктів в розробці за межами лінійки). Відносні стандартні відхилення (RSD) не повинні перевищувати 2%.

В результаті випробування та підтвердження специфічності методики були отримані значення вмісту гіалуронату натрію, які наведені в Таблиці 3.7.

Таблиця 3.7.

### Результати дослідження методики на специфічність

№	Досліджувані розчини	Отриманий результат кількісного вмісту гіалуронату натрію, г/мл	RSD
1	Імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти 1,1%	0,0108	1,428
	Приготований з стандарту розчин гіалуронату натрію 0,0110 г/мл	0,0110	
2	Імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти 1,8%	0,0179	1,414
	Приготований з стандарту розчин гіалуронату натрію 0,0180 г/мл	0,0182	
3	Імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти 2,2%	0,0212	1,458
	Приготований з стандарту розчин гіалуронату натрію 0,0220 г/мл	0,0216	
4	Імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти 2,5%	0,0249	0,708
	Приготований з стандарту розчин гіалуронату натрію 0,0250 г/мл	0,0252	
5	Імплантат ін'єкційний на основі гіалуронової кислоти 3,3%	0,0324	0,479
	Приготований з стандарту розчин гіалуронату натрію 0,0330 г/мл	0,0327	

Як видно з Таблиці 3.7, RSD у всіх випадках менше 2. Відповідно до отриманих результатів, методика є підтвердженою на специфічність визначення гіалуронату натрію в медичному виробі Імплантат ін'єкційний.

Діапазон застосування методики: діапазон застосування методики повинен відповідати мінімально допустимому діапазону застосування методики для кількісного визначення, тобто від 80% до 120% від номінального значення.

Як видно з Таблиці 3.8, діапазон застосування методики відповідає мінімально допустимому діапазону застосування методики для кількісного визначення від 80% до 120% від номінального значення.

Таблиця 3.8

**Аналітичні сигнали, що відповідають вмісту гіалуронату натрію для модельних розчинів, отриманих при вимірюванні за досліджуваною методикою для підтвердження діапазону застосування**

Кількісний вміст в % до номінального (0,085 мг/г)	Аналітичний сигнал, абсорбція	Середній аналітичний сигнал, абсорбція	RSD, %
1	2	3	4
80	0,237	0,237	0,243
	0,238		
	0,237		
85	0,257	0,257	0,244
	0,258		
	0,257		
90	0,266	0,266	0
	0,266		
	0,266		
95	0,285	0,286	0,202
	0,286		
	0,286		
100	0,297	0,298	0,194
	0,298		
	0,298		
105	0,314	0,313	0,369
	0,314		
	0,312		
110	0,325	0,325	0
	0,325		
	0,325		

1	2	3	4
115	0,343	0,343	0,292
	0,344		
	0,342		
120	0,358	0,359	0,161
	0,359		
	0,359		

Систематична похибка не перевищує максимально допустиму невизначеність аналізу. Таким чином виконується критерій практичної незначущості.

*Правильність*: систематична похибка статистично повинна відрізнятися від нуля (відхилення  $Z^-$  від 100 % не має перевищувати свій довірчий інтервал). Якщо цей критерій (критерій статистичної незначущості) не виконується, повинен виконуватися критерій практичної незначущості, згідно з яким систематична похибка не повинна перевищувати максимально допустиму невизначеність аналізу.

*Прецизійність* (точність): односторонній довірчий інтервал  $\Delta_z$  не повинен перевищувати максимально допустиму невизначеність аналізу  $\Delta_{AS}$ .

*Лінійність*: підтвердження здатності методики надавати результати, які відповідають кількості аналізованої речовини у зразку.

Для дослідження лінійності методики було використано модельні розчини 9 концентрацій гіалуронату натрію в межах діапазону методики. Отримані результати наведено в Таблиці 3.9.

По отриманим результатам проведено розрахунки з використанням підходу застосування принципу незначущості і нормалізації координат, рекомендованого Державною Фармакопеею України (ДФУ) [101] «Валідація аналітичних методик і випробувань».

Вимоги до вільного члена (а) - вільний член не повинен перевищувати свій довірчий інтервал ( $\Delta_a$ ), якщо цей критерій (критерій статистичної незначущості) не виконується, повинен виконуватись критерій практичної незначущості, згідно з яким внесок вільного члену в невизначеність результату аналізу повинні бути незначущими в порівнянні з максимально допустимою невизначеністю аналізу.

Вільний член а для даної методики дорівнює 0,8807 і є меншим за значення від довірчого інтервалу, якій дорівнює 6,0333.

Приведення концентрації та аналітичних сигналів до нормалізованих координат розраховувалось за формулами:

$$X_i = \frac{C_i}{C_{st}} * 100\% \quad (3.1),$$

$$Y_i = \frac{A_i}{A_{st}} * 100\% \quad (3.2),$$

$$Z_i = \frac{Y_i}{X_i} * 100\% \quad (3.3)$$

Де  $X_i$  та  $Y_i$  – нормалізовані координати;  $Z_i$  – співвідношення «знайдено/введено» для оцінки правильності та прецизійності;  $C_i$  – концентрація речовини, що аналізується в зразку, мг/мл;  $C_{st}$  – концентрація цієї самої речовини в розчині;  $A_i$  – аналітичний сигнал для досліджуваного розчину, мг/мл;  $A_{st}$  – аналітичний сигнал цієї самої речовини в розчині порівняння, мг/мл.

Таблиця 3.9

**Лінійність, правильність та прецизійність методики кількісного визначення гіалуронату натрію методом спектрофотометричного визначення**

Кількісний вміст в % до номінального (0,170 мг/мл)	$C_i$ досліджувана концентрація, мг/мл	$C_x$ отримана концентрація за результатами дослідження, мг/мл	Нормалізовані координати $X_i$	Нормалізовані координати $Y_i$	$Z_i$ – співвідношення «знайдено/введено»
80%	0,136	0,135	79,941	79,235	99,117
85%	0,146	0,147	85,000	86,529	101,799
90%	0,153	0,150	90,059	88,353	98,106
95%	0,162	0,164	95,000	95,588	100,619
100%	0,170	0,170	100,011	99,719	99,706
105%	0,179	0,179	105,000	105,235	100,224
110%	0,187	0,184	109,824	108,059	98,393
115%	0,195	0,195	115,000	114,647	99,693
120%	0,204	0,204	120,059	120,000	99,951
$C_{st} = 0,170$					
$\max \Delta_{As} = 3,2$					

Розрахунок одностороннього довірчого інтервалу для оцінки прецизійності методики проводився за формулою:

$$s_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} = 1,1274 \quad (3.4)$$

$$\Delta_z = s_z(\%) * t(95\%, n - 1) \leq \Delta_{As} \quad (3.5)$$

$$2,0964 \leq 3,2 \quad (3.6)$$

де  $\Delta_z$ - односторонній довірчий інтервал;  $\Delta_{As}$ - максимально допустима невизначеність аналізу;  $s_z(\%)$  - стандартне відхилення, виражене у відсотках, розраховане для співвідношення «знайдено/введено» для всіх розчинів;  $t(95\%; n - 2)$  – коефіцієнт Стюдента для довірчої ймовірності 95% і числа ступеня свободи  $n - 2$ ;  $n$  – об'єм вибірки.

Односторонній довірчий інтервал не перевищує максимальну недопустиму невизначеність аналізу, що підтверджує точність методики.

Розрахунок RSD проводився за формулою:

$$RSD = s_r * 100 \%, \quad (3.7)$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \quad (3.8)$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_1^n x_i^2 - n * \bar{x}^2}{n-1}} \quad (3.9)$$

де RSD - відносне стандартне відхилення в процентах;  $s_r$  – відносне стандартне відхилення;  $s$  – дисперсія;  $\bar{x}$  – середнє значення вибірки;  $n$  – об'єм вибірки.

Вимоги до залишкового стандартного відхилення ( $S_0$ ) - довірчий інтервал розкиду точок навколо прямої не повинен перевищувати гранично допустиму невизначеність аналізу  $\Delta_{As}$ . Залишкове стандартне відхилення відповідає 1,2234 і є меншим за 3,2, що задовольняє вимоги.

Розрахунок критеріїв незначущості для оцінки правильності методики проводився за формулою розрахунку критерію статистичної незначущості та критерію практичної незначущості.

Критерій статистичної незначущості:

$$\delta\% = |\bar{Z} - 100| \leq \frac{\Delta_z}{n} \quad (3.10)$$

$$0,2657 \leq 0,6988$$

Критерій практичної незначущості:

$$\delta\% = |\bar{Z} - 100| \leq \Delta_{As} \quad (3.11)$$

$$0,2657 \leq 3,2$$

де  $\delta$  - систематична похибка.

Односторонній довірчий інтервал не перевищує максимально допустиму невизначеність аналізу  $\Delta_{As}$ .

Довірчий інтервал розкиду точок довкола прямої не перевищує гранично допустиму невизначеність аналізу  $\Delta_{As}$ . Вимоги до залишкового стандартного відхилення (S0) виконуються.

Критерій статистичної незначущості виконується. Внесок вільного члена в невизначеність результату аналізу не має значення у порівнянні з максимально допустимою невизначеністю аналізу, критерій практичної незначущості виконується.

Вимоги до коефіцієнту кореляції ( $r$ ) відображені у формулі нижче.

$$r \geq \sqrt{1 - \left(\frac{\Delta_{As}}{s_y * t(95\%; n-2)}\right)^2} \quad (3.12)$$

$$0,9960 \geq 0,9923$$

де  $\Delta_{As}$  – невизначеність аналізу;  $s_y$  – стандартне відхилення;  $t(95\%; n - 2)$  – коефіцієнт Стьюдента для довірчої ймовірності 95% і числа ступеня свободи  $n-2$ .

Вимоги до коефіцієнту кореляції  $r$  виконуються.

Таким чином, всі статистичні обрахунки, наведені вище задовільняють встановлені вимоги та підтверджують успішність проведеної валідації.

Отримані результати статистично підтверджують відповідність специфічності, лінійності, правильності та прецизійності аналітичної методики кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках Імплантатах ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти 1,8%, 2,2%, 2,5%, 3,3%, критеріям прийнятності відповідно до вимог ДФУ[102]. Відповідно, валідація підтверджує можливість використання фармакопейної методики визначення кількісного вміст гіалуронату натрію в субстанції для визначення кількісного вмісту гіалуронату натрію в медичних виробках імплантатах ін'єкційних на основі незшитої гіалуронової кислоти у формі гелю [103].

### 3.3 Валідація технологічного процесу виготовлення медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі зшитої гіалуронової кислоти

Як було представлено в Розділі 1, все більшого поширення та застосування досягають імплантати ін'єкційні з використанням саме зшитої гіалуронової кислоти. На показник зшивання та морфологічні властивості гелю впливає не лише концентрація обох речовин під час синтезу, а і температура середовища, час синтезу та технологія перемішування гелю під час зшивання. У процесі перемішування гелю великою порцією у реакторі та перемішування частинами гелю з подальшим об'єднанням з використанням однакових концентрацій BDDE, гіалуронової кислоти та допоміжних речовин синтезуються гелі з різною ефективністю зшивання [1104]. Гель, який перемішувався частинами, був значно стабільнішим і виявляв вищу стійкість до активності гіалуронідази. Рівень стабільності гелю визначається ступенем модифікації та зшивання гіалуронової кислоти (ГК), які можна визначити методом розщеплення зшитої ГК ферментом хондроїтиназою, а продукт розщеплення проаналізувати за допомогою ексклюзійної хроматографії в поєднанні з електророзпилювальною іонізаційною мас-спектрометрією (SEC–ESI-MS) [105].

Відповідно, в процесі розробки медичного виробу необхідним є підбір параметрів кожного етапу виробничого процесу для досягнення необхідних характеристик гідрогелю.

Імплантати ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти випускаються у формі попередньо наповнених шприців. За останнє десятиліття попередньо наповнені шприци стали дуже популярним методом доставки фармацевтичних продуктів. З попередньо наповненим шприцом процес введення медичного виробу або лікарського засобу може бути безпечнішим, швидшим і легшим як для медичного персоналу, так і для пацієнта.

Використання попередньо наповнених шприців зменшує кількість необхідних кроків проведення для ін'єкції, тим самим знижуючи ризик травмування пацієнта та лікаря, перехресного зараження, а також забезпечуючи досягнення точності дозування так як є медичними виробами одноразового застосування.

Процес наповнення гелю у шприци є завершальним етапом виробництва після проведення синтезу. Тому перед наповненням шприців гелем необхідним є проведення проміжного контролю продукту, а саме перевірка відповідності показників специфікації гелю, таких як концентрація гіалуронової кислоти, граничний вміст зшиваючого агента, мікробіологічна чистота для уникнення ризику росту бактеріальних ендотоксинів після стерилізації, в'язкість, тощо.

Згідно з регуляторними вимогами ЄС та України імпланти ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти класифікуються як медичні вироби III класу ризику. Адже оскільки гіалуронова кислота вводиться ін'єкційно і ризик використання неякісного продукту є високим, необхідним є підтвердження безпеки та ефективності її застосування для пацієнта та мінімізація будь яких ризиків отримання продукту невідповідної якості в процесі його виробництва.

Для досягнення передбачуваних характеристик готового продукту у промислових масштабах після проведення розробки технологічного процесу та встановлення необхідних параметрів синтезу, надзвичайно важливим є проведення контролю критичних точок технологічного процесу при виготовленні кожної нової партії медичного виробу.

Валідація процесу - це термін, який використовується в галузі фармацевтичного виробництва для доведення того, що процес підлягає ретельному контролю і результат процесу може бути практично гарантованим [12]. Валідація процесу передбачає демонстрацію того, що коли технологія працює в заданих межах, вона буде постійно виробляти продукт, який відповідає заздалегідь визначеним вимогам, які було визначено на етапі проектування та розробки. В рамках системи управління якістю валідація процесу полягає у формуванні документального підтвердження того, що конкретна процедура забезпечує постійне і безперебійне виготовлення продукту, який відповідає попередньо визначеним специфікаціям [105]. Валідація проводиться шляхом контролю показників, які визначаються саме на критичних точках технологічного процесу. Для формування їх переліку необхідним є збір валідаційної групи та формування оцінки ризиків згідно ISO 14971 [13] для визначення тих

процесів, які мають найбільший вплив на якість готового медичного виробу і, відповідно, його безпечність та ефективність для пацієнта.

Для можливості ідентифікації цих критичних точок проводиться аналіз кожного етапу технологічного процесу та визначаються параметри, які відображають правильність ходу та виконання кожного підпроцесу для забезпечення отримання якісного продукту згідно встановленої специфікації та впливають на досягнення необхідних характеристик продукту [106, 107]. В якості інструменту такого аналізу може бути використана діаграма Ісікави.

У Державному стандарті України (ДСТУ) 31010 [108] аналіз за допомогою діаграми Ісікави називається «аналізування причинно-наслідкових зв'язків». До групи аналізу причинно-наслідкових зв'язків повинна входити група експертів, які добре володіють інформацією щодо предмету аналізу для можливості враховувати всі відомі ризики, проаналізувати зв'язки між ними та якістю продукції, передбачити будь-які ситуації, що можуть повпливати на результат досліджуваного процесу.

Основні етапи аналізування причинно-наслідкових зв'язків згідно ДСТУ 31010 [108] наступні:

– визначення процесу, який підпадає під аналіз та підпроцесів, які мають вплив на кінцевий результат; вплив може бути як позитивним, так і негативним залежно від обставин;

– визначення основних категорій впливу на процес, відображених блоками на діаграмі Ісікави: персонал, обладнання, середовище, тощо.

Результат такого аналізу відображається у вигляді вищезгаданої діаграми Ісікави у формі так званої «риб'ячої кістки». Діаграму Ісікави структурують поділом основних категорій впливу на процес (подані лініями, що відходять від ри�'ячого хребта) та другорядні підпроцеси використовуючи додаткові гілки, які деталізують вплив основного процесу на об'єкт аналізу.

Предметом аналізу при підготовці до валідації технологічного процесу виготовлення імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти є отримання безпечного та якісного готового медичного виробу, який відповідає потребам користувача та заявленим споживчим характеристикам. На основі аналізу робочою

групою було визначено критерії/процеси, які мають вплив на кінцевий результат, та підпроцеси, контроль яких необхідно забезпечувати.

Першим критерієм було визначено середовище, в якому відбувається технологічний процес. А саме рівень його чистоти згідно ISO 14644-1 [109]. Підпроцесом, який є необхідним для мінімізації ризику негативного впливу, в даному випадку є проведення періодичного контролю параметрів чистих приміщень, що забезпечується періодичною кваліфікацією.

Наступним критерієм є персонал, а саме наявність необхідного рівня кваліфікації та посадових інструкцій, які мінімізують ризик наявності помилки та людського фактору.

Також важливим є контроль обладнання, яке використовується в технологічному процесі: проведення кваліфікації та калібрування відповідного обладнання та допуск до роботи з ним лише персоналу з належним рівнем кваліфікації.

Матеріали, які використовують в технологічному процесі, мають один з найбільших впливів на якість готового продукту. Відповідно, кожен виробник медичних виробів повинен забезпечити кваліфікацію постачальників вихідної сировини згідно ISO 13485 [12] та проводити вхідний контроль кожної нової партії сировини від затвердженого постачальника згідно внутрішньої специфікації.

І найбільш критичним є сам технологічний процес та рецептура виготовлення медичного виробу. Підпроцесами в даному випадку було визначено відтворюваність рецептури розробленої в лабораторії безпосередньо на виробництві та правильність ходу самого технологічного процесу. Відтворюваність рецептури забезпечується проведенням трансферу технології з лабораторії розробки на виробництво шляхом виготовлення дослідно-промислових партій та контролю якості готового продукту відповідно до внутрішньої специфікації.

Для правильності ходу технологічного процесу було визначено ряд підпроцесів, які мають на нього основний вплив. Саме ці елементи і являються критичними точками, що підпадатимуть під валідацію:

Синтез: контроль температури розчину, швидкість та час перемішування, час синтезу та завантаження вихідної сировини в реактор. На даному етапі відбувається зшивання продукту (зв'язування ланцюгів гіалуронату натрію з агентом, що зшиває). Зазначені характеристики впливають на ефективність і досягнення необхідного відсотку зшивання, реологію продукту та його споживчі характеристики.

Нейтралізація: враховуючи, що синтез відбувається в кислому середовищі для активізації зшиваючого агенту, необхідним є контроль етапу нейтралізації для досягнення фізіологічного рівня рН готового гелю.

Діаліз: вимивання залишків зшиваючого агенту з гелю. Враховуючи, що в якості агенту, що зшиває, найчастіше використовується токсичний ефір 1,4-бутандіолу, важливим є максимальне вимивання молекул даної речовини, що не прореагували.

Проміжний контроль: контроль мікробного навантаження гелю перед наповненням шприців та стерилізацією для мінімізації ризику наявності високого вмісту бактеріальних ендотоксинів в готовому продукті; а також контроль заявленої кількості гіалуронової кислоти в гелі.

Наповнення шприців: контролюється об'єм, що витягається з шприца, який має відповідати заявленому в інструкції з використання номінальному об'єму.

Стерилізація: обробка медичного виробу для знищення патологічних організмів та біологічних агентів для запобігання інфікування через медичний виріб.

Центрифугування: відділення повітря з гелю, аби уникнути потрапляння бульбашок повітря під час ін'єкції до тканин пацієнта.

Графічне відображення ідентифікованих процесів та підпроцесів зображено за допомогою діаграми Ісікави на рисунку 3.2 [110].

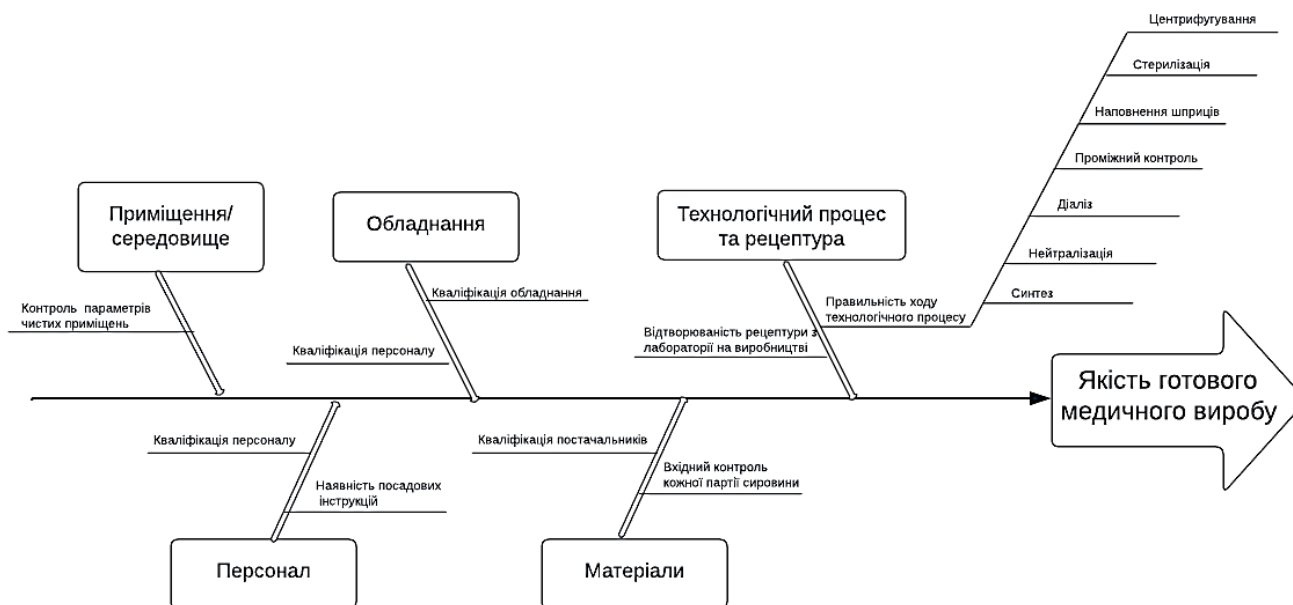


Рис 3.2. Діаграма Ісікави для відображення критичних процесів та підпроцесів для отримання якісного готового медичного виробу

Саме ці параметри підлягають контролю для кожної валідаційної партії. Метою валідації є перевірка та документальне підтвердження відповідності того, що процес виготовлення імплантатів в поєднанні з технічними засобами і встановленими вимогами здатний постійно забезпечувати стабільний випуск готової продукції медичних виробів належної якості відповідно до вимог внутрішньої специфікації. У Таблиці 3.10 представлено перелік визначених критичних точок для валідації технологічного процесу виготовлення імплантатів ін'єкційних на основі зшитої гіалуронової кислоти, їх параметри та допустимі робочі діапазони. Усі допустимі діапазони було підібрано практично в процесі розробки медичного виробу для досягнення необхідних характеристик готового продукту з мінімальними витратами виробничого ресурсу.

**Критичні точки технологічного процесу виготовлення імплантатів  
ін'єкційних на основі зшитої гіалуронової кислоти**

№	Процес	Параметр	Допустимий робочий діапазон
1	Синтез	Температура розчину в реакторі	$45.0 \pm 5.0$ °C
		Швидкість перемішування	$50 \pm 5$ обертів за хвилину
		Час перемішування	$50 \pm 5$ хвилин
		Час синтезу	$12 \pm 0,5$ годин
		Зважування вихідної сировини для синтезу продукту	Відповідно до технологічної інструкції та технологічного маршруту
2	Нейтралізація	Проміжний контроль: рН гелю гіалуронату натрію	6.5 – 7.5
		Швидкість перемішування	$55 \pm 5$ обертів за хвилину
3	Діаліз	Час діалізу	$40 \pm 1$ годин
4	Контроль проміжної продукції	Мікробне навантаження	Проводиться згідно результатів моніторингу
		Кількісний вміст натрію гіалуронату	Відхилення не більше 5%
5	Наповнення шприців	Об'єм, що витягається	Для 1 мл: 1.0-1.1 мл Для 2 мл: 2.0 – 2.15 мл
		Мікробіологічна чистота, бактеріальні ендотоксини	Відповідно до специфікації продукту
6	Стерилізація	Температура стерилізації	$121 \pm 5$ °C
		Час стерилізації	$8 \pm 1$ хв
7	Центрифугування	Час	1,5-1,6 хв
		Швидкість	3000 об/хв
8	Якість готового медичного виробу	Відповідність усім показникам специфікації готового продукту	

Залежно від етапу життєвого циклу медичного виробу, на якому було ідентифіковано необхідність проведення валідації, може бути обрано один з наступних підходів:

- Перспективна валідація;
- Супутня валідація;
- Ретроспективна валідація.

Перспективна валідація – це валідація, що проводиться до початку промислового виробництва продукту, тобто на етапі проєктування та розробки. Традиційним підходом є проведення валідації на дослідно-промислових партіях, якщо процес ще не масштабовано на виробництво. У такому випадку розмір дослідно-промислових партій повинен бути не менше 10% розміру комерційного виробництва. Класичним підходом є проведення валідації щонайменше на трьох дослідно-промислових партіях та формування валідаційного майстер-плану щодо проведення подальшої валідації на промислових партіях. Тобто супутньої валідації.

Супутня валідація проводиться в ході промислового виробництва продукту, який вже призначено для продажу, аналогічно, щонайменше на трьох партіях на основі обґрунтування кількості необхідних партій у протоколі валідації. Для супутньої, а також для ретроспективної валідації, рекомендовано проводити валідацію на послідовних партіях.

Останній варіант – ретроспективна валідація, тобто атестація партійного процесу виробництва реалізованого товару, заснована на отриманих даних про виробництво і контроль партій продукції, аналізі вже виготовлених та реалізованих досьє на партії (зазвичай, щонайменше 5). Ретроспективна валідація може бути застосована для добре вивчених процесів, які не зазнавали критичних змін протягом останнього часу. Такий підхід може стати найбільш застосованим для медичних виробів, які мають великий досвід промислового виробництва. Адже враховуючи посилення регуляторних вимог до даного типу фармацевтичної продукції, лише протягом останніх 2-3 років питання проведення валідації технологічного процесу медичних виробів стає все більш актуальним.

Варто зазначити, що на сьогодні EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use Volume 4 [Error! Reference source not found.111] вже не допускає проведення валідації ретроспективно без достатнього обґрунтування та доведення наявності необхідного рівня контролю та доказовості раніше випущених партій. Проте, по-перше, даний документ описує вимоги до виробництва лікарських засобів, а для медичних виробів процедура значно спрощена і, по-друге, українські діючі гармонізовані вимоги, а саме СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2015

ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ Належна виробнича практика [111], все ще визначає даний тип валідації як можливий.

В даному дослідженні було проведено ретроспективну валідацію технології виготовлення імплантатів ін'єкційних на основі поперечно зшитої гіалуронової кислоти. Для валідації було відібрано 7 партій імплантатів ін'єкційних, з яких було взято показники для валідаційних розрахунків.

В Таблиці 3.11 представлено показники, які було визначено вище згідно оцінки ризиків за діаграмою Ісікави та за якими проводилась валідація, відповідно. А також фактичні отримані значення до них з кожної партії.



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		Кількісний вміст гіалуронату натрію	Відхилення не більше 5%	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам
5	Наповнення шприців	Об'єм, що витягається	Для 2 мл: 2,0 - 2,15 мл	2,0	2,0	2,1	2,1	2,0	2,0	2,1
		Мікробіологічна чистота, бактеріальні ендотоксини	Відповідно до специфікації продукту	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам	Відповід ає вимогам
6	Стерилізація	Температура стерилізації	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С	121 ± 5 °С
		Час стерилізації	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв	8 ± 1 хв
7	Центрифугування	Час	1,5-1,6 хв	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
		Швидкість	3000 об/хв	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000
8	Кількісний вміст основного компонента	Кількісний вміст гіалуронату натрію	29,0 – 32,0 мг/мл	30,12	30,11	30,11	30,06	30,10	31,08	30,11

Більша частина цих показників є сталими, так як контролюються і задаються обладнанням, що проходить постійну планову кваліфікацію. Відповідно, такі показники мають сталі значення і не включаються у валідаційний розрахунок. Це такі показники як температура та тривалість стерилізації – параметри, які контролюються шафою стерилізації автоматично і не мають змінних даних.

Показники, які контролюються в ручну і мають вплив людського фактору, а також ті, які характеризують якість продукту, мають відмінні значення в межах допустимої норми і підлягають статистичному розрахунку. Для проведення статистичної обробки даних було використано метод побудови контрольних карт Шухарта згідно ISO 8258 [113]. Для даного випадку було обрано підхід побудови контрольних карт для кількісних даних, а саме контрольні карти для індивідуальних значень ( $X$ ). Для побудови карт було обрано показники рН, час діалізу (хв), об'єм, що витягається (мл) та кількісний вміст гіалуронової кислоти в готовому продукті (мг/мл).

Для побудови контрольних карт для індивідуальних значень контрольні межі розраховуються на основі даних, отриманих за ковзним розмахом двох спостережень. Контрольні карти було побудовано для кожного показника на основі середнього значення та середнього ковзного розмаху. Кожна карта Шухарта містить дві контрольні межі, які визначаються статистично: верхня контрольна межа (ВКМ) та нижня контрольна межа (НКМ). Показником статистичної якості значень є карта, в якій дослідні значення знаходяться в межах ВКМ та НКМ.

Контрольні межі нами було розраховано за формулами, наведеними в ISO 8258 [113]. Нижче наведені розраховані дані кожного з обраних показників та, відповідно, карти Шухарта до них. Важливо зазначити, що НКМ ( $R$ ) при  $n$  менше 7 не зображується.

**Показники рН технологічного процесу виготовлення імплантатів  
ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти**

Значення рН (X)	Середнє значення	ВКМ (X)	НКМ (X)	R, ковзний розмах	$\bar{R}$ , середній ковзний розмах	ВКМ (R)
7,35	7,38	7,43	7,33	-	0,02	0,07
7,40				0,05		
7,40				0		
7,40				0		
7,37				0,03		
7,35				0,02		
7,39				0,04		

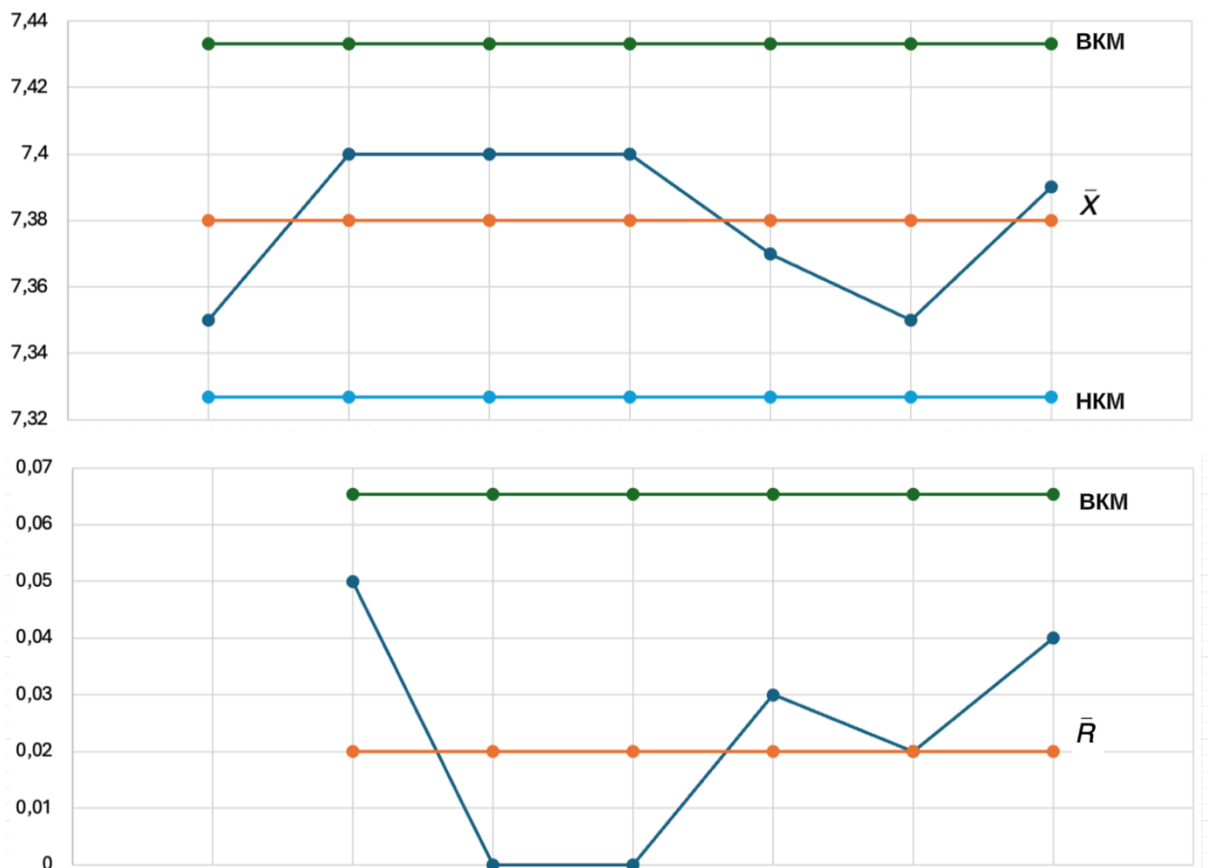


Рис 3.3. Карти Шухарта для індивідуальних значень рН

Виходячи з представлених даних на картах Шухарта, жодне значення показника рН не виходить за контрольні межі, що підтверджує статистичну якість контролю за показником рН.

**Показники об'єму, що витягається, технологічного процесу виготовлення  
імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти**

Значення об'єму що витягається, мл (X)	Середнє значення	ВКМ (X)	НКМ (X)	R, ковзний розмах	$\bar{R}$ , середній ковзний розмах	ВКМ (R)
2,0	2,0	2,16	1,92	-	0,04	0,14
2,0				0		
2,1				0,1		
2,1				0		
2,0				0,1		
2,0				0		
2,1				0,1		

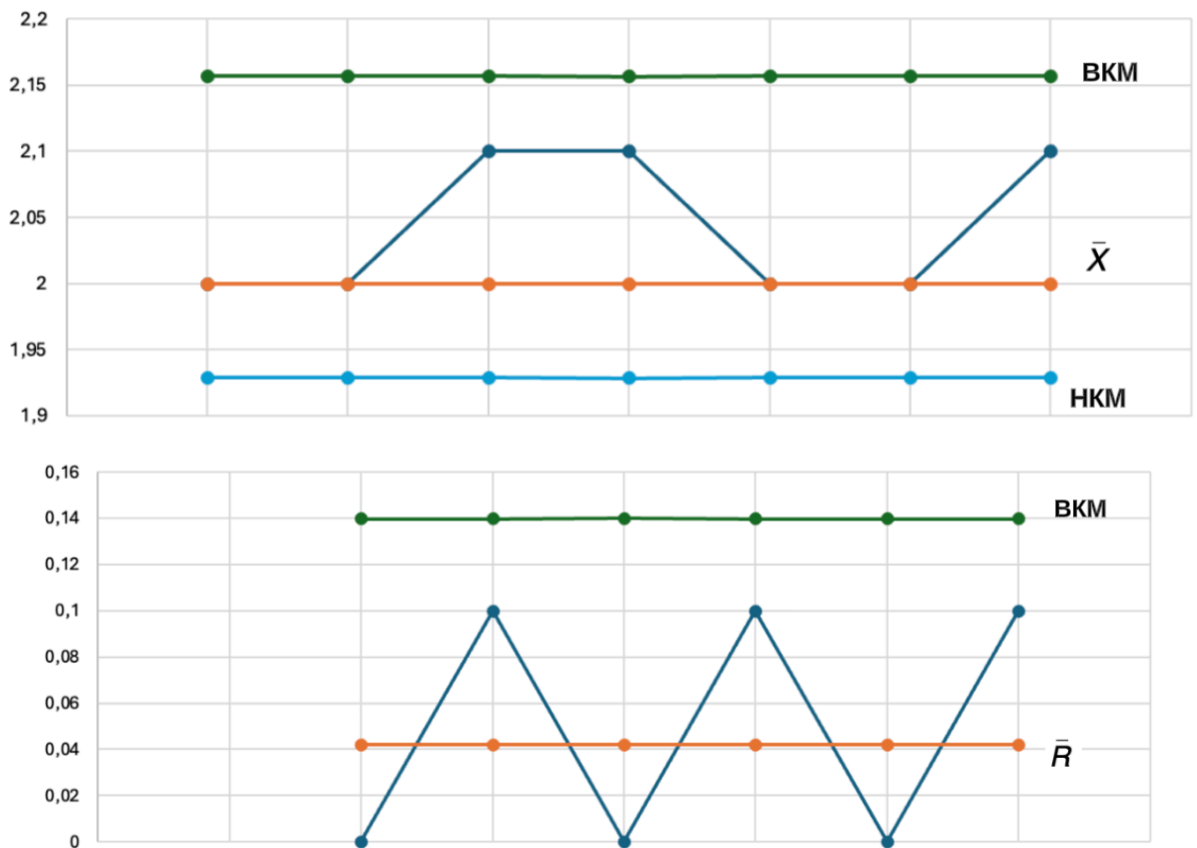


Рис 3.4. Карти Шухарта для індивідуальних значень об'єму, що витягається,

мл

Жодне значення показника об'єму, що витягається не виходить за контрольні межі, що підтверджує статистичну якість контролю за відповідним показником.

**Показники часу діалізу технологічного процесу виготовлення імплантатів  
ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти**

Значення часу діалізу, хв (X)	Середнє значення	ВКМ (X)	НКМ (X)	R, ковзний розмах	$\bar{R}$ , середній ковзний розмах	ВКМ (R)
2730	2841	2969	2714	-	48	156,8
2880				150		
2872				8		
2879				7		
2803				76		
2875				72		
2852				23		

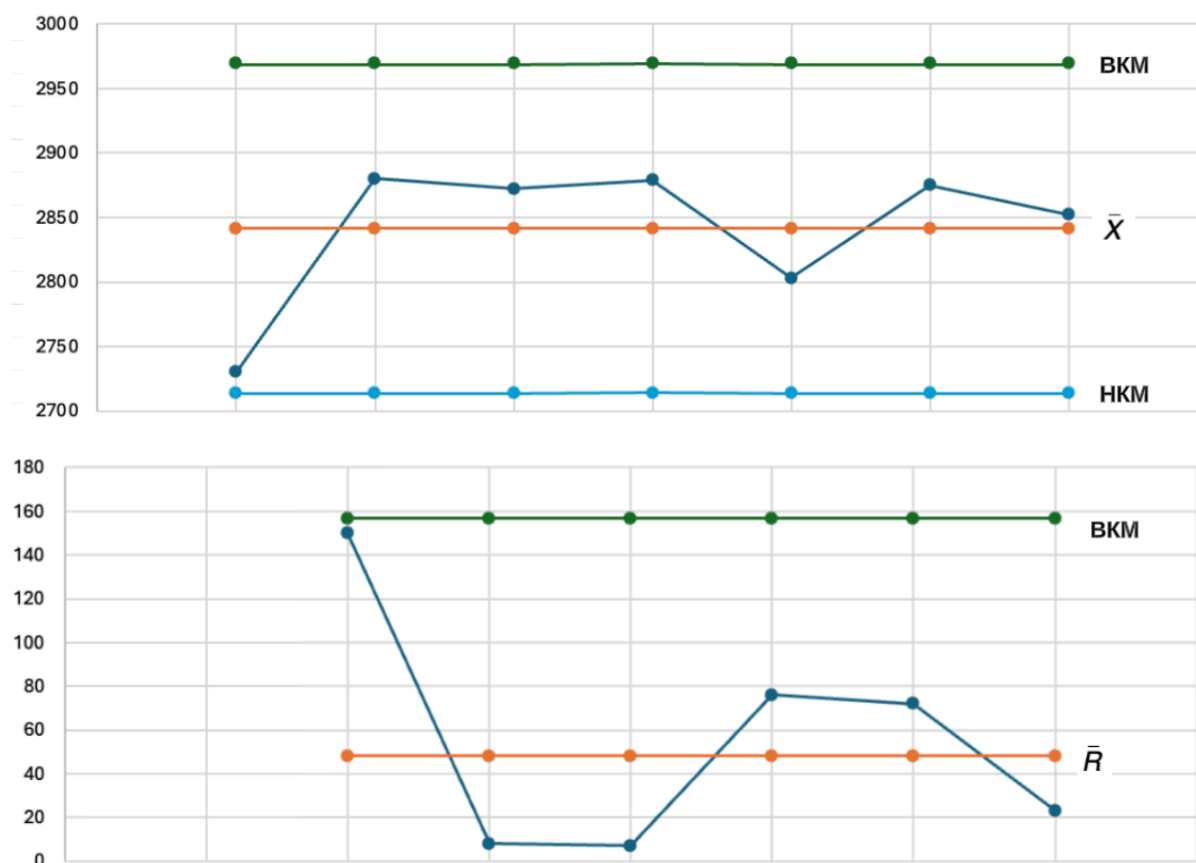


Рис 3.5. Карти Шухарта для індивідуальних значень часу діалізу, хв

Як видно з рисунку 3.5, жодне значення показника часу діалізу, що витягається не виходить за контрольні межі, що підтверджує статистичну якість контролю за відповідним показником.

**Показники кількісного вмісту ГК технологічного процесу виготовлення  
імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти**

Значення кількісного вмісту ГК, мг/мл (X)	Середнє значення	ВКМ (X)	НКМ (X)	R, ковзний розмах	$\bar{R}$ , середній ковзний розмах	ВКМ (R)
30,12	30,1	30,16	30,04	-	0,021	0,07
30,11				0,01		
30,11				0		
30,06				0,05		
30,1				0,04		
30,08				0,02		
30,11				0,03		

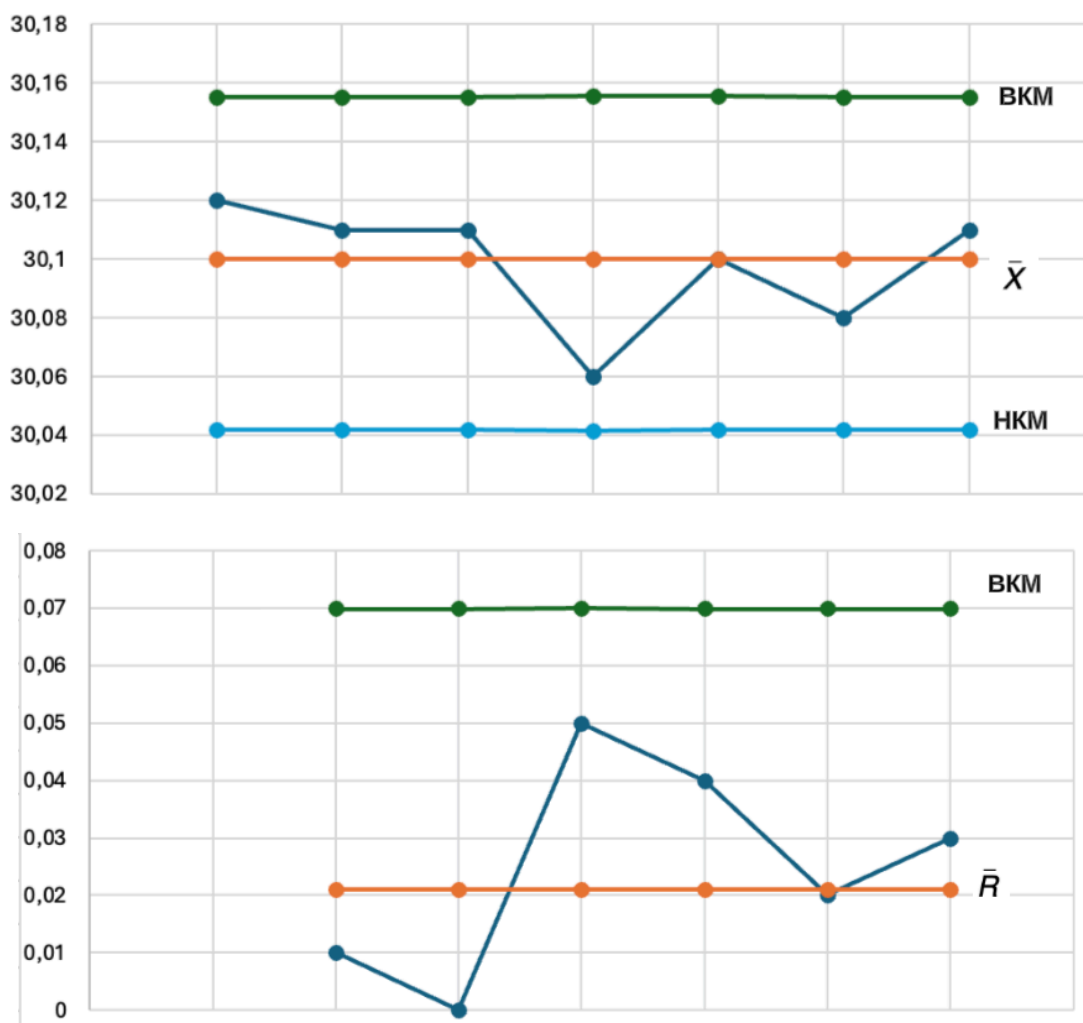


Рис 3.6. Карти Шухарта для індивідуальних значень кількісного вмісту гіалуронової кислоти, мг/мл

Для останнього контрольованого показника, а саме кількісного вмісту гіалуронової кислоти, жодне значення показника не виходить за контрольні межі, що підтверджує статистичну якість контролю за відповідним показником.

Таким чином нами було підтверджено відтворюваність та статистичну якість показників за контрольними критичними точками технологічного процесу, що підтверджує валідність технології виготовлення МВ імплантати ін'єкційні.

### Висновки до розділу 3

1. Розроблено алгоритм розробки та обґрунтування вибору показників якості медичного виробу імплантату ін'єкційного на основі гіалуронової кислоти, базуючись на процесі оцінки ризиків безпечності продукту згідно Настанови ISO 14971.

2. Для кількісного визначення гіалуронової кислоти у складі імплантатів ін'єкційних обрано методику ЄФ для натрію гіалуронату методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці за результатами дериватизації. Доведено прийнятність використання цієї методики для визначення вмісту натрію гіалуронату в складі імплантатів ін'єкційних проведенням валідаційних досліджень за результатами визначення правильності, точності та лінійності методики. Визначений діапазон застосування методики підтвердив її прийнятність для всієї лінійки імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти.

3. Проведено оцінку ризиків за результатами якої було побудовано діаграму Ісікави для визначення критичних точок технологічного процесу виготовлення імплантату ін'єкційного на основі гіалуронової кислоти, контроль яких є принципово важливим для отримання повторюваних та відтворюваних результатів процесу – отримання безпечного та ефективного готового продукту, що відповідає встановленій специфікації якості. Критичними точками, що підлягають валідації та контролю в процесі виробництва було визначення рН, час діалізу, об'єм, що витягається, та вміст основного компоненту МВ.

4. Проведено ретроспективну валідацію технологічного процесу за критичними точками з використанням статистичного методу обрахунку побудови карт Шухарта для відображення статистичної якості показників контрольних точок та доведено валідність технології. Валідацію проведено з урахуванням оновлених вимог Європейського Союзу щодо медичних виробів.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. An approach to the technological process validation of manufacturing medical devices using the example of injectable implants based on hyaluronic acid / I. Bondarets et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. Vol. 6(25). P. 111–123. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.319456.

2. Бондарець І. Р., Георгіянц В. А. Оцінювання придатності методики кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Health Education*. 2024. № 2. P. 117–124. DOI: 10.32782/health-2024.2.15.

3. Управління ризиками в розробці та життєвому циклі медичних виробів / І. Р. Бондарець та ін. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 507–509.

4. Бондарець І. Р., Сидоренко Л. В., Горохова О. В. Підхід до валідації технологічного процесу виготовлення медичних виробів. *Modern chemistry of medicines* : матеріали Міжнар. internet-конф., м. Харків, 1 трав. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 123–124.

5. Problems of medical devices standardization for the Ukraine market in view of European integration / I. Bondarets et al. *Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations* : materials of the international conference, March 22, 2024. Kaunas, 2024. P. 48.

6. Бондарець І. Р., Георгіянц В. А. Розрахунок очікуваного терміну використання медичного виробу на прикладі імплантатів ін'єкційних за вимогами

оновлених регуляторних вимог Європейського Союзу. *Modern chemistry of medicines*: матеріали Міжнар. internet-конф., до 85-річчя з дня народж. проф. П. О. Безуглого, м. Харків, 25 верес. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 65..

7. Бондарець І. Р., Георгіянець В. А. Валідація кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Modern chemistry of medicines* : матеріали Міжнар. internet-конф., до 85-річчя з дня народж. проф. П. О. Безуглого, м. Харків, 25 верес. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. *Poster presentation*.

## РОЗДІЛ 4

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ РЕЧОВИН ЩО ЕКСТРАГУЮТЬСЯ ТА РЕЧОВИН ЩО ВИМИВАЮТЬСЯ З ІМПЛАНТАТИВ ІН'ЄКЦІЙНИХ НА ОСНОВІ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ

У рамках дисертаційного дослідження нами було визначено речовини що вимиваються, тобто ті, які можуть вивільнитися з первинного пакування медичного виробу під час його використання (при контакті з медичним виробом безпосередньо) під впливом температури, середовища та інших умов його експлуатації, та потрапити безпосередньо до складу самого медичного виробу, а також речовини що екстрагуються, тобто ті, які можуть бути вивільнені з матеріалів первинного пакування продукту під час тестування в контрольованих умовах. Такі речовини можуть потрапляти в організм пацієнта і потенційно викликати небажані реакції або токсичні ефекти. Враховуючи, що досліджувані імпланти ін'єкційні є МВ III класу ризику призначені для парентерального введення, визначення речовин, що можуть потенційно потрапити в організм людини є обов'язковим елементом розробки для доведення безпеки та ефективності такого виробу. Для імплантів ін'єкційних це є критично важливим, враховуючи, що такий медичний виріб вводиться в організм людини та залишається там до моменту його повної біодеградації [114]. Поріг безпеки становить 0,15 мкг/день для генотоксичних або канцерогенних сполук і 1,5 мкг/день для інших [115]. В залежності від природи таких речовин має бути обраний адекватний метод для їх виявлення.

Застосування гіалуронової кислоти у різних медичних виробках в останні роки продовжує свої розширення, про що свідчать численні публікації щодо ефективності та безпеки [116, 117, 118]. Дослідження речовин що вимиваються з первинного пакування повинні проводитись виробниками медичних виробів на етапі проектування та розробки продукту, а також при внесенні критичних змін, які можуть потенційно вплинути на фізико-хімічні показники. Вірогідно, виробники схильні не розкривати дану інформацію.

Метою нашого дослідження є проведення досліджень вимивання хімічних речовин, які можуть становити потенційну небезпеку пацієнту в медичних виробках імплантатах ін'єкційних в попередньо наповнених шприцах. Дослідження проводились на готовому медичному виробі (попередньо наповнений шприц гелем).

Об'єктом даного дослідження обрано імплантат ін'єкційний на основі поперечно зшитої гіалуронової кислоти з вмістом натрію гіалуронату 20 мг/мл 2 мл в попередньо наповненому шприці як найгірший випадок за силою дії в лінійці досліджуваних імплантатів.

Для оцінки потенційно небезпечних речовин слід враховувати склад та властивості матеріалів всіх компонентів шприца. Шприц складається з циліндру з боросилікатного скла, ущільнювача з бромбутилового каучука та наконечника на циліндр з поліізопренового каучуку. Також враховано силікон, яким покритий внутрішній простір циліндру для плавності ходу ущільнювача і поршня. Таким чином, дослідженню підлягають всі компоненти первинного пакування, які контактують з медичним виробом протягом його зберігання в визначених виробником умовах.

Відомо, що гіалуронова кислота може сприяти вивільненню речовин. Наприклад мангіферину, з полімерів [119,120]. Такі відомості створюють передумову для можливості вивільнення з пакування і інших органічних речовин.

Дані дослідження направлені на визначення та контроль хімічних речовин, які можуть становити потенційну небезпеку. Це хімічні речовини, які можуть мати шкідливий вплив на здоров'я пацієнта та навколишнє середовище. Їх перелік визначається міжнародними та національними організаціями на основі токсикологічних досліджень та включає речовини, що відповідають мінімум одному із наступних критеріїв:

- канцерогенність, мутагенність або токсичність для репродуктивної системи ;
- ендокринно-дисруптивні властивості, які можуть мати негативний вплив на гормональну систему;
- персистентність, біоаккумуляція і токсичність;

- небезпечні властивості для екосистем.

Дослідженню передувала теоретична оцінка вірогідності вимивання шкідливих речовин. За результатами прогнозу нами було обрано групи речовин, що могли б вимиватись з пакування відповідно до груп – напівлеткі, леткі речовини та домішки металів. Передбачення потенційного впливу речовин на пацієнта розраховується з використанням різних математичних моделей [121, 122].

#### *Обладнання, реактиви*

Для визначення умов дослідження було враховані наступні характеристики медичного виробу:

- рН: межі досліджуваної лінійки імплантатів ін'єкційних 7,2-7,4 (фізіологічний рН)
- Тривалість контакту імплантатів з організмом людини: тривалий термін (>30 днів)
- тип медичного виробу: III клас ризику, виріб що імплантується
- Термін придатності: 2 роки
- Умови зберігання: від +2 °С до +30 °С.

Алгоритм проведення дослідження речовин що вимиваються та екстрагуються в даному дослідженні представлений на рисунку 4.1. Алгоритм було обрано з використанням загально прийнятих підходів проведення дослідження речовин що вимиваються, та екстрагуються та зважаючи на тип досліджуваного медичного виробу.

## Вибір матеріалі дослідження

оцінка матеріалів первинного пакування та складу медичного виробу

## Визначення умов досліджень та методології

встановлення методу аналізу, умов дослідження, визначення необхідного переліку обладнання

## Проведення дослідження речовин що екстрагуються

1. Екстракція: проведення екстракції у контрольованих умовах з первинного пакування медичного. Для проведення дослідження проводиться екстракція з первинного пакування без вмісту гелю імплантату ін'єкційного.
2. Аналіз екстрактів: кількісний та якісний аналіз речовин у отриманих екстрактах.

## Проведення дослідження речовин що вимиваються

1. Модулювання умов використання готового медичного виробу: для моделювання найгіршого випадку використовується зразок медичного виробу, які перебували в кліматичних камерах та пройшли дослідження стабільності продукту. Таким чином, було використано зразки, які моделюють медичний виріб в кінці його терміну придатності (2 роки) та з температурою зберігання по верхній границі (+30 °C), тобто найдовший передбачуваний виробником контактом з первинним пакуванням;
2. Аналіз вивільнених компонентів: кількісний та якісний аналіз у отриманих зразках речовин, що могли вимитись з первинного пакування в гель медичного виробу.

Проведення оцінки токсикологічного впливу знайдених компонентів в розчинах та визначення безпечності застосування обраних матеріалів для медичного виробу.

Рис 4.1. Алгоритм проведення дослідження речовин що вимивають та екстрагуються

Першим проводиться дослідження речовин що екстрагуються, для оцінки безпечності самостійного первинного пакування та можливості його застосування. Дослідження проводиться в екстремальних для пакування умовах для симуляції найгіршого випадку. У випадку ідентифікації будь-яких речовин вище допустимої норми обов'язковим є також оцінка наявності такої речовини при дослідженні

речовин що вимиваються. У випадку підтвердження якості та безпечності самостійного пакування дослідження речовин що вимиваються проводиться зважаючи на взаємодію препарату з обраним пакуванням в передбачуваних виробником умовах. Схематично профіль речовин, що можуть бути отримані в результаті досліджень представлено на рисунку 4.2.



Рис 4.2. Схематичне представлення збіжності речовин, що можуть бути ідентифіковані при дослідженні речовин що вимиваються, та речовин що екстрагуються

Для аналітичного дослідження було використано Head-space газову хроматографію для визначення летких речовин, газову хроматографію в поєднанні з мас-спектрометричним детектором (ГХ/МС) для визначення напівлетких органічних сполук, рідинну хроматографію в поєднанні з УФ- та мас-спектрометричними детекторами (ВЕРХ/УФ/МС) для визначення нелетких органічних сполук, мас-спектрометрію з індуктивно-зв'язаною плазмою (ІЗП/МС) для визначення металів та іонну хроматографію (ІХ) для перевірки наявності аніонів в екстрактах для дослідження речовин що екстрагуються.

Перед проведенням дослідження було розраховано поріг, нижче якого немає необхідності ідентифікувати речовини, що вимиваються та екстрагуються – АЕТ.

$$AET \left( \frac{\text{мкг}}{\text{мл}} \right) = \text{ПТЗ} \left( \frac{\text{мкг}}{\text{день}} \right) * \left( \frac{A}{B * C * D} \right) / UF \quad (4.1)$$

де, ПТЗ (Поріг токсикологічного занепокоєння) = 20 мкг/день (відповідно до ISO/TS 21726:2019)[123], А (кількість екстрагованих медичних виробів) = 1, В (об'єм екстракту) = 2 мл, С (кількість медичних виробів, що контактують з тілом) = 1, D (коефіцієнт розведення) = 1 (якщо розведення не застосовувалося), UF (коефіцієнт невизначеності аналітичних методів) = 2

В ході дослідження кожним з вказаних вище методів було проаналізовано розчин порівняння, дослідний зразок та холостий розчин для визначення наявності та кількісного вмісту у разі ідентифікації летких, напівлетких та нелетких органічних сполук, а також металів і аніонів. Результати дослідження були розраховані як мкг екстрагованого продукту/мл продукту.

*Визначення АЕТ для методів ГХ/МС та ВЕРХ/УФ/МС:*

$$AET \left( \frac{\text{мкг}}{\text{мл}} \right) = 20 \left( \frac{\text{мкг}}{\text{день}} \right) \times \frac{1}{2 \text{ мл} \times 1 \times 1} / 2 = 5 \text{ мкг/мл} \quad (4.2)$$

Межа кількісного визначення досліджуваних металів у мкг/л вказані в Таблиця

*Таблиця 4.1.*

**Межа кількісного визначення досліджуваних металів, мкг/л**

Елемент	Межа кількісного визначення, мкг/л
Li, V, Co, As, Mo, Ru, Rh, Cd, Os, Ir, Pt, Tl	0,10
Ni, Cu, Se, Sn, Sb, Ba, Pb	0,50
Ag, Hg	1,00
Cr, Pd, Au*	5,00
Розглядаючи розчин зразка після 50-кратного розведення	

Межа кількісного визначення досліджуваних аніонів у мкг/мл та відповідний перерахунок у мкг/упаковку вказані в Таблиця .

**Межа кількісного визначення досліджуваних аніонів, мкг/мл**

Аніон	Межа кількісного визначення, мкг/л	Межа кількісного визначення, мкг/упаковку
Фторид	0,20	0,40
Хлорид	0,20	0,40
Бромід	0,20	0,40

## 4.1 Дослідження речовин що екстрагуються

Як передбачено описаним вище алгоритмом, першочергово нами було проведено дослідження extractables (речовин, що екстрагуються).

У дослідженнях речовин що екстрагуються розчинники підбираються так, щоб максимально охопити весь полярний спектр потенційних очікуваних екстрагованих речовин та можливі мігруючі компоненти [124]. Зазвичай водні полярні розчинники та етанол або водно-органічні використовують для екстрагування полярних та іонних сполук [125], неполярні органічні – такі як гексан, гептан та інші нелеткі аліфатичні вуглеводні – для визначення гідрофобних добавок та стабілізаторів [126], а змішані системи – у випадку необхідності визначення широкого спектру речовин залежно від дизайну дослідження [127].

Імпланти ін'єкційні виготовляються в шприцах з боросилікатного скла в якості первинного пакування. Зважаючи на це необхідним є дослідження наступних груп речовин:

- Іонні/ неорганічні компоненти скла, що виділяються в агресивних умовах екстракції. Такі елементи можуть бути наявні через часткову корозію та іонний обмін з водними середовищами [128].
- Органічні речовини та сторонні домішки, які можуть потрапити до складу шприца при їх виготовленні або при силіконуванні враховуючи використання також поршня та ущільнювача для збільшення плавності їх ходу в циліндрі шприца [129].

Зважаючи на це, а також на фізичні характеристики імплантату та первинного пакування (шприц, поршень та ущільнювач) для екстрагування нами було обрано наступні розчинники:

- Розчин соляної кислоти з рН 5,4 – нижня межа рН групи досліджуваних імплантатів (розчинник 1);
- Розчин гідроксиду натрію з рН 9,3 – верхня межа групи досліджуваних імплантатів (розчинник 2);
- Суміш ізопропанолу та води у співвідношенні 25:75 (об.:об.) – модельний розчин для екстракції полярних та ліпофільних речовин (розчинник 3);
- Вода – використовується для оцінки екстракції аніонів з первинного пакування (розчинник 4).

Кожен шприц наповнювали 2 мл екстракційного розчину, що еквівалентно вмісту гелю в готовому медичному виробу. Наповненні шприци екстракційними розчинами зберігали при  $70 \pm 3^\circ \text{C}$  протягом 48 годин в умовах орбітального струшування.

В аналогічних умовах було проведення збереження також вихідних розчинників, які не контактували зі шприцем.

В Таблиці 4.3 нижче представлені всі аналітичні методи, які було застосовано до кожного отриманого дослідного розчину.

*Таблиця 4.3.*

**Аналітичні методи які було застосовано до досліджуваних розчинів**

Розчин	ГХ/МС	ВЕРХ/УФ/МС	ІЗП/МС	ІХ
Розчин 1	+	+	+	
Розчин 2	+	+	+	
Розчин 3	+	+		
Розчин 4				+

Аналіз методом HS-ГХ/МС проводили шляхом безпосереднього тестування у флаконі для аналізу газової фази (headspace) репрезентативних фрагментів виробу.

Метод HS-ГХ/МС використовувався для скринінгу летких органічних сполук, ГХ/МС використовувався для скринінгу напівлетких органічних сполук,

ВЕРХ/УФ/МС для скринінгу нелетких органічних сполук, ІЗП/МС використовували для визначення наявності металів, а ІС застосовували для визначення аніонів.

#### 4.1.1 Дослідження летких речовин

Для летких речовин, що вимиваються, традиційно використовується метод газової хромато-мас спектрометрії у варіанті head space [129]. Вимивання летких речовин оцінювали у порівнянні з толуолом в концентрації 5 мкг/мл (Рис X). Толуол зазвичай використовується для оцінки летких компонентів так як він є стабільним ароматичним органічним розчинником, має добре визначений час утримування на колонках ГХ, легко розчиняє велику кількість органічних речовин.

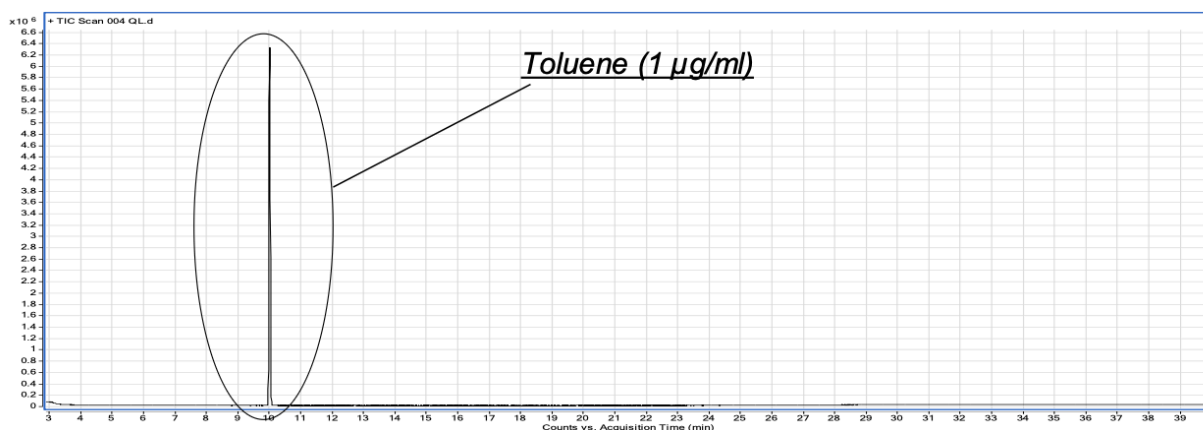


Рис 4.3. Хроматограма розчину порівняння визначення летких речовин

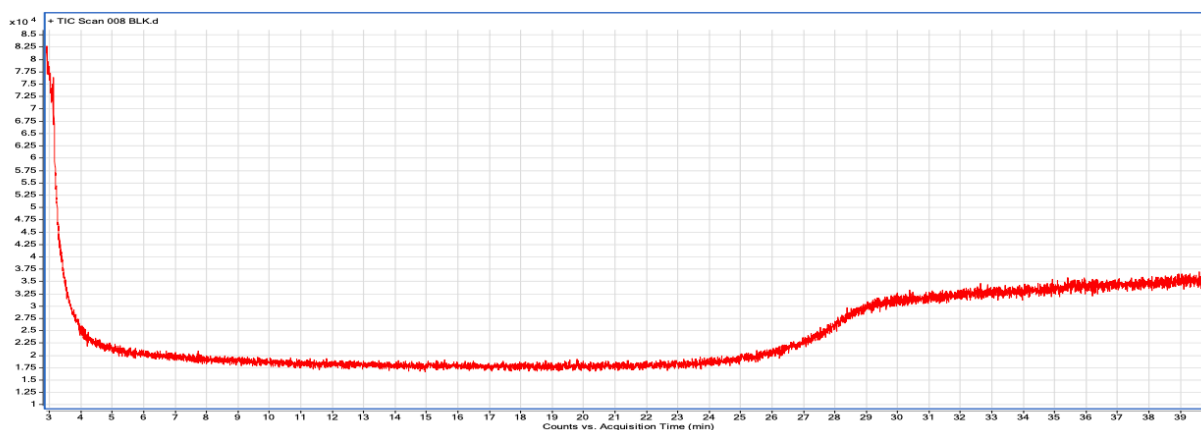


Рис 4.4. Хроматограма холостого розчину визначення летких речовин

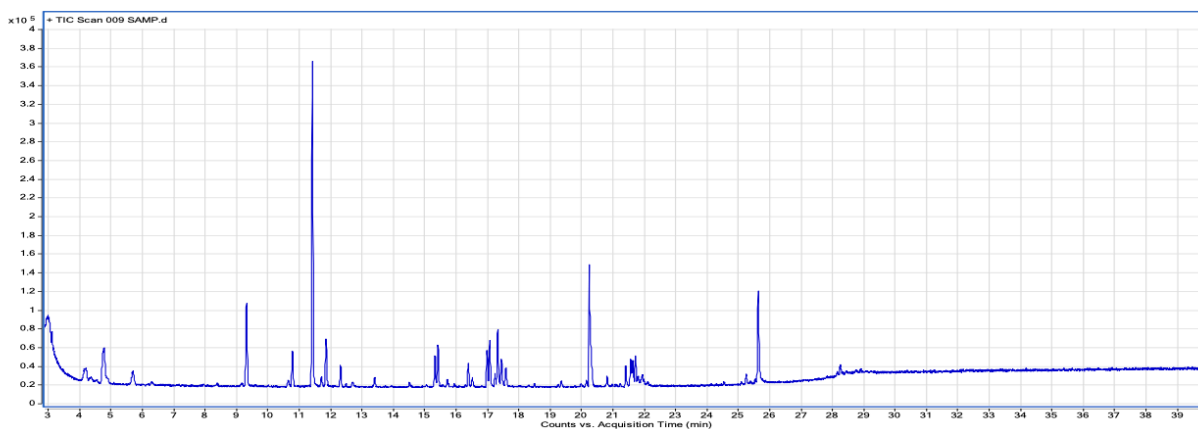


Рис. 4.5 Хроматограма досліджуваного розчину екстракту з ковпачка визначення летких речовин

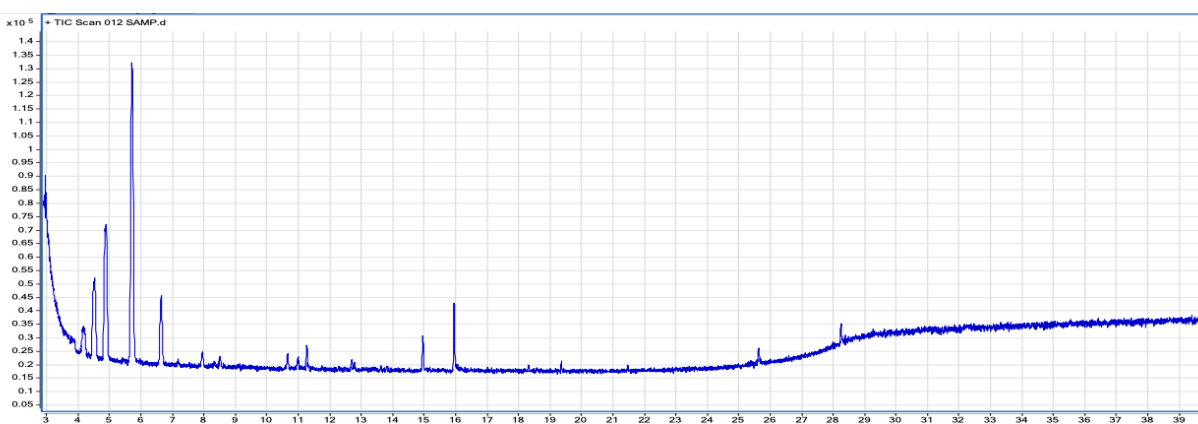


Рис 4.6. Хроматограма досліджуваного розчину екстракту з ущільнювача визначення летких речовин

При хроматографуванні досліджуваних розчинів обох комплектуючих жодна неідентифікована речовина з концентрацією більшою за стандарт виявлена не була.

#### 4.1.2 Дослідження напівлетких органічних сполук

Вміст сторонніх напівлетких органічних сполук оцінювали методом ГХ/МС.

В даному дослідженні аналізувались 3 екстракти з розчину 1 хлоридної кислоти, розчину 2 гідроксиду натрію з рН 9,3 та розчину 3 суміші ізопропанолу та води.

Хроматограми, отримані в результаті аналізу двох зразків, були оцінені, і всі піки, виявлені з концентрацією вище АЕТ, були зареєстровані, і була зроблена спроба ідентифікації. Дані були зареєстровані відповідно до тесту на придатність системи.

Для ідентифікації екстрагованих сполук використовувалася бібліотека. Будь-які неідентифіковані сполуки були позначені як «Невідомі» з детальним описом основних масових сигналів. Для кількісного визначення екстрагованих речовин використовувався розчин фенантрени- $d_{10}$  ( $QL = 1 \text{ мкг/мл}$ ).

Розчини холостої проби та зразка розводили в 5 разів (1:5) перед аналізом, щоб використовувати АЕТ  $1 \text{ мкг/мл}$ .

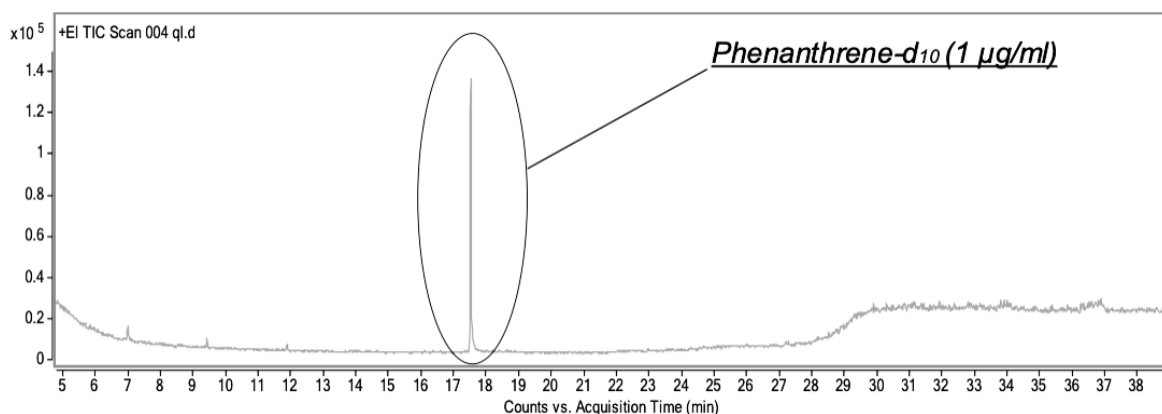


Рис 4.7. Хроматограма розчину порівняння визначення напівлетких речовин

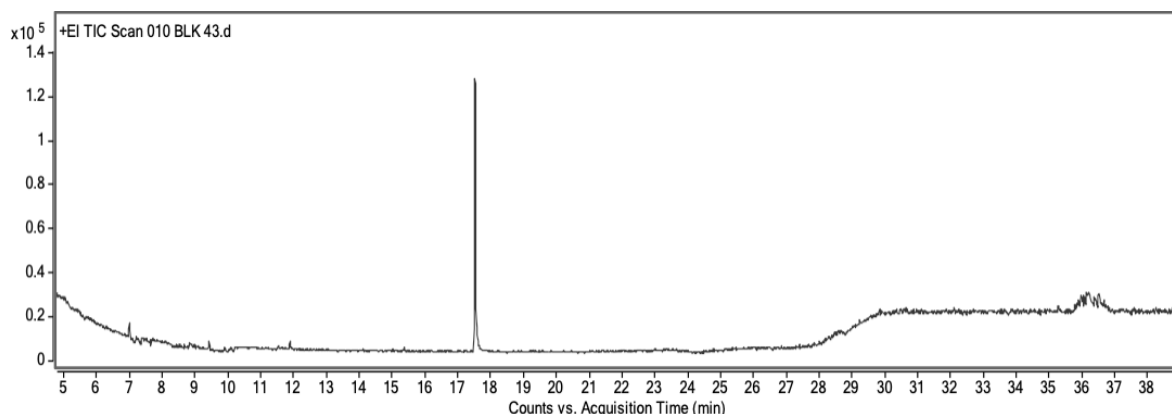


Рис 4.8. Хроматограма холостого розчину з використанням HCl в якості екстрагенту для визначення напівлетких речовин

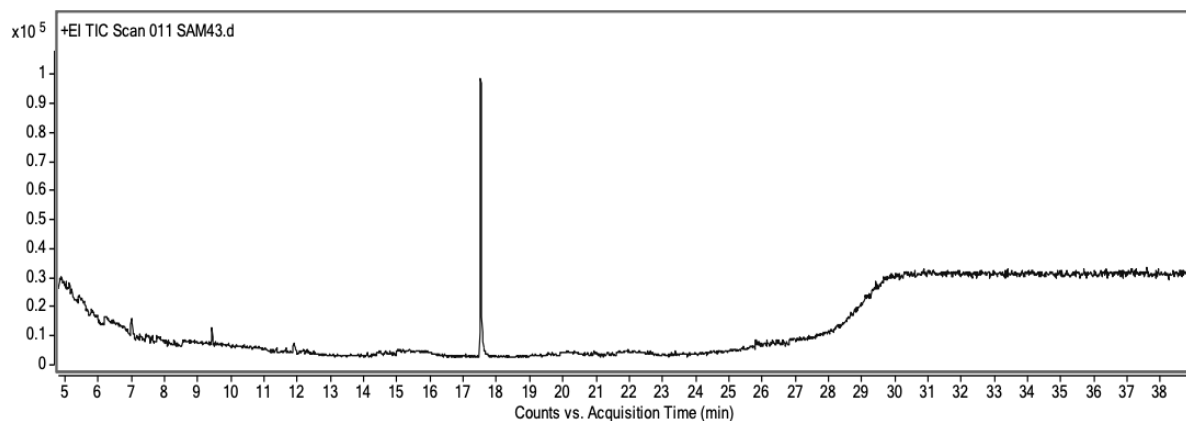


Рис 4.9. Хроматограма досліджуваного розчину з використанням HCl в якості екстрагенту для визначення напівлетких речовин

Не було знайдено жодної сполуки з реакцією вище АЕТ.

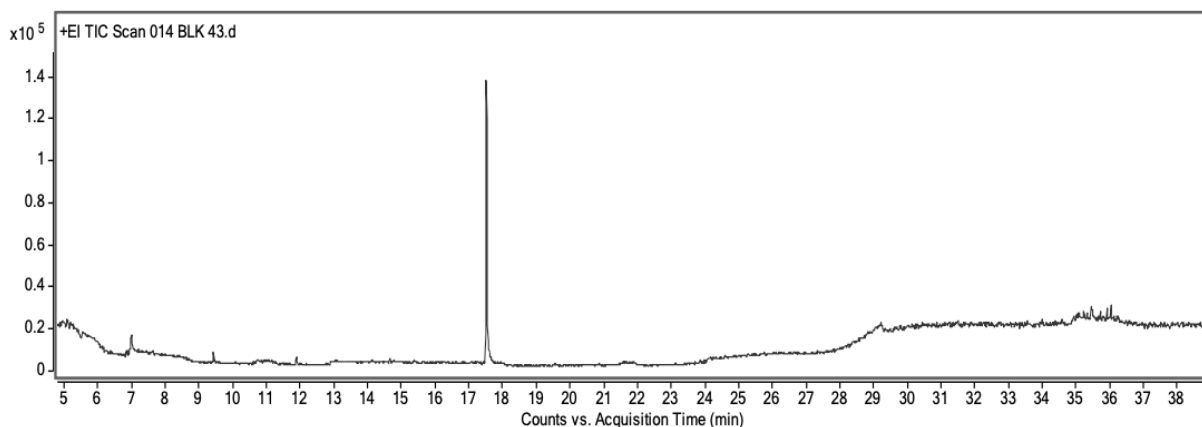


Рис 4.10. Хроматограма холостого розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення напівлетких речовин

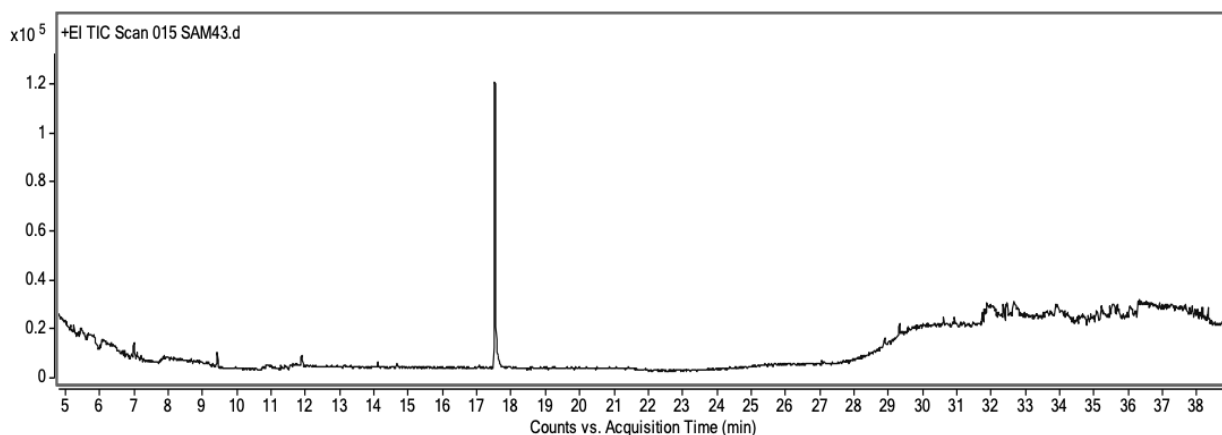


Рис 4.11. Хроматограма досліджуваного розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення напівлетких речовин

Не було знайдено жодної сполуки з реакцією вище АЕТ.

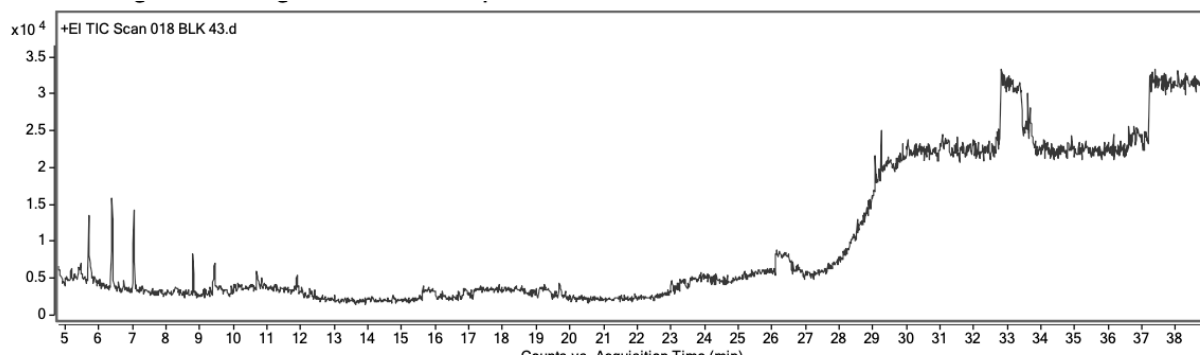


Рис 4.12. Хроматограма холостого розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення напівлетких речовин

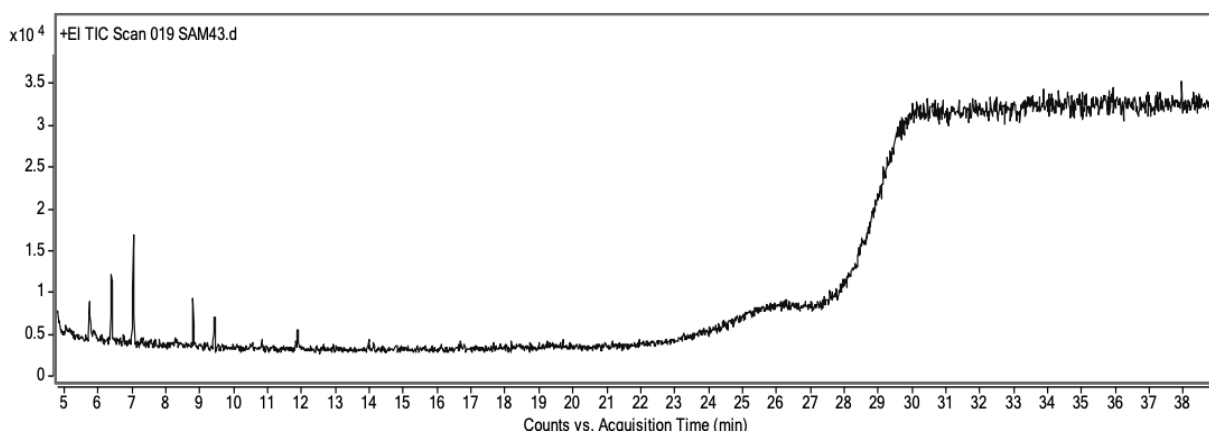


Рис 4.13. Хроматограма досліджуваного розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення напівлетких речовин

Не було знайдено жодної сполуки з реакцією вище АЕТ.

В результаті дослідження не було ідентифіковано жодних напівлетких органічних сполук в досліджуваних екстрактах.

#### 4.1.3 Дослідження нелетких органічних сполук

В даному дослідженні аналізувались також три екстракти: розчин 1 з хлоридною кислотою, розчин 2 з гідроксидом натрію та розчин 3 ізопропанол:вода. Для спроби ідентифікації екстрагованих сполук було використано базу даних екстрагованих речовин. Аналізу щодо наявності піків вище за АЕТ підлягали всі три отримані результати: хроматограми ВЕРХ/МС негативна іонізація, ВЕРХ/МС позитивна іонізація та ВЕРХ/УФ спектри.

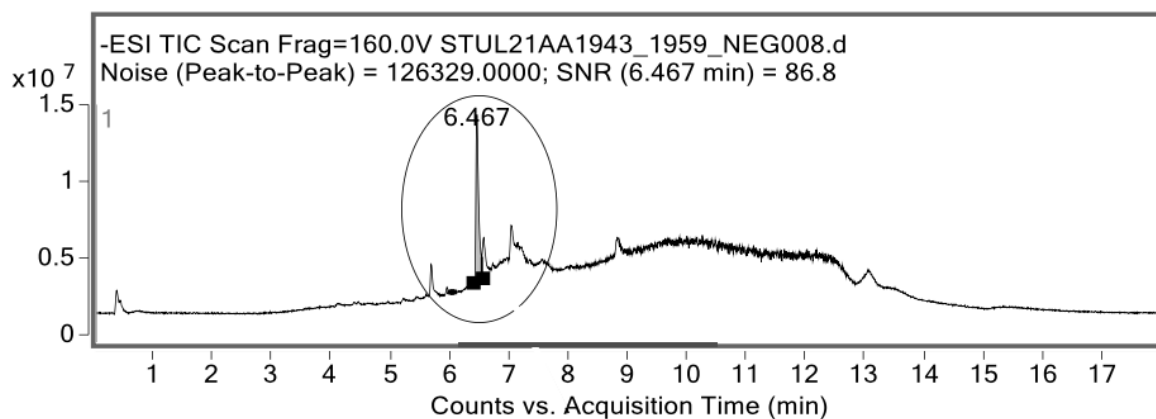


Рис 4.14 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація розчину порівняння для визначення нелетких речовин

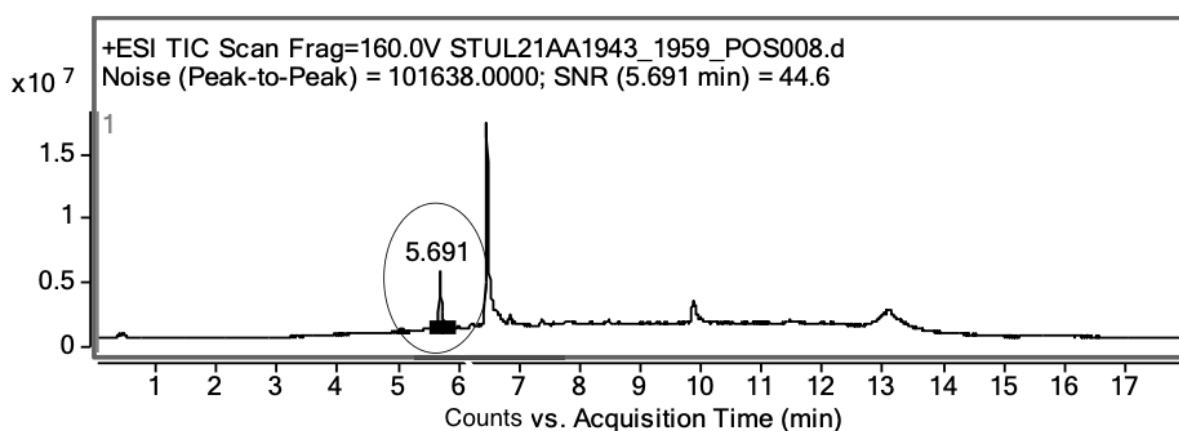


Рис 4.15 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація розчину порівняння для визначення нелетких речовин

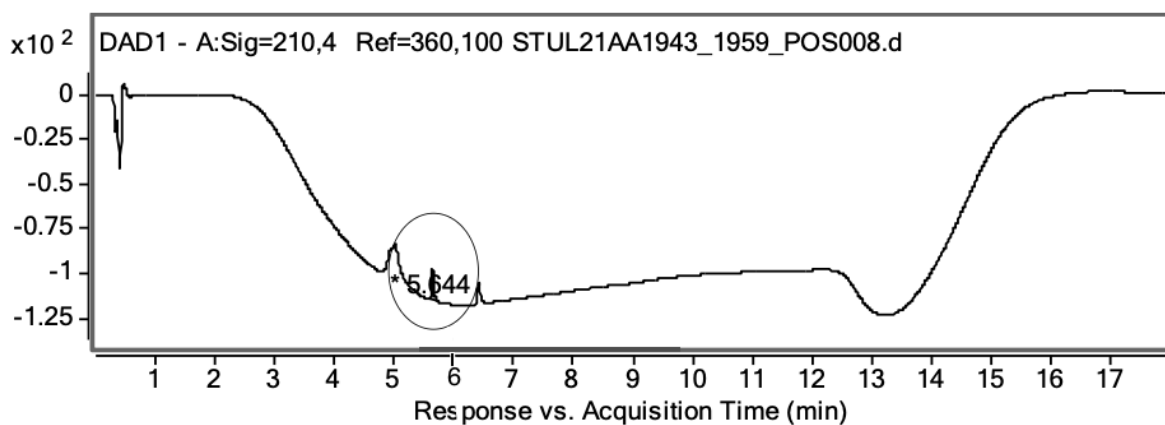


Рис 4.16 Хроматограма ВЕРХ/УФ розчину порівняння для визначення нелетких речовин

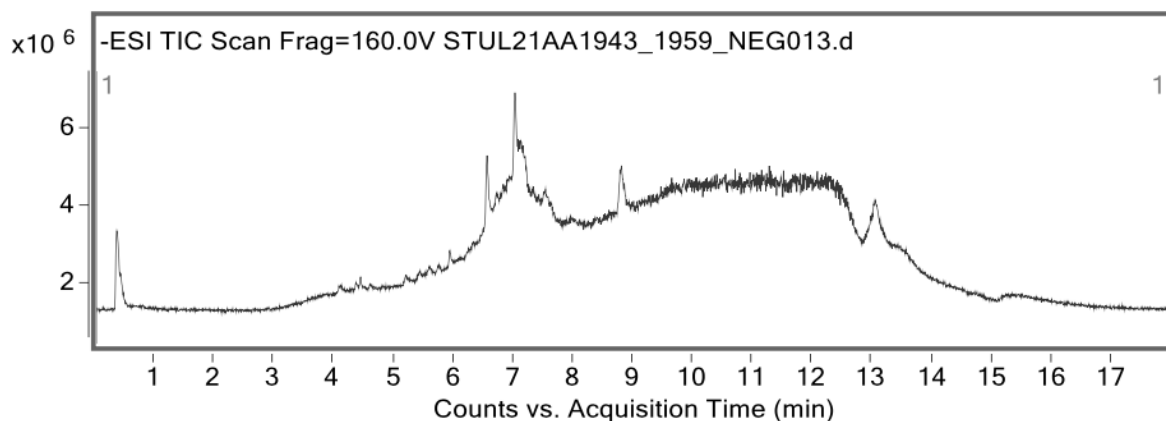


Рис 4.17 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація холостого розчину з використанням НСІ в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

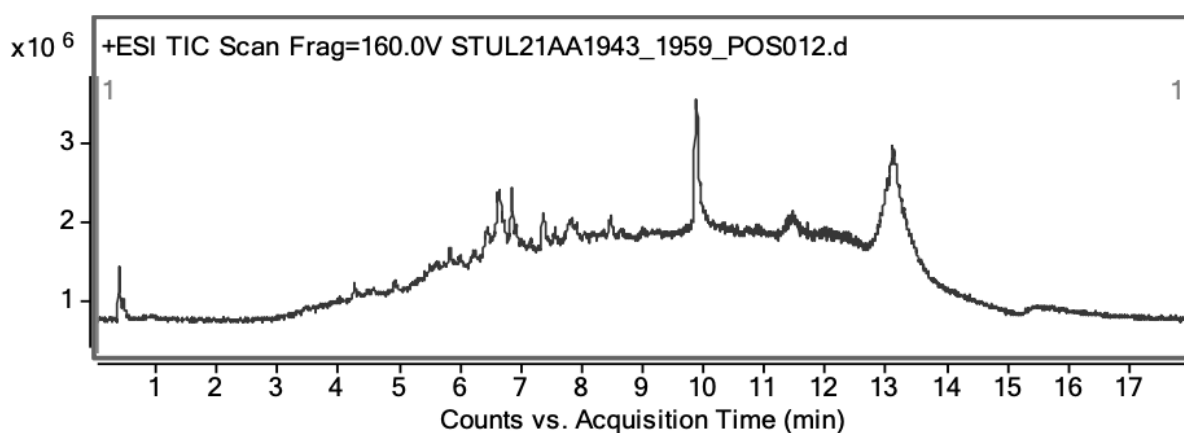


Рис 4.18 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація холостого розчину з використанням НСІ в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

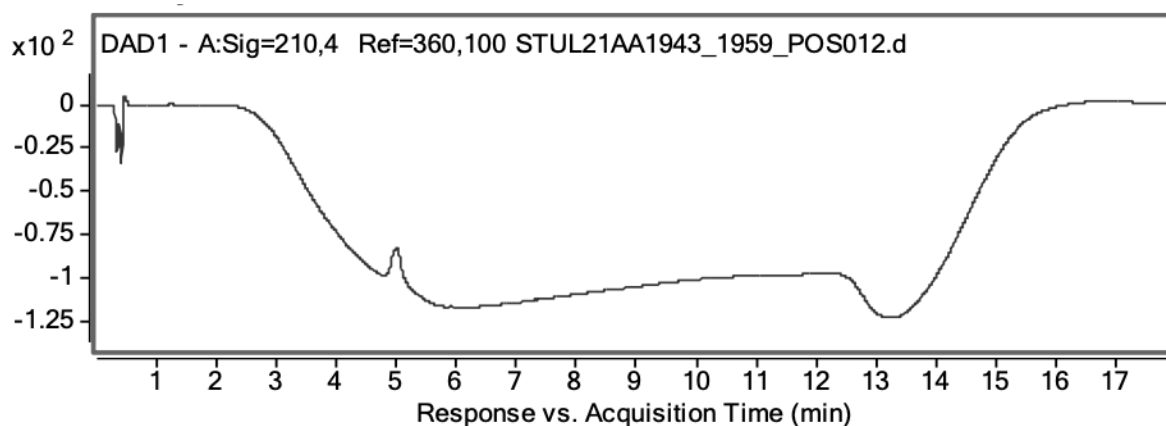


Рис 4.19 Хроматограма ВЕРХ/УФ холостого розчину з використанням НСІ в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

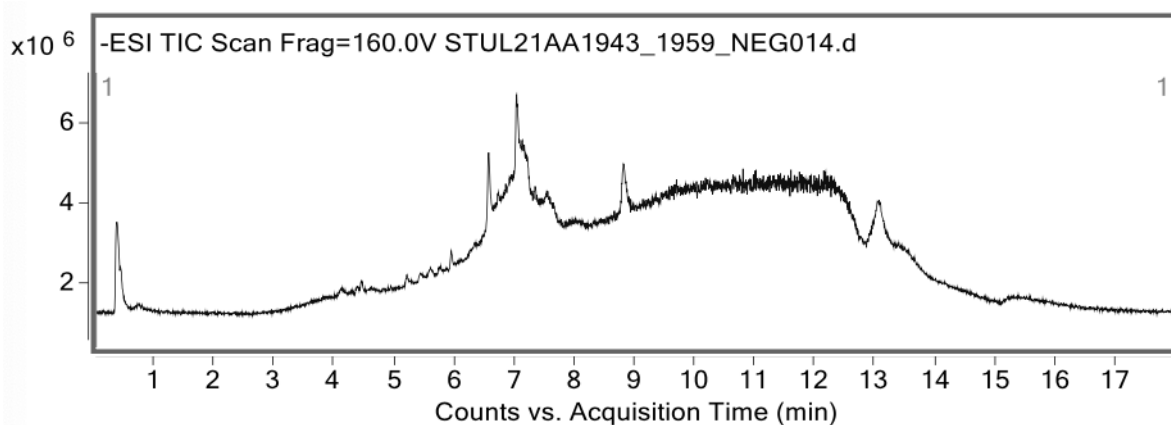


Рис 4.20 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація досліджуваного розчину з використанням НСІ в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

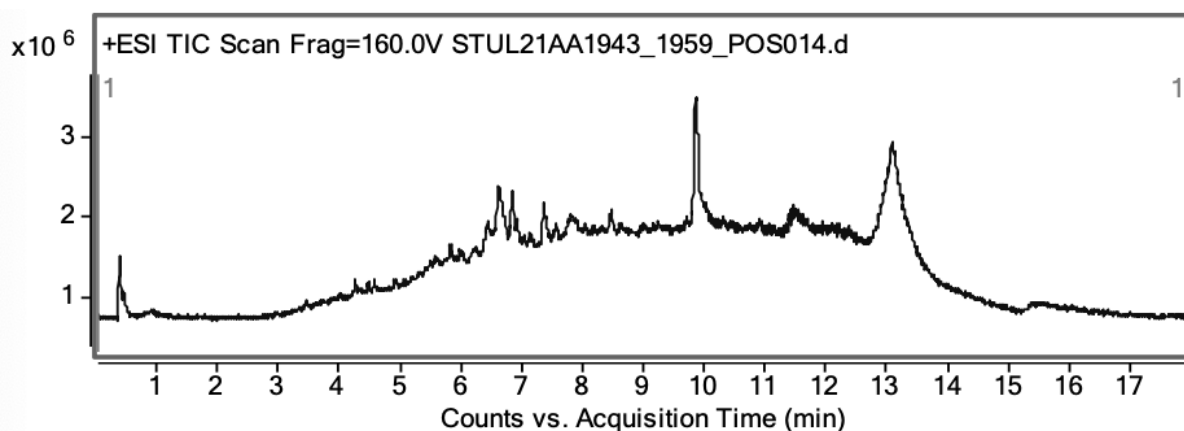


Рис 4.21 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація досліджуваного розчину з використанням НСІ в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

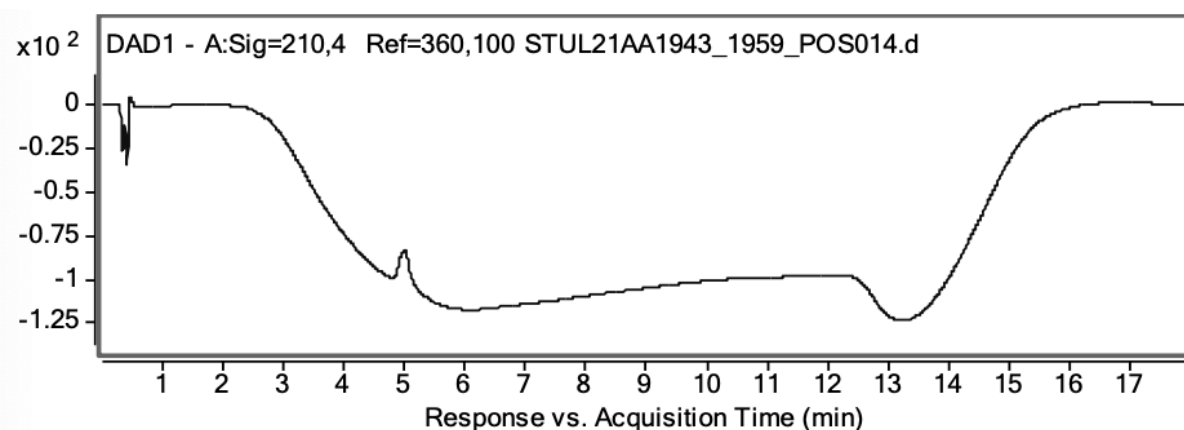


Рис 4.22 Хроматограма ВЕРХ/УФ досліджуваного розчину з використанням НСІ в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

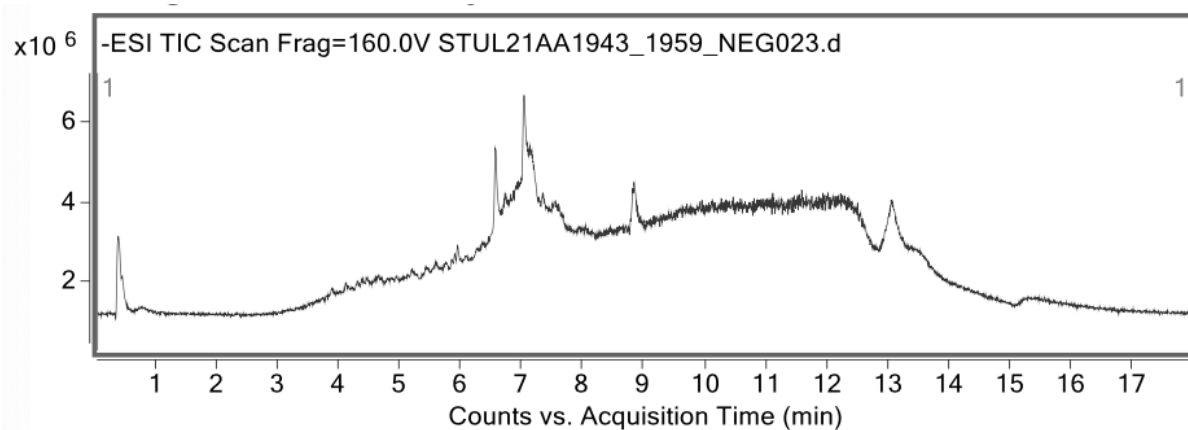


Рис 4.23 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація холостого розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

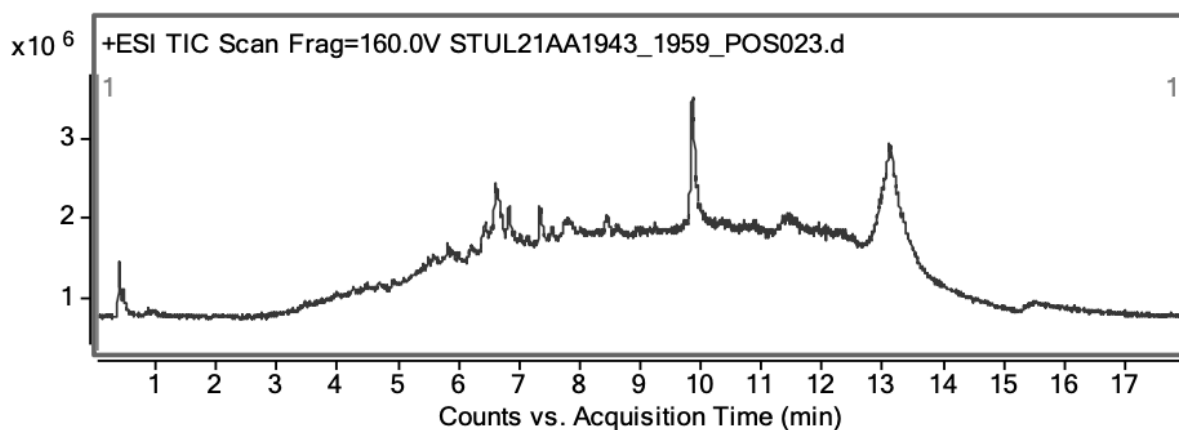


Рис 4.24 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація холостого розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

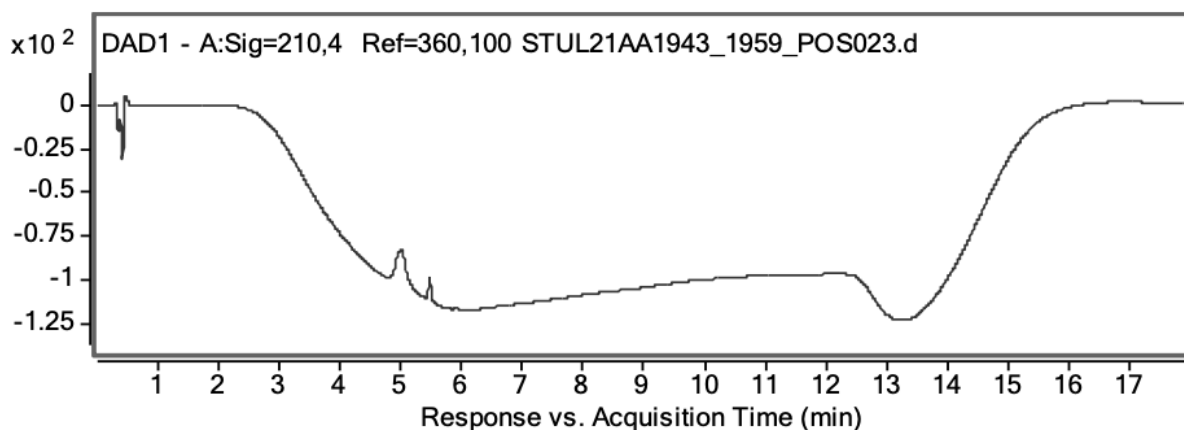


Рис 4.25 Хроматограма ВЕРХ/УФ холостого розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

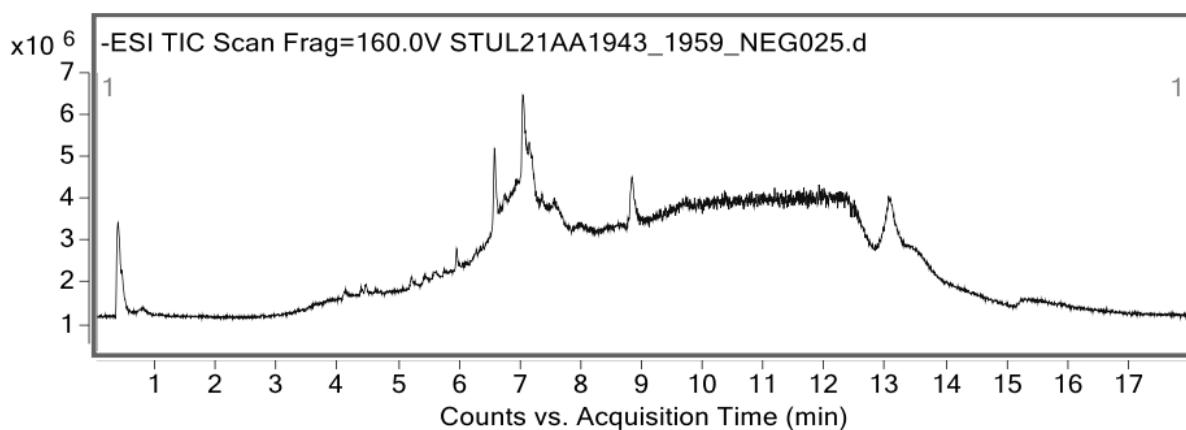


Рис 4.26 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація досліджуваного розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

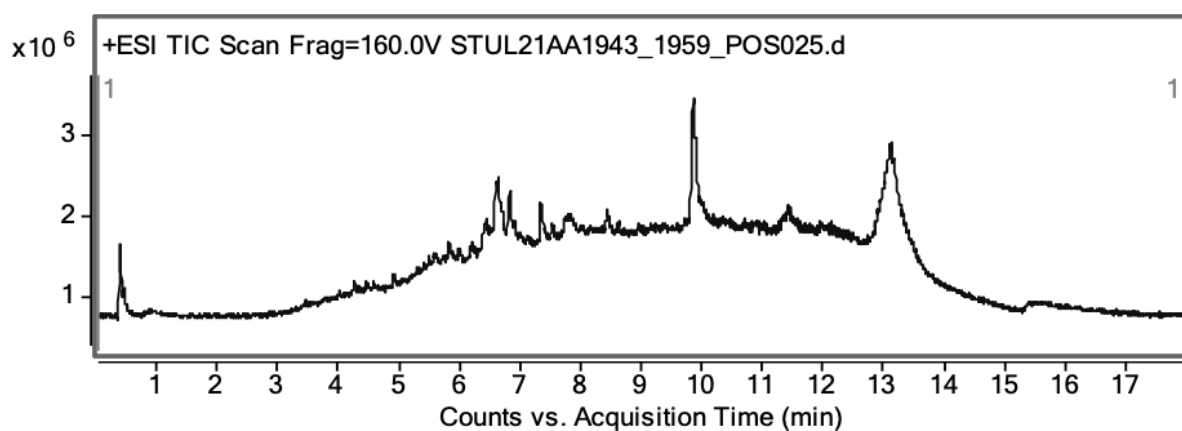


Рис 4.27 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація досліджуваного розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

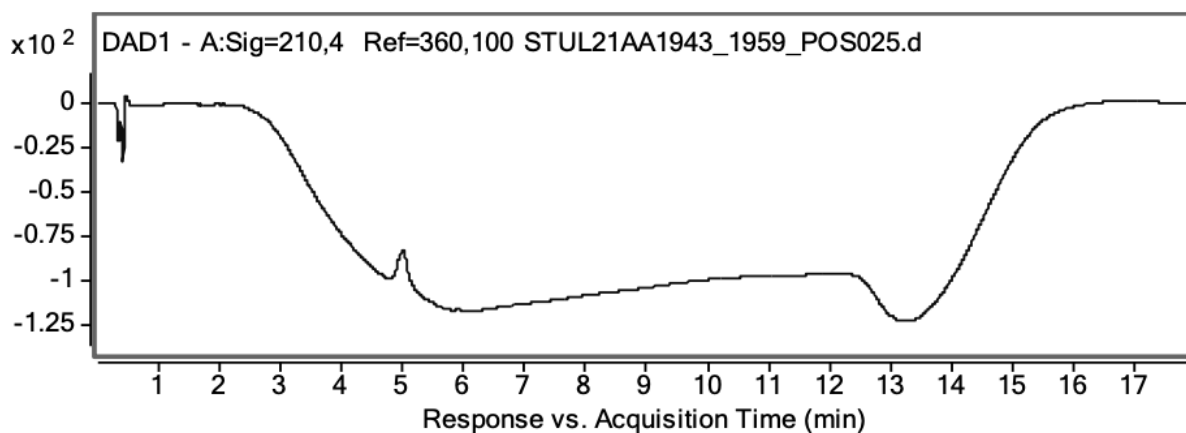


Рис 4.28 Хроматограма ВЕРХ/УФ досліджуваного розчину з використанням NaOH в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

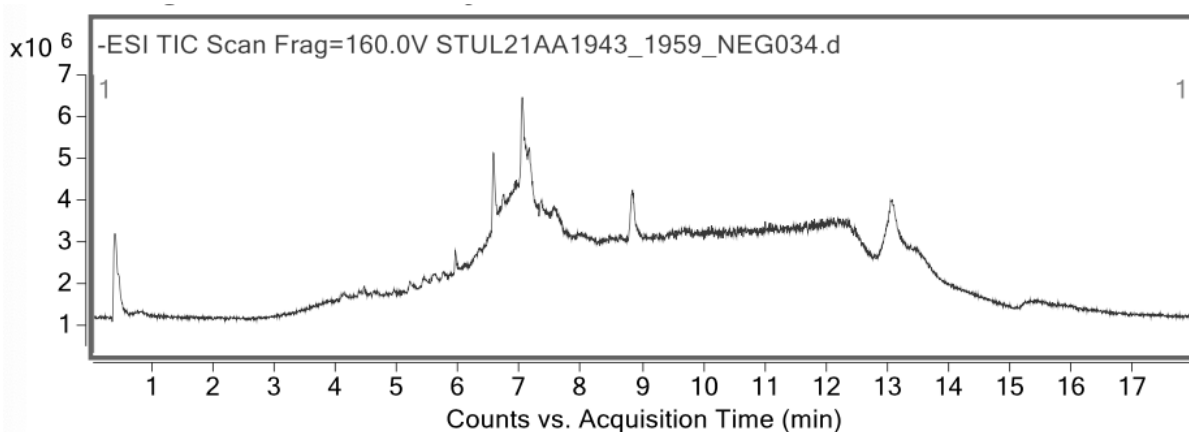


Рис 4.29 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація холостого розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

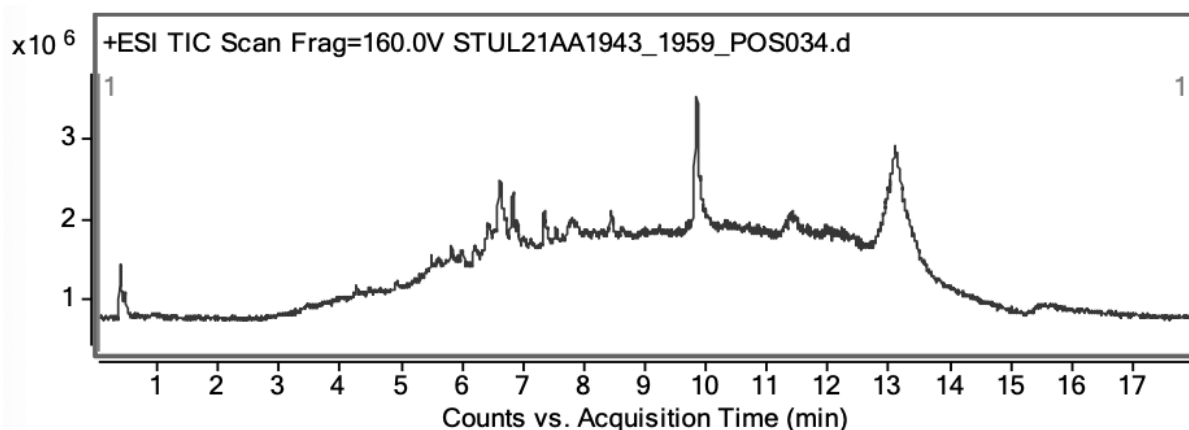


Рис 4.30 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація холостого розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

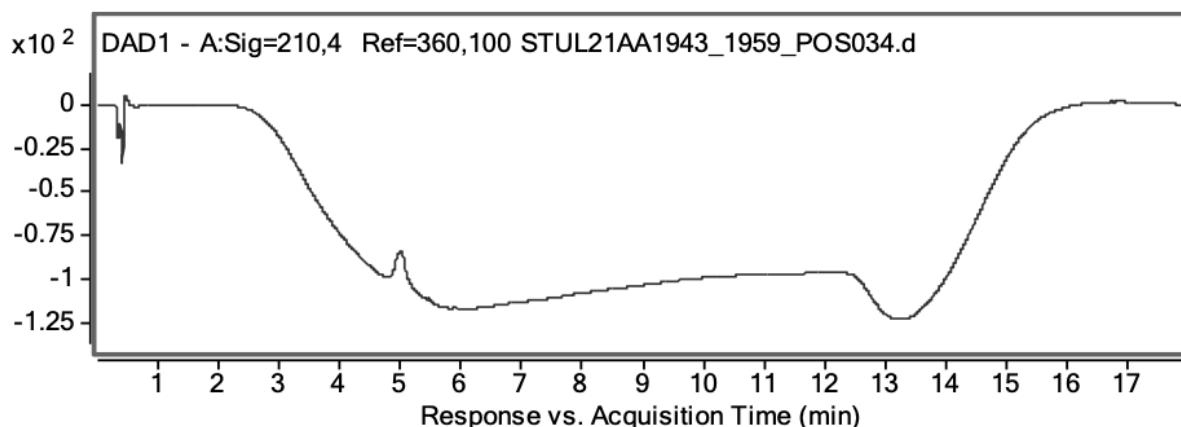


Рис 4.31. Хроматограма ВЕРХ/УФ холостого розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

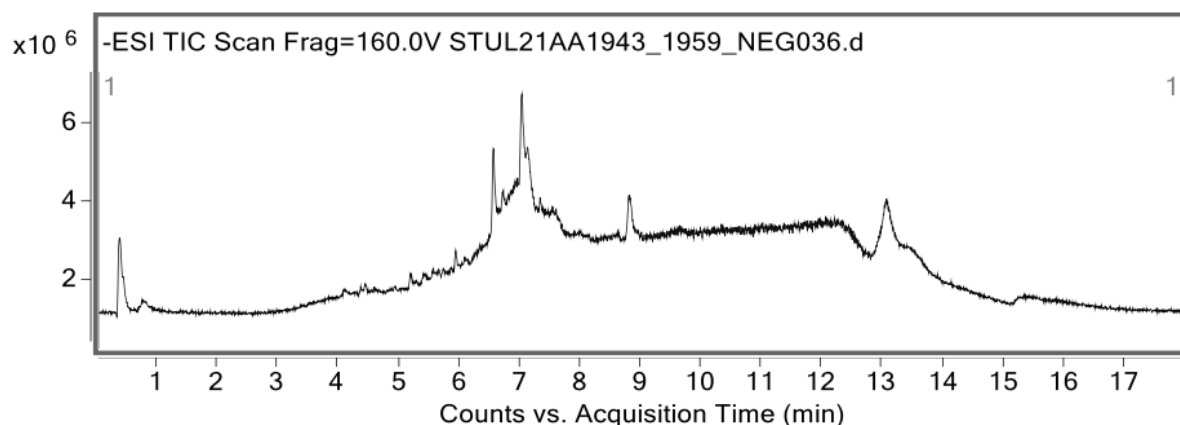


Рис 4.32. Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація досліджуваного розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

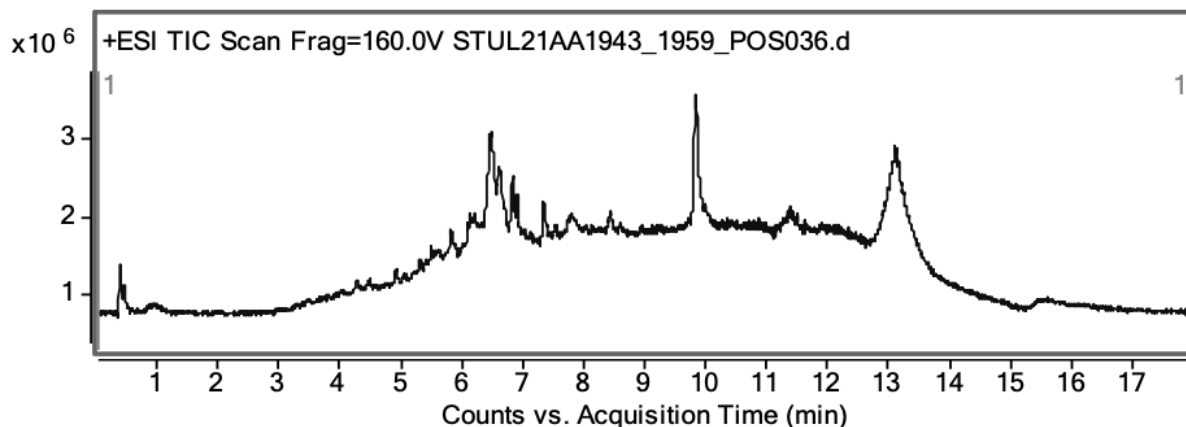


Рис 4.33. Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація досліджуваного розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

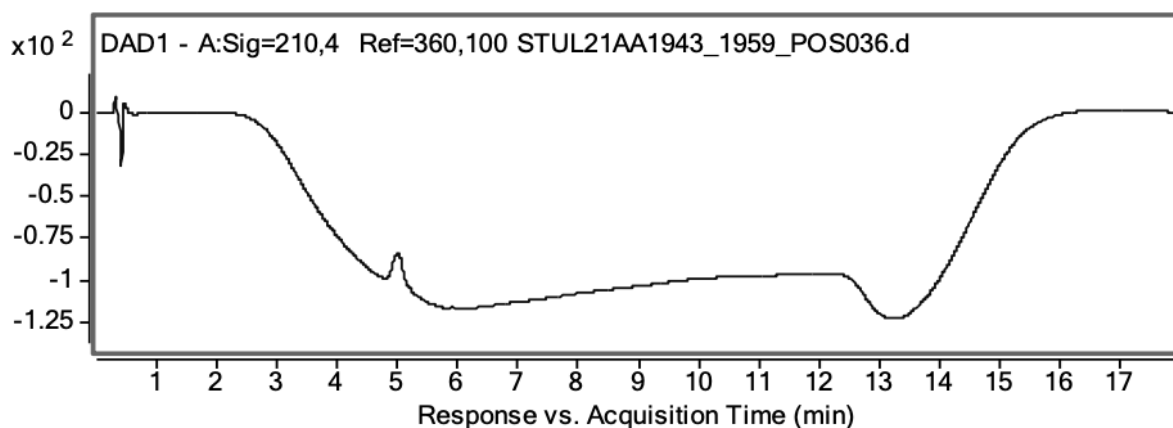


Рис 4.34. Хроматограма ВЕРХ/УФ досліджуваного розчину з використанням суміші ізопропанол:вода в якості екстрагенту для визначення нелетких речовин

Аналіз методом ВЕРХ/УФ/МС не виявив сполук, що перевищують АЕТ. Відповідно, нелетких органічних сполук не виявлено.

#### 4.1.4 Дослідження металів

Для дослідження вмісту металів було проаналізовано два екстракційні розчини з хлоридною кислотою та з натрію гідроксидом.

В результаті досліджень екстракційного розчину 1 (водний розчин HCl) кожен протестований метал був знайдений нижче межі кількісного визначення.

Результати дослідження екстракційного розчину 2 (водний розчин NaOH) наведено в Таблиця .

Таблиця 4.4.

#### Результати дослідження екстракційного розчину 2 (водного розчину NaOH) на вміст металів

Метал	Кількісне визначення, мкг/упаковку
V	0,0003
Co	0,0007
Cu	0,0021
Mo	0,0065
Os	0,0003
Ir	0,0003
Pt	0,0003
Cr	0,0811
Ni	0,0529

Ванадій (V), кобальт (Co), мідь (Cu), молібден (Mo), осмій (Os), іридій (Ir), платина (Pt), хром (Cr) та нікель (Ni) були виявлені вище допустимого рівня в обох розчинах зразків розчину 2. Кожен метал, протестований у розчині зразка 1, мав показник нижче межі кількісного визначення.

Для оцінки безпечності виявлених елементів використано значення Permitted Daily Exposure (PDE), визначені міжнародною настановою ICH Q3D (R1) [130] для

парентерального шляху введення — як найбільш чутливого та консервативного сценарію для медичних виробів, що контактують з кров'ю або вводяться ін'єкційно.

Таблиця 4.5.

**Співвідношення отриманих показників і значення Permitted Daily Exposure (PDE)**

<b>Елемент</b>	<b>PDE (парентеральне), мкг/день згідно з ICH Q3D (R1), Annex 2</b>	<b>Кількісне визначення, мкг/упаковку</b>	<b>% від PDE</b>
V	10	0,0003	0,0030 %
Co	5	0,0007	0,0140 %
Cu	300	0,0021	0,0007 %
Mo	150	0,0065	0,0040 %
Os	10	0,0003	0,0030 %
Ir	100	0,0003	0,0003 %
Pt	100	0,0003	0,0003 %
Cr	25	0,0811	0,3200 %
Ni	20	0,0529	0,2600 %

Усі визначені кількості металів становлять менше 1 % від встановлених допустимих добових рівнів (PDE) для парентерального шляху введення. З огляду на низькі концентрації, короткотривалу експозицію при використанні виробу та фізико-хімічні властивості металів, ризик токсикологічного впливу на пацієнта є незначним і не становить загрози безпеці.

Таким чином, навіть у випадку одноразового введення всього вмісту упаковки, виявлені кількості металів є токсикологічно прийнятними та відповідають вимогам ICH Q3D (R1) [130], ISO 10993-17 [131] і ISO 10993-18 [132].

#### 4.1.5 Дослідження аніонів

Для ідентифікації та визначення вмісту аніону було використано метод іонної хроматографії та проанізовано розчин 4, де в якості екстрагенту було використано воду.

В результаті дослідження не було виявлено жодного аніона вище допустимого рівня.

## 4.2 Дослідження leachables

Наступним етапом було проведено дослідження речовин що вимиваються згідно з визначеним алгоритмом робіт. Враховуючи, що при дослідженні речовин, що екстрагуються не було ідентифіковано речовин, що можуть мігрувати в склад виробу з первинного пакування та становити загрозу пацієнту, дослідження проводилось з базовим алгоритмом [133,134].

Дослідження речовин, які вимиваються, завжди є складнішою новою науковою задачею, бо якщо екстракцію речовин з пакування звичайними розчинниками різної природи можна передбачити, то екстракцію речовин під впливом власно засобу, передбачити неможливо. Для деяких медичних виробів ця інформація є вкрай обмеженою [135].

### 4.2.1 Дослідження летких речовин

У медичних виробках, що містять гіалуронову кислоту, як правило, можуть бути присутні леткі органічні сполуки, які використовувались в процесі виробництва сировини, готового виробу або при його зберіганні. Зокрема це можуть бути спирти, альдегіди, кетони, а також ефірні олії, які використовують для ароматизації косметичних засобів. В даному випадку при виробництві імплантату ін'єкційного такі речовини не використовувались. Проте під час виробництва сировини гіалуронової кислоти можуть бути використані розчинники, які являються леткими речовинами, такі як етиленгліколь, метиленхлорид, перхлоретилен [35]. Такі речовини можуть

залишатись в кінцевому продукті сировини і таким чином потрапити до готового медичного виробу.

Зразки аналізувались методом хромато-мас спектрометрії у варіанті head space для ідентифікації летких речовин.

Вимивання летких речовин оцінювали у порівнянні з толуеном в концентрації 5 мкг/мл. При хроматографуванні досліджуваного розчину жодна неідентифікована речовина з концентрацією більшою за стандарт виявлена не була.

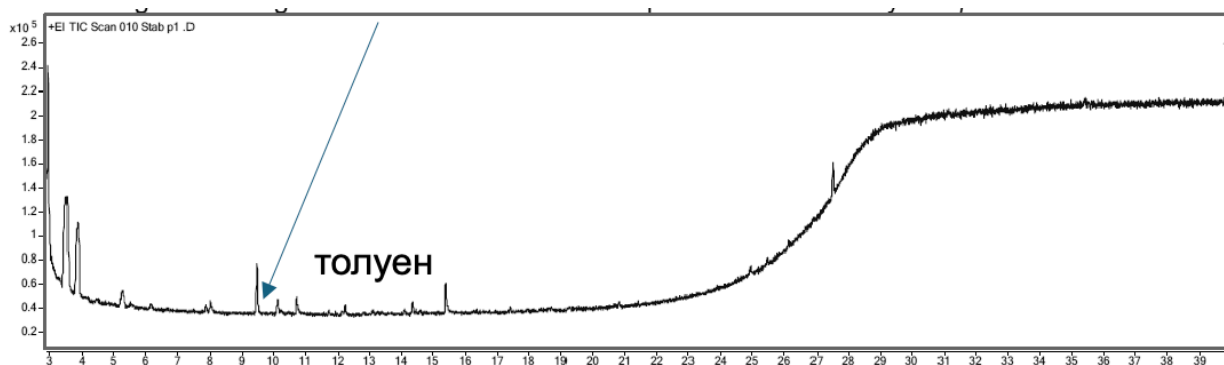


Рис 4.35. Хроматограма досліджуваного розчину для визначення летких речовин

#### 4.2.2 Дослідження напівлетких органічних сполук

Вміст сторонніх напівлетких органічних сполук оцінювали методом ГХ/МС. Речовини екстрагували з розчину гіалуронової кислоти дихлорометаном. Результати оцінювали у порівнянні з еталонним стандартом фенантрени, що був доданий у концентрації 5 мкг/мл. Таким чином, будь-які домішки, що мають площу під піком меншу за еталон, визначенню не підлягають, натомість домішки з більшим вмістом мають бути ідентифіковані та визначені.

В результаті дослідження методом ГХ/МС не було ідентифіковано жодних сполук з вмістом вище АЕТ (Рис.4.36).

Хроматограма дослідного зразку отримана методом ГХ/МС

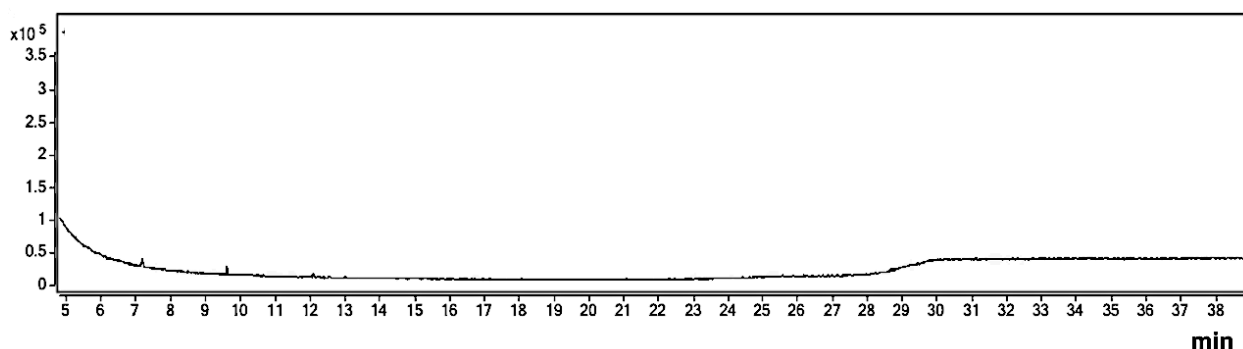


Рис 4.36. Хроматограма досліджуваного розчину для визначення напівлетких речовин

Нелеткі органічні речовини, що вимиваються з первинного пакування, визначали методом ВЕРХ з використанням двох детекторів – УФ та мас-. Цей метод є загальноприйнятим для таких досліджень [129]. Результати, отримані методом ВЕРХ/УФ/МС, оцінювали за допомогою двох еталонних стандартів залежно від режиму іонізації (позитивного чи негативного).

При дослідженні зразку методом ВЕРХ/УФ/МС на ділянці 0.42 хв була виявлена сполука з концентрацією 42,4 мкг/мл, що є вищим за розраховану нами величину АЕТ 5 мкг/мл.

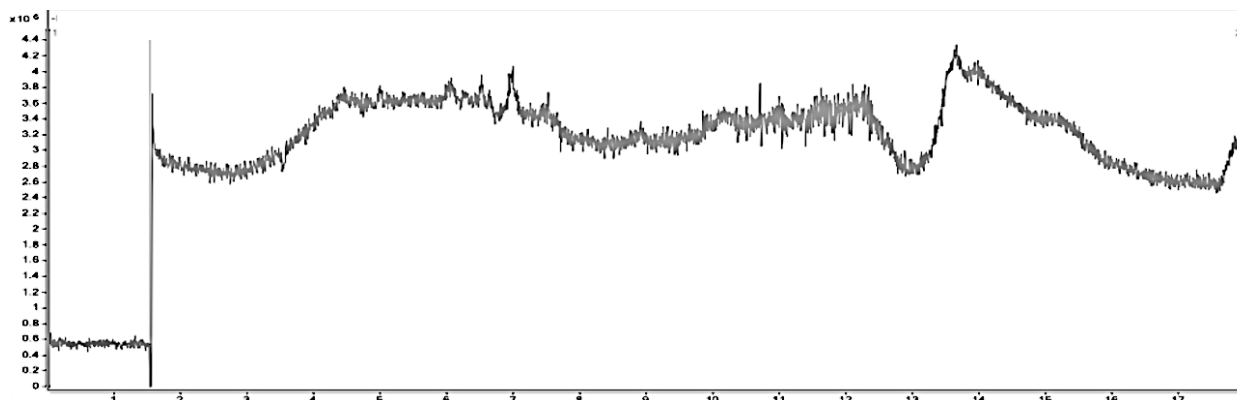


Рис 4.37 Хроматограма ВЕРХ/МС, негативна іонізація досліджуваного розчину для визначення нелетких речовин

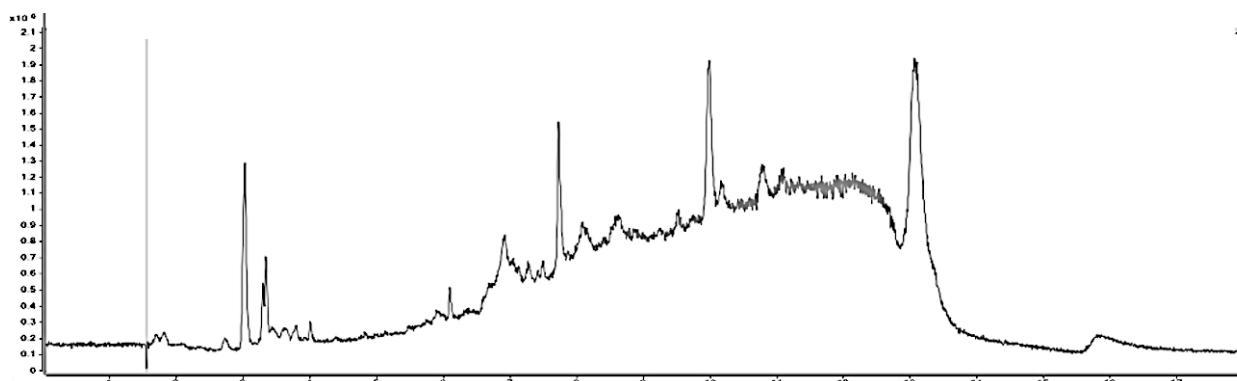


Рис 4.38 Хроматограма ВЕРХ/МС, позитивна іонізація досліджуваного розчину для визначення нелетких речовин

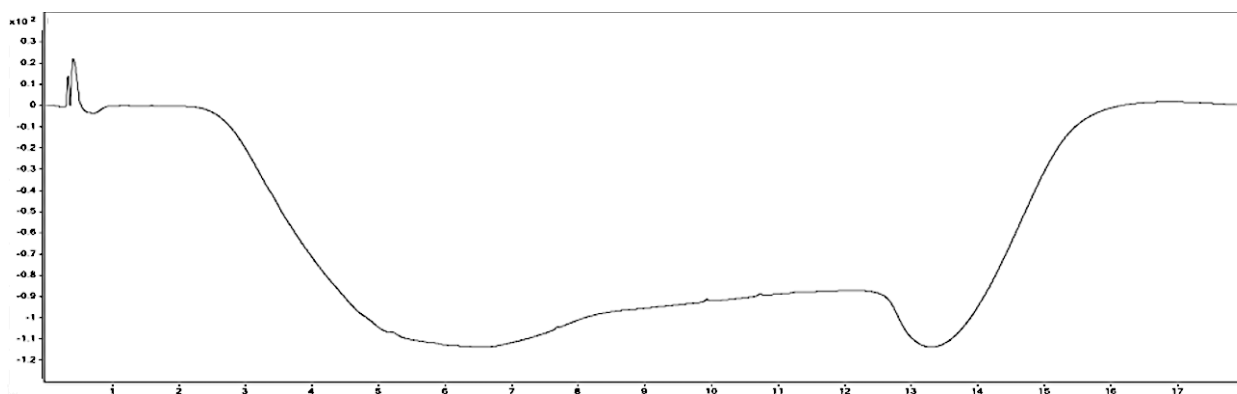


Рис 4.39 Хроматограма ВЕРХ/УФ досліджуваного розчину для визначення нелетких речовин

За даними мас-спектру в позитивному ESI режимі сполуку ідентифікували як похідну АФІ - гіалуронової кислоти, тому джерелом її потрапляння в імплантат є не вимивання. Отже ця домішка не розглядалась нами серед речовин, що вимиваються/екстрагуються з первинного пакування.

### 4.2.3 Домішки металів

Серед металів, що потенційно можуть вимиватись з первинного пакування, оцінювали вміст всіх металів, представлених в таблиці з допустимими межами вище. Результати, отримані методом ІСП/МС, оцінювали за еталонними стандартами перевірених металів. Піки МС порівнювали з бібліотекою МС для ГХ і з відомими шаблонами МС для РХ для ідентифікації виявлених сполук. Методом ІСП/МС було визначено лише один метал, який виходив за межі передбачуваного допустимого

вмісту (0,005 мкг/л після 50-кратного розведення), а саме літій (Li) з вмістом 0,01 мкг/л.

Літій у таких слідових рівнях не має токсикологічного чи біологічного ефекту.

Боросилікатне скло, яке використовується для виготовлення циліндрів шприців для зберігання гелю, містить не тільки кремній та бор, але й лужні метали — натрій, калій та літій — у невеликих концентраціях. Оксид літію ( $\text{Li}_2\text{O}$ ) додають до скла для підвищення термостійкості, зменшення коефіцієнта теплового розширення та покращення хімічної стійкості. Частина цих іонів може вилугуватися в розчин під час тривалого контакту, особливо якщо середовище має певну іонну силу, рН або в'язкість, що сприяє дифузії.

Присутність низьких концентрацій невідомих вимитих речовин було визначено допустимим.

#### Висновки до розділу 4

1. Теоретично обґрунтовано профіль та алгоритм виявлення речовин, що екстрагуються з первинного пакування та вимиваються під дією гелю гіалуронової кислоти для медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти.
2. Для дослідження речовин, що екстрагуються, обрані як екстракційні середовища полярні розчинники. Водно-кислі та водно-лужні зразки використовувались для моделювання крайніх значень рН досліджуваних імплантатів, а суміш ізопропанолу з водою застосовувалась як полярний органічно-водний модельний розчин для розширеної екстракції полярних і ліпофільних компонентів. При дослідженні речовин, що екстрагуються, не було виявлено летких органічних, напівлетких органічних, нелетких органічних речовин та аніонів. Було виявлено невеликі кількості ряду металів та проведено токсикологічну оцінку їх вмісту в продукті, зважаючи на парентеральний спосіб його застосування з використанням значення PDE.

3. Умови визначення речовин, що вимиваються з первинного пакування під дією гелю гіалуронової кислоти були аналогічними. За результатами експериментальних досліджень не було виявлено летких органічних, нелетких органічних речовин та аніонів. Було визначено одну напівлетку органічну речовину, яку було ідентифіковано як вірогідну похідну основного компоненту гіалуронату натрію та не розглядали з точки зору токсичності. Серед металів було визначено слідові кількості літію, що перевищували очікувані допустимі межі. В результаті аналізу вказано потенційні джерела літію в гелі та проведено токсикологічну оцінку для підтвердження безпечності.
4. У результаті проведених досліджень доведено безпечність застосування медичних виробів імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти в досліджуваному виконанні.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Bondarets I. R., Georgiyants V. A. The experimental study of the quality and safety of injectable implant medical devices based on hyaluronic acid in accordance with the requirements of the EU Regulation. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23(3). P. 28–35. DOI: 10.24959/ophcj.25.339976.

2. Бондарець І. Р., Георгіянц В. А. Визначення речовин, що вимиваються, та речовин, що екстрагуються для медичних виробів. *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. internet-конф., м. Харків, 7 листоп. 2025 р. Харків : НФаУ, 2025. С. 84.*

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено вирішення наукової задачі щодо теоретичного обґрунтування та експериментальної імплементації підходів для забезпечення якості імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти

1. Проведено аналіз літературних даних щодо сучасного стану регуляторних вимог до медичних виробів, а також щодо досліджень препаратів з вмістом гіалуронової кислоти.

2. Розроблено оригінальний підхід до регулювання та класифікації медичних виробів в Україні згідно з сучасними регуляторними вимогами Європейського Союзу. Розроблено дерева рішень що наводять критерії до визначення класу ризику медичних виробів.

3. Запропоновано узагальнений підхід до визначення показників якості та розробки специфікації медичних виробів на основі попередньої оцінки ризиків безпеки та ефективності продукту. Імплементація цього підходу дозволила визначити основні показники, що забезпечують якість імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти. Ці показники рекомендовано вносити у специфікацію продукту виробництва.

4. Для кількісного визначення гіалуронової кислоти у складі імплантатів ін'єкційних обрано методику ЄФ для натрію гіалуронату. Доведено прийнятність використання цієї методики для визначення вмісту натрію гіалуронату в складі імплантатів ін'єкційних проведенням валідаційних досліджень.

5. На основі ідентифікації та кількісної оцінки ризиків при виробництві імплантатів ін'єкційних з гіалуроновою кислотою визначено критичні точки виробництва та здійснено ретроспективну валідацію за визначеними показниками. Доведено стабільність результатів в процесі виробництва.

6. Обґрунтовано методологію та проведено експериментальне визначення речовин, що екстрагуються з циліндрів та пробок, які використовуються в якості первинного пакування для медичних виробів імплантатів ін'єкційних. За результатами досліджень не було виявлено летких органічних, напівлетких

органічних, нелетких органічних речовин та аніонів. Здійснено токсикологічну оцінку для виявлених незначних кількостей металів з використанням значення PDE.

7. Експериментальне визначення речовин, що вимиваються з первинного пакування під дією гелю гіалуронової кислот показало відсутність летких органічних, нелетких органічних речовин та аніонів. Виявлену напівлетку речовину ідентифіковано як вірогідну похідну гіалуронату натрію, виявленим слідовим кількостям літію дана токсикологічна оцінка, яка підтвердила безпечність медичного виробу.

8. Фрагменти дисертаційного дослідження впроваджено у виробничий процес ТОВ «Юрія-фарм» та освітньо-науковий процес низки закладів вищої освіти України фармацевтичного профілю.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Про затвердження методичних рекомендацій із застосування Технічного регламенту щодо медичних виробів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 02 жовтня 2013 року № 753, Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 02 жовтня 2013 року № 754, та Технічного регламенту щодо активних медичних виробів, які імплантують, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 02 жовтня 2013 року № 755 : Наказ МОЗ України від 22 січ. 2020 р. № 142. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0142282-20#Text> (дата звернення: 15.01.2026).
2. Quality of care: patient safety. Executive Board 113th Session. Geneva : World Health Organization, 2004. EB113/37.
3. Executive summary of the ECHTA/ECAHI project / E. Jonsson et al. *International Journal of Technology Assessment in Health Care*. 2002. Vol. 18, № 2. P. 213–217.
4. U.S. Food and Drug Administration / Center for Devices and Radiological Health. Washington. URL: <https://www.fda.gov/about-fda/fda-organization> (Date of access: 15.01.2026).
5. Spilker B. *Guide to planning and managing multiple clinical studies*. New York : Raven Press, 1987. 496 p.
6. Office of Technology Assessment. *Federal policies and the medical devices industry*. Washington : U.S. Government Printing Office, 1988. 312 p.
7. Roberts E. B. *New medical devices: invention, development, and use*. Washington : National Academy Press, 1988. 287 p.
8. *Medical devices competitiveness and impact on public health expenditure* / F. Pammolli et al. Brussels : European Commission, 2005. 94 p.
9. Про затвердження переліку національних стандартів, відповідність яким надає презумпцію відповідності медичних виробів для діагностики *in vitro* вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro* : Наказ МОЗ

України від 11 жовт. 2017 р. № 1242. URL: <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ27943> (дата звернення: 15.01.2026).

10. ISO 9001:2015. *Quality management systems – Requirements*. Geneva : International Organization for Standardization, 2015. 40 p.

11. ISO 10993-1:2018. *Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management process*. Geneva : International Organization for Standardization, 2018. 31 p.

12. ISO 13485:2016. *Medical devices – Quality management systems – Requirements for regulatory purposes*. Geneva : International Organization for Standardization, 2016. 36 p.

13. ISO 14971:2019. *Medical devices – Application of risk management to medical devices*. Geneva : International Organization for Standardization, 2019. 44 p.

14. Council Directive 93/42/EEC of 14 June 1993 concerning medical devices. *Official Journal of the European Communities*. 1993. Vol. 169. P. 1–43.

15. Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів : Постанова Кабінету Міністрів України від 02 жовт. 2013 р. № 753. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/753-2013-%D0%BF#Text> (дата звернення: 15.01.2026).

16. Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council on medical devices. *Official Journal of the European Union*. 2017. Vol. 117. P. 1–175.

17. Carl A.-K., Hochmann D. Impact of the new European medical device regulation: a two-year comparison. *Biomedizinische Technik*. 2024. Vol. 69, № 3. P. 317–326.

18. EU MDR 2017/745 will reduce the risk of medical devices: does MDCG got it right? / V. Sagar et al. *International Journal of Drug Regulatory Affairs*. 2021. Vol. 9, № 4. P. 33–36.

19. Buist M., Ortiz-Catalan M. Engineering a quality management system for academic research: navigating challenges to comply with the new medical device regulations in Europe. *Medical Devices (Auckland)*. 2025. Vol. 18. P. 137–147.

20. de Jesus Pacheco D. A., Bonato S. V., Linck W. Advancing quality management in the medical devices industry: strategies for effective ISO 13485 implementation. *International Journal for Quality in Health Care*. 2025. Vol. 37, № 1. P. 1–3.
21. Sharma A., Luthra G. Implementing a risk-based approach to quality management system ISO 13485 processes in compliance with EU MDR 2017/745 for medical device industry. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2023. Vol. 35, № 13. P. 8–19.
22. ДСТУ-Н GHTF/SG3/N99-10:2015. Системи управління якістю. Настанова щодо валідації процесів. URL : [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id\\_doc=69697](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=69697) (дата звернення: 15.01.2026).
23. Нікітюк В. Г., Шакіна Т. М., Ризик-орієнтований підхід до валідації технологічного процесу. *Вісник фармації*. 2020. № 2. С. 50–58.
24. Валідація виробництва таблеток «Уронефрон» / В. Л. Шевіна та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 4. С. 15–21.
25. Glicenstein J. The first «fillers», vaseline and paraffin: from miracle to disaster. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*. 2007. Vol. 52, № 2. P. 157–161.
26. Cockerham K., Hsu V. J. Collagen-based dermal fillers: past, present, future. *Facial Plastic Surgery*. 2009. Vol. 25, № 2. P. 106–113.
27. The history of hyaluronic acid discovery, foundational research and initial use / M. A. Selyanin et al. *Hyaluronic Acid*. London : Elsevier, 2015. Ch. 1. P. 1–24.
28. Kroumpouzou G., Treacy P. Hyaluronidase for dermal filler complications: review of applications and dosage recommendations. *Advancing Digital Health Open Science*. 2024. Vol. 7. P. 1–12.
29. Brandt F. S., Cazzaniga A., Ballin A. Hyaluronic acid gel fillers in the management of facial aging. *Clinical Interventions in Aging*. 2008. Vol. 3, № 1. P. 153–159.
30. *European Pharmacopoeia*. 11th ed. Strasbourg : EDQM, 2023.
31. Romagnoli M., Belmontesi M. Hyaluronic acid-based fillers: theory and practice. *Clinics in Dermatology*. 2008. Vol. 26. P. 123–159.

32. Hyaluronic acid: a powerful biomolecule with wide-ranging applications – a comprehensive review / G. N. Iaconisi et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 12. P. 1–30.
33. Hyaluronic acid–extraction methods, sources and applications / G. Callejas-Quijada et al. *Polymers*. 2023. Vol. 15, № 16. P. 1–24.
34. DeAngelis P. L. Enzymological characterization of *Pasteurella multocida* hyaluronic acid synthase. *Biochemistry*. 1996. Vol. 35, № 30. P. 9768–9771.
35. Srivastav A. K., Suriyakala P. C. Biotechnological production and purification of hyaluronic acid from *Streptococcus zooepidemicus*. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 2023. Vol. 14, № 2. P. 78–83.
36. Ultrasensitive and selective detection of *Staphylococcus aureus* using a novel Ig-Y based colorimetric platform / Y. Zhang et al. *Biosensors and Bioelectronics*. 2019. Vol. 142. P. 111531.
37. Patil K. P., Kamalja K. K., Chaudhari B. L. Optimization of medium components for hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus* MTCC 3523 using a statistical approach. *Carbohydrate Polymers*. 2011. Vol. 86. P. 1573–1577.
38. Huang W.-C., Chen S.-J., Chen T.-L. Production of hyaluronic acid by repeated batch fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 2008. Vol. 40. P. 460–464.
39. Ogrodowski C. S., Hokka C. O., Santana M. H. A. Production of hyaluronic acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2005. Vol. 122. P. 753–761.
40. Microbial production of low molecular weight hyaluronic acid by adding hydrogen peroxide and ascorbate in batch culture of *Streptococcus zooepidemicus* / L. Liu et al. *Bioresource Technology*. 2009. Vol. 100. P. 362–367.
41. Rangaswamy V., Jain D. An efficient process for production and purification of hyaluronic acid from *Streptococcus equisubsp. zooepidemicus*. *Biotechnology Letters*. 2008. Vol. 30. P. 493–496.
42. Wenbin L., Mengsi M., Zehua L. Intra-articular injectable hydroxypropyl chitin/hyaluronic acid hydrogel as bio-lubricant to attenuate osteoarthritis progression. *Materials Design*. 2022. Vol. 217. P. 110646.

43. John W. B., Joseph J. L., Carson K. M. S. Patients with knee osteoarthritis who receive platelet-rich plasma or bone marrow aspirate concentrate injections have better outcomes than patients who receive hyaluronic acid: systematic review and meta-analysis. *Arthroscopy*. 2023. Vol. 39. P. 1714–1734.
44. Alberto G., Macarena M., Giulia A. Double-blinded prospective randomized clinical trial in knee joint osteoarthritis treatment. *Journal of Cartilage Joint Preservation*. 2022. Vol. 2. P. 100043.
45. Vineet K. R., Ivy S., Mahboob A. Microneedle arrays for cutaneous and transcutaneous drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2023. Vol. 79. P. 104058.
46. Yusuke S., Edward H. N., Hiroshi S. Current regenerative medicine-based approaches for skin regeneration. *Regenerative Therapy*. 2022. Vol. 21. P. 73–80.
47. Alexander H., Ronny P. Hyaluronic acid applications in ophthalmology, rheumatology, and dermatology. *Carbohydrate Research*. 2020. Vol. 489. P. 107950.
48. Soares D. J., Zuliani G. F. Orbital post-septal hyaluronic acid. *JPRAS Open*. 2022. Vol. 34. P. 173–177.
49. Efficacy of artificial tears containing trehalose and hyaluronic acid / A. J. Mateo-Orobia et al. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2023. Vol. 26. P. 101845.
50. Metabolism of BDDE-crosslinked hyaluronic acid dermal fillers / K. De Bouulle et al. *Dermatologic Surgery*. 2013. Vol. 39, № 12. P. 1758–1766.
51. Hyaluronic acid and chondroitin sulfate (meth)acrylate-based hydrogels for tissue engineering: synthesis, characteristics and pre-clinical evaluation / C. C. Schuurmans et al. *Biomaterials*. 2021. Vol. 268. P. 120602.
52. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications / C. E. Schanté et al. *Carbohydrate Polymers*. 2011. Vol. 85. P. 469–489.
53. Development of a BDDE-crosslinked hyaluronic acid based microneedles patch as a dermal filler for anti-ageing treatment / J. N. Zhang et al. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2018. Vol. 67. P. 3991–3997.

54. Leaching and extraction of additives from plastic pollution to inform environmental risk: a multidisciplinary review of analytical approaches / J. H. Bridson et al. *Journal of Hazardous Materials*. 2021. Vol. 414. P. 125571.
55. Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity / P. Ventrice et al. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2013. Vol. 36, № 1. P. 88–96.
56. Paine F. A., Lockhart H. *Packaging of pharmaceuticals and healthcare products*. New York : Springer Science+Business Media, 1996. 211 p.
57. Nasa P. A review on pharmaceutical packaging material. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. Vol. 3, № 5. P. 344–368.
58. Effect of the material of primary packaging containers on providing of visual inspection of pharmaceutical products / V. G. Demyanenko et al. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2016. Vol. 1, № 1. P. 60–72.
59. Ahuja S., Dong M. W. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. Amsterdam ; Boston ; Heidelberg ; London ; New York ; Oxford ; Paris : Elsevier : Academic Press, 2005. Vol. 6. 600 p.
60. Extractable/leachable substances from plastic materials used as pharmaceutical product containers/devices / D. R. Jenke et al. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2002. Vol. 56, № 6. P. 332–371.
61. EMA. *Guideline on Plastic Immediate Packaging Materials (CPMP/QWP/4359/03 & EMEA/CVMP/205/04)*. London : European Medicines Agency, 2005. 11 p.
62. Kushwaha P., Madan A. Extractables and leachables: an overview of emerging challenges. *Pharmaceutical Technology*. 2008. Vol. 32, № 8. P. 1–14.
63. Development of safety qualification thresholds and their use in orally inhaled and nasal drug product evaluation / D. Ball et al. *Toxicological Sciences*. 2007. Vol. 97, № 2. P. 226–236.
64. Product Quality Research Institute. *Safety thresholds and best practices for extractables and leachables in orally inhaled and nasal drug products*. Washington, 2006. 68 p.

65. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH Q3C(R8): *Impurities: Residual Solvents*. Geneva : ICH, 2021. 14 p.
66. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH Q3D(R2): *Guideline for Elemental Impurities*. Geneva : ICH, 2019. 25 p.
67. Determination of di(2-ethylhexyl) phthalate in plastic medical devices / I. Kostic et al. *Hemijaska Industrija*. 2016. Vol. 70. P. 159–164.
68. Neurotoxic effects of nephrotoxic compound diethylene glycol / C. N. Jamison et al. *Clinical Toxicology*. 2021. Vol. 59, № 9. P. 810–821.
69. Postcards from Beijing: annual meeting abstracts / R. Vohra et al. *Journal of Medical Toxicology*. 2010. Vol. 6. P. 360–366.
70. Assessment of heavy metals migrated from food contact plastic packaging: Bangladesh perspective / S. E. Akther et al. *Heliyon*. 2023. Vol. 9. P. e19667.
71. A comprehensive approach for the determination of extractable and leachable metals in pharmaceutical products by inductively coupled plasma / D. J. Zuccarello et al. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2009. Vol. 63. P. 339–352.
72. Identification of an exposure risk to heavy metals from pharmaceutical grade rubber stoppers / X. Li et al. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2017. Vol. 25. P. 723–730.
73. Mass spectrometry-based techniques for the detection of non-intentionally added substances in bioplastics / N. Riboni et al. *Separations*. 2023. Vol. 10. P. 222.
74. Genotoxicity evaluation of medical devices: a regulatory perspective / T. S. Kumaravel et al. *Mutation Research / Reviews in Mutation Research*. 2022. Vol. 789. P. 108407. DOI: 10.1016/j.mrrev.2021.108407.
75. Regulatory and risk oriented approach to the design and development of medical devices in accordance with Ukraine regulations / I. Bondarets et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69, № 2. P. 493–500. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e82316.

76. Study of leachable compounds in hospital pharmacy-compounded prefilled syringes, infusion bags and vials / W. Bello et al. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024. Vol. 113. P. 3227–3237. DOI: 10.1016/j.xphs.2024.08.004.
77. Is read-across for chemicals comparable to medical device equivalence and where to use it for conformity assessment? / J. Sündermann et al. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2024. Vol. 149. P. 105622.
78. Maak T. G., Wylie J. D. *Medical Device Regulation: A Comparison of the United States and the European Union*. Cham : Springer International Publishing, 2016. 289 p.
79. New European regulation for medical devices: what is changing? / N. Martelli et al. *Cardiovasc. Intervent. Radiol*. 2019. Vol. 42(9). P. 1272–1278.
80. Thomas J., Hagedorn I. R., Sundar K. A concept ideation framework for medical device design. *Journal of Biomedical Informatics*. 2015. Vol. 55. P. 218–230.
81. Privitera M. B., Evans M., Southee D. Human factors in the design of medical devices – approaches to meeting international standards in the European Union and USA. *Applied Ergonomics*. 2017. Vol. 61. P. 45–53.
82. Christopher J. V., Li Y., Ann B. Integration of human factors and ergonomics during medical device design and development. *Applied Ergonomics*. 2014. Vol. 45. P. 1602–1611.
83. Aronson J. K., Heneghan C., Ferner R. E. Medical devices: definition, classification, and regulatory implications. *BMJ*. 2020. Vol. 369. P. m1313.
84. Regulatory and risk oriented approach to the design and development of medical devices in accordance with Ukraine regulations / I. Bondarets et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69, № 2. P. 493–500.
85. Simkovic I., Hricovini M., Soltés L. Preparation of water-soluble/insoluble derivatives of hyaluronic acid by cross-linking with epichlorohydrin in aqueous NaOH/NH<sub>4</sub>OH solution. *Carbohydrate Polymers*. 2000. Vol. 41. P. 9–16.
86. Fan H., Hu Y., Qin L. Porous gelatin-chondroitin-hyaluronate tri-copolymer scaffold containing microspheres loaded with TGF- $\beta$ 1 induces differentiation of

mesenchymal stem cells in vivo for enhancing cartilage repair. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2006. Vol. 77. P. 785–794.

87. Scott J. E. Extracellular matrix, supramolecular organization and shape. *Journal of Anatomy*. 1995. Vol. 187. P. 259–269.

88. Rhodes J. M., Simons M. The extracellular matrix and blood vessel formation; not just a scaffold. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2007. Vol. 11. P. 176–205.

89. Zhu J. Bioactive modification of poly(ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*. 2010. Vol. 31. P. 4639–4656.

90. Coleman S. R., Grover R. The anatomy of the aging face: volume loss and changes in three-dimensional topography. *Aesthetic Surgery Journal*. 2006. Vol. 26. P. 54–59.

91. Al-Sibani M., Al-Harrasi A., Neubert R. H. H. Characterization of linear and chemically cross-linked hyaluronic acid using FTIR, ESI-MS, <sup>1</sup>H NMR and SEM. *Journal of Biochemical and Analytical Studies*. 2018. Vol. 3, № 1. P. 1–8.

92. Державна Фармакопея України : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014–2015. Т. 1. – 1128 с.; Т. 2. – 724 с.; Т. 3. – 732 с.

93. ISO 7864:2016. *Sterile hypodermic needles for single use – Requirements and test methods*. Geneva : International Organization for Standardization, 2016. 15 p.

94. ISO 10555-3:2013. *Intravascular catheters – Sterile and single-use catheters – Part 3: Catheters for central venous access*. Geneva : International Organization for Standardization, 2013. 24 p.

95. A simple method for hyaluronic acid quantification in culture broth / J.-M. Song et al. *Carbohydrate Polymers*. 2009. Vol. 78. P. 633–634.

96. Quantification of hyaluronan in pharmaceutical formulations using high performance capillary electrophoresis and the modified uronic acid carbazole reaction / M. Plätzer et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1999. Vol. 21, № 3. P. 491–496.

97. Park S.-W., Lee W. Development of a validated HPLC method for the determination of hyaluronic acid in dietary supplement formulations. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2015. Vol. 36. P. 1270–1273.
98. Validation of a commercial human ELISA to measure hyaluronic acid concentration in feline plasma / K. E. Shaw et al. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2022. Vol. 34, № 1. P. 86–89.
99. An improved methodology for the quantification of uronic acid units in xylans and other polysaccharides / J. Li et al. *Carbohydrate Research*. 2007. Vol. 342, № 11. P. 1442–1449. DOI: 10.1016/j.carres.2007.03.031.
100. *Sodium hyaluronate*. № 1472. *European Pharmacopoeia*. 11th ed. Strasbourg : EDQM, 2023. P. 3248.
101. Валідація аналітичних методик і випробувань 5.3.N.2. *Державна Фармакопея України*. URL: <https://sphu.org/wp-content/uploads/2024/09/validation-2.7.pdf> (дата звернення: 15.01.2026).
102. Валідація аналітичних методик і випробувань. Дод. 2. *Державна Фармакопея України*. URL: <https://sphu.org/napryamky-diyalnosti/viddil-validaciyi-ta-sz/validaciya-analitichnix-metodik-ta-viprobuvan> (дата звернення: 15.01.2026).
103. Бондарець І., Георгіянц В. Оцінювання придатності методики кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Health Education*. 2024. № 2. P. 117–124.
104. Al-Sibani M., Al-Harrasi A., Neubert R. H. H. Study of the effect of mixing approach on cross-linking efficiency of hyaluronic acid-based hydrogel cross-linked with BDDE. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016. Vol. 91. P. 131–137.
105. Modification and cross-linking parameters in hyaluronic acid hydrogels—definitions and analytical methods / L. Kenne et al. *Carbohydrate Polymers*. 2013. Vol. 91. P. 410–418.
106. Process validation and revalidation in medical device production / Y. Zhao et al. *Procedia Manufacturing*. 2017. Vol. 174. P. 686–692.

107. Preparation and characterization of new hydrogels based on hyaluronic acid and  $\alpha,\beta$ -polyaspartylhydrazide / G. Pitarresi et al. *European Polymer Journal*. 2007. Vol. 43. P. 3953–3962.

108. ДСТУ ІЕС/ISO 31010:2013. Керування ризиком. Методи загального оцінювання ризику. Київ : Мінекономрозвитку України, 2015. URL: [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=66723](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=66723) (дата звернення: 15.01.2026).

109. ISO 14644-1:2015. *Cleanrooms and associated controlled environments. Part 1: Classification of air cleanliness*. Geneva : International Organization for Standardization, 2015. 24 p.

110. An approach to the technological process validation of manufacturing medical devices using the example of injectable implants based on hyaluronic acid / I. Bondarets et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. № 6(52). P. 111–123.

111. *EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*. Vol 4. European Commission. URL: [https://health.ec.europa.eu/latest-updates/eudralex-volume-4-eu-guidelines-good-manufacturing-practice-medicinal-products-human-and-veterinary-2022-02-21\\_en](https://health.ec.europa.eu/latest-updates/eudralex-volume-4-eu-guidelines-good-manufacturing-practice-medicinal-products-human-and-veterinary-2022-02-21_en) (Date of access: 15.01.2026).

112. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2015. Київ : МОЗ України, 2015. 31 с.

113. ISO 8258:1991. *Shear needles for single use – Requirements and test methods*. Geneva : International Organization for Standardization, 1991. 12 p.

114. Goud N. S. Biocompatibility evaluation of medical devices. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*. 3rd ed. London : Academic Press, 2024. P. 957–973.

115. Stir bar sorptive extraction combined with GC–MS/MS for determination of low level leachable components from implantable medical devices / B. L. Armstrong et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013. Vol. 74. P. 162–170.

116. Advances and principles of hyaluronic acid production, extraction, purification, and its applications: a review / F. Saadati et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025. Vol. 312. P. 143839.
117. Gorre V. C., [Lakshmi](#) B., Karunakar A. Method development and method validation of volatile leachables amount for oncology drug product injection by HS-GC–MS technique. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 2025. Vol. 29, № 5. P. 118–127.
118. Tanaka M. S., Saylor D., Elder R. Polymer-interface-tissue model to estimate leachable release from medical devices. *Mathematical Medicine and Biology*. 2024. Vol. 41, № 4. P. 382–403.
119. Hyaluronic acid for sinonasal surgery: a systematic review and meta-analysis / E. Gao et al. *International Forum of Allergy and Rhinology*. 2025. Vol. 10, № 2. P. 199–207.
120. Efficacy of intra-articular hyaluronic acid and corticosteroid co-injection versus hyaluronic acid in knee osteoarthritis / M. Saleem et al. *Proceedings of Shaikh Zayed Medical College*. 2024. Vol. 38, № 4. P. 285–289.
121. Use of new formulation in hyaluronic acid in regenerative medicine / I. V. Acosta et al. *Regenerative Medicine in Sports and Orthopaedics*. Cham : Springer Nature, 2025. P. 315–324.
122. Comparing the impact of hyaluronic acid injections and exercise therapy alone and combined on postural sway / G. Torkaman et al. *International Journal of Therapy and Rehabilitation*. 2025. Vol. 32, № 4. P. 1–17.
123. ISO/TS 21726:2019. *Medical devices – Application of ISO 14971 to medical devices*. Geneva : International Organization for Standardization, 2019.
124. Dorival-García N., Bones J. Evaluation of solvent systems for optimized extractables studies of single-use bioprocessing solutions. *Journal of Chromatography A*. 2017. Vol. 1513. P. 69–77.
125. Migration and extraction behavior of additives from polymeric materials used in food and pharmaceutical contact applications / J. Li et al. *Science and Technology of Materials*. 2024. Vol. 4, № 1. P. 6–21.

126. Li J., Sobańka A. A systematic analysis of the effect of extraction solvents on extractables and leachables studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2023. Vol. 222. P. 115081.
127. Accelerated extractable studies of borosilicate glass containers / S. J. Borchert et al. *Journal of Parenteral Science and Technology*. 1989. Vol. 43, № 2. P. 67–79.
128. Extractable and leachable implications on biological products in prefilled syringes / Y. Nashed-Samuel et al. *American Pharmaceutical Review*. 2011. Vol. 14, № 1. P. 74–80.
129. (1664). *Assessment of drug product leachables associated with pharmaceutical packaging/delivery systems*. *United States Pharmacopeia*. Rockville : USP–NF, 2022. URL: [https://doi.usp.org/USPNF/USPNF\\_M7127\\_03\\_01.html](https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M7127_03_01.html) (Date of access: 15.12.2025).
130. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH Q3D(R1): *Guideline for Elemental Impurities*. Geneva : ICH, 2017. 26 p.
131. ISO 10993-17:2023. *Biological evaluation of medical devices – Part 17: Toxicological risk assessment of medical device constituents*. Geneva: International Organization for Standardization, 2023. 32 p.
132. ISO 10993-18:2020. *Biological evaluation of medical devices – Part 18: Chemical characterization of medical device materials within a risk management process*. Geneva : International Organization for Standardization, 2020. URL: <https://www.iso.org/ru/standard/64750.html> (Date of access: 15.12.2025).
133. Bondarets I. R., Georgiyants V. A. The experimental study of the quality and safety of injectable implant medical devices based on hyaluronic acid in accordance with the requirements of the EU regulation. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, № 3. P. 28–35.
134. Leachables in syringes containing ethanol, propofol or mRNA vaccine / T. Kostadinova et al. *European Journal of Hospital Pharmacy*. 2025. Vol. 32, № 1. P. 29–35.
135. Hyaluronic acid applications in modern regenerative medicine: clinical perspectives / E. Gao et al. *Regenerative Medicine*. 2025. Vol. 20, № 3. P. 245–258.

## ДОДАТОК А

### Список публікацій здобувача

1. Regulatory and risk oriented approach to the design and development of medical devices in accordance with Ukraine regulations / I. Bondarets et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69(2). P. 493–500. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e82316. (Особистий внесок – експертиза регуляторних вимог на ринку Європейського Союзу до медичних виробів, розробка дерева рішень для визначення класу ризику медичних виробів, аналіз результатів, розробка проекту алгоритму, оформлення та підготовка статті до друку).
2. An approach to the technological process validation of manufacturing medical devices using the example of injectable implants based on hyaluronic acid / I. Bondarets et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. Vol. 6(25). P. 111–123. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.319456. (Особистий внесок здобувача – розробка підходу до валідації технологічного процесу залежно від типу медичного виробу та його характеристик, а саме лінійки імплантатів ін'єкційних на основі гіалуронової кислоти, експериментальні дослідження, оформлення та підготовка статті до друку; внесок Сидоренко Л.В. - виконана частина експериментального дослідження; внесок Антоненко О. - виконання аналізу літературних даних; внесок Лебеда С. - виконання аналізу літературних даних та узагальнення фізико – хімічних даних; внесок Георгіяню В.А. - формулювання цілей та задач дослідження, формулювання висновків).
3. Бондарець І. Р., Георгіяню В. А. Оцінювання придатності методики кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Health Education*. 2024. № 2. P. 117–124. DOI: 10.32782/health-2024.2.15. (Особистий внесок здобувача – проведення дослідження, аналіз результатів, оформлення та підготовка статті до друку; особистий внесок Георгіяню В.А. - допомога в організації експериментальних досліджень; формулювання цілей та задач дослідження).
4. Bondarets I. R., Georgiyants V. A. The experimental study of the quality and safety of injectable implant medical devices based on hyaluronic acid in accordance with

the requirements of the EU Regulation. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23(3). P. 28–35. DOI: 10.24959/ophcj.25.339976. (Особистий внесок здобувача – формування стратегії дослідження, аналіз результатів, оформлення та підготовка статті до друку; особистий внесок Георгіяню В.А. - допомога в організації експериментальних досліджень; формулювання цілей та задач дослідження).

5. Управління ризиками в розробці та життєвому циклі медичних виробів / І. Р. Бондарець та ін. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 507–509.

6. Бондарець І. Р., Сидоренко Л. В., Георгіяню В. А. Підхід до стратегії розробки медичних виробів. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. дистанційної конф., м. Харків, 1 лют. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 89.

7. Бондарець І. Р., Сидоренко Л. В., Горохова О. В. Підхід до валідації технологічного процесу виготовлення медичних виробів. *Modern chemistry of medicines* : матеріали Міжнар. internet-конф., м. Харків, 1 трав. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 123–124.

8. Problems of medical devices standardization for the Ukraine market in view of European integration / I. Bondarets et al. *Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations* : materials of the international conference, March 22, 2024. Kaunas, 2024. P. 48.

9. Бондарець І. Р., Георгіяню В. А. Розрахунок очікуваного терміну використання медичного виробу на прикладі імплантатів ін'єкційних за вимогами оновлених регуляторних вимог Європейського Союзу. *Modern chemistry of medicines*: матеріали Міжнар. internet-конф., до 85-річчя з дня народж. проф. П. О. Безуглого, м. Харків, 25 верес. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 65.

10. Бондарець І. Р., Георгіяню В. А. Валідація кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробах – імплантатах ін'єкційних. *Modern chemistry*

*of medicines* : матеріали Міжнар. internet-конф., до 85-річчя з дня народж. проф. П. О. Безуглого, м. Харків, 25 верес. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. *Poster presentation*.

11. Бондарець І. Р., Георгіянц В. А. Визначення речовин, що вимиваються, та речовин, що екстрагуються для медичних виробів. *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. internet-конф., м. Харків, 7 листоп. 2025 р. Харків : НФаУ, 2025. С. 84.*

Продовж. дод. А

### Апробація результатів дисертації

1. XXVIII Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів, присвяченої 150-річчю з дня народження М. О. Валяшка «Topical issues of new medicines development» (Харків, 18–19 березня 2021 р., формаучасті – публікація тез);
2. II Міжнародна науково-практична дисертаційна конференція «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (Харків, 1 лютого 2022 р., форма участі – публікація тез);
3. Міжнародна internet-конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, НФаУ, 2023, форма участі – публікація тез);
4. International conference «Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations» (Kaunas, March 22, 2024, форма участі – публікація тез);
5. Міжнародна internet-конференція до 85-річчя з дня народження проф. П. О. Безуглого «Modern chemistry of medicines» (Харків, 25 вересня 2024 р., форма участі – публікація тез);
6. Міжнародна internet-конференція до 85-річчя з дня народження проф. П. О. Безуглого «Modern chemistry of medicines» (Харків, 25 вересня 2024 р., форма участі – постерна доповідь);
7. Міжнародна internet-конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, 7 листопада 2025 р., форма участі – публікація тез).

## ДОДАТОК Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної та  
наукової роботи ДНП «Львівський  
національний медичний університет  
імені Данила Галицького»  
доктор медичних наук,

проф. Вікторія Сергієнко

«12» «Березня» 2025р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** матеріали експериментальних досліджень щодо методики кількісного визначення гіалуронату натрію в імплантатах ін'єкційних.
2. **Установа, автор:** 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, НФаУ, кафедра фармацевтичної хімії, аспірант Бондарець І.Р., проф. Георгіянц В.А.
3. **Джерела інформації:** Бондарець Інна, Георгіянц Вікторія. Оцінювання придатності методики кількісного визначення гіалуронату натрію в медичних виробках – імплантатах ін'єкційних. *Фармація*. 2024; Вип. 2: 117-124. doi: <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.15>
4. **Де впроваджено:** в наукову роботу кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького». Дисципліна: «Фармацевтична хімія».
5. **Форма впровадження:** проведення наукових досліджень.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань науковців у розробці методик кількісного визначення основного компоненту в складі медичного виробу.
7. **Строки впровадження:** 2024 – 2025 навчальний рік.

«12» «Березня» 2025р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. фармацевтичної, органічної і  
біоорганічної хімії ДНП «ЛНМУ імені  
Данила Галицького», д. фарм. наук, проф.


 Роман Лесик

Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО Тернопільського  
національного медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського з наукової  
роботи



проф. І.М. Кліщ

«24» «січня» 2024р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** матеріали експериментальних досліджень ризикорієнтованого підходу до розробки нових медичних виробів.
2. **Установа, автор:** Inna Bondarets, Lyudmila Sidorenko, Victoriya Georgiyants, Volodymyr Mishchenko. 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. НФаУ,
3. **Джерела інформації:** Inna Bondarets, Lyudmila Sidorenko, Victoriya Georgiyants, Volodymyr Mirhchenko. Regulatory and risk oriented approach to the design and development of medical devices in accordance with Ukraine regulations. Pharmacia. 2022; Vol. 69 (2): 493-500. doi: <http://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e82316>
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармацевтичної хімії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського.
5. **Форма впровадження:** навчальний курс, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів у підходах до фармацевтичної розробки медичних виробів.
7. **Строки впровадження:** 2025 – 2026 навчальний рік.  
«24» «січня» 2024р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. фармацевтичної хімії

ТНМУ ім. І. Я. Горбачевського д.фарм. наук, проф.

Л.С. Логойда

Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Директор з досліджень та розробки  
ТОВ «Юрія-фарм»  
  
Н.В. Литвиненко  
«14» «квітня» 2025 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозицій для впровадження:** матеріали експериментальних досліджень щодо необхідних доопрацювань медичних виробів враховуючи оновлення регуляторних вимог Європейського Союзу щодо медичних виробів.
- 2. Установа, автор:** 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, НФаУ, кафедра фармацевтичної хімії, аспірант Бондарець І.Р., проф. Сидоренко Л.В., Антоненко О., Лебедь С., проф. Георгіянц В.А.
- 3. Джерела інформації:** Inna Bondarets, Lyudmila Sidorenko, Olga Antonenko, Serhii Lebed, Victoriya Georgiyants (2024). AN APPROACH TO THE TECHNOLOGICAL PROCESS VALIDATION OF MANUFACTURING MEDICAL DEVICES USING THE EXAMPLE OF INJECTABLE IMPLANTS BASED ON HYALURONIC ACID. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, Vol. 6 (52), 111-123. doi: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.319456>
- 4. Де впроваджено:** проведено переоцінку ризиків наявних медичних виробів; реалізовано приведення у відповідність до оновлених регуляторних вимог медичні вироби імплантати ін'єкційні на основі гіалуронової кислоти за рахунок проведення ряду досліджень, в тому числі валідації технологічного процесу.
- 5. Форма впровадження:** проведення валідації технологічного процесу готового продукту; формування технічного файлу для сертифікації імплантатів ін'єкційних згідно регуляторних вимог Європейського Союзу.
- 6. Ефект від впровадження:** успішне проходження сертифікаційного аудиту європейським регуляторним органом.
- 7. Строки впровадження:** 2024 – 2025 роки.

«14» «квітня» 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Керівник відділу регуляторної відповідності



Васковська М.