

УДК 543.544.743:615.11:615.07

С.В. СУР, О.І. ГРИЗОДУБ, С.М. ГУБАРЬ, Д.А. ЛЕОНТЬЄВ, Н.М. ЗВОЛІНСЬКА,
Н.В. ДЕНИСЕНКО, С.О. ЧИКАЛОВА*Національний фармацевтичний університет**ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»**ДП «Державний експертний центр»*

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ДОМІШОК У ТЕСТОВОМУ ЗРАЗКУ МАЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ УЧАСНИКАМИ 7-ГО РАУНДУ ПРОГРАМИ ПРОФЕСІЙНОГО ТЕСТУВАННЯ ЛАБОРАТОРІЙ З КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

При проведенні 7-го раунду програми професійного тестування лабораторій з контролю якості лікарських засобів (ППТ-7) в Україні був оцінений рівень компетенції як окремих лабораторій, так і всієї системи лабораторій в цілому, при визначенні супровідних домішок фумарової кислоти та неідентифікованої домішки в тестовому зразку малеїнової кислоти методом тонкошарової хроматографії.

В дослідженні взяли участь 46 лабораторій територіальних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів, уповноважених лабораторій та лабораторій відділів контролю якості фармацевтичних підприємств. Результати 26 лабораторій-учасниць (56,5 %) були визнані задовільними, 19 лабораторій (41,3 %) – незадовільними, а результат 1 лабораторії (2,2 %) був визнаний сумнівним.

Визначення основних джерел помилок при візуальній та числовій оцінці вмісту домішок у тестовому зразку малеїнової кислоти методом тонкошарової хроматографії дало можливість провести відповідні корегуючі дії для забезпечення якості робіт, що виконуються лабораторіями, та виконання вимог належної професійної практики.

Ключові слова: контроль якості, лікарські засоби, програми професійного тестування лабораторій, супровідні домішки, тестовий зразок, малеїнова кислота, тонкошарова хроматографія.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

На сьогодні стандартизація роботи лабораторій – це діяльність, що полягає у встановленні загальних положень для вирішення наявних чи можливих завдань з метою досягнення оптимального ступеня впорядкування у сфері контролю якості лікарських засобів. Результатом цієї роботи є підвищення ступеня відповідності фармацевтичних препаратів їх функціональному призначенню, усунення бар'єрів у торгівлі й сприяння науково-технічному співробітництву. Ця діяльність спрямована на розв'язання реально існуючих або потенційних проблем, які

можуть виникнути під час роботи лабораторій з контролю якості лікарських засобів (ЛІЗ).

Лабораторії з контролю якості ЛІЗ несуть велику відповідальність перед уповноваженими державними установами і замовниками за надання правильних і прецизійних результатів досліджень і висновків щодо якості ЛІЗ. Така відповідальність не може базуватися тільки на законодавчих документах, тому й потребує постійної демонстрації лабораторіями відповідно до офіційно визнаних механізмів своєї компетентності і достовірності даних, які вони отримують. **Правильність та прецизійність аналітичних результатів залежить від багатьох факторів, основним з яких є організація в лабораторії системи забезпечення якості [1, 2].**

© С.В. Сур, О.І. Гризодуб, С.М. Губарь, Д.А. Леонт'єв, Н.М. Зволінська, Н.В. Денисенко, С.О. Чикалова, 2012

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Демонстрація компетентності лабораторій, як правило, здійснюється двома основними способами – атестацією та участю у програмах професійного тестування (ППТ).

Схема ППТ, як правило, базується на порівнянні результатів, отриманих лабораторією, з певними значеннями, встановленими на підставі даних, отриманих іншою лабораторією, які признаються як «дійсні» або приписні [3]. У якості тестових зразків (ТЗ) використовуються зразки, які аналізуються лабораторіями в повсякденній практиці [3]. У фармацевтичному аналізі – це субстанції, готові лікарські форми або модельні суміші, які їх імітують.

ВИДІЛЕННЯ НЕ ВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Відповідно до рекомендацій ВОЗ [4], ППТ не повинні обмежуватися порівнянням результатів, отриманих лабораторіями, з приписними значеннями ТЗ. Завданнями ППТ також є:

1. Виявлення недоліків в діяльності лабораторії і надання учасникам консультацій для їх усунення.
2. Збір інформації і інформування професійних і урядових установ про проблеми, що пов'язані з простежуваністю і гармонізацією результатів, і встановлення меж прийнятності результатів.
3. Встановлення характеристик надійності окремих методів, зразків і устаткування, в звичайних умовах і, при необхідності, надання пропозицій щодо корегуючих дій.
4. Отримання інформації, що необхідна для ліцензування або атестації лабораторій.
5. Оцінка і моніторинг корисності проведених тренінгів.

При проведенні попередніх раундів по визначенню візуальної та числової оцінки вмісту супровідних домішок у тестових зразках методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) було встановлено [5, 6], що результати більшості лабораторій-учасниць ставлять під сумнів їх можливість проводити аналіз та розробляти методики з використанням цього методу. У ході ППТ були ідентифіковані проблеми у проведенні випробувань методом ТШХ і представленні їх результатів, що надало можливість запланувати для кожної лабораторії проведення корегуючих дій.

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою даного дослідження була перевірка компетенції лабораторій-учасниць щодо визначення вмісту домішок у ТЗ малеїнової кислоти методом ТШХ у рамках 7 раунду програм про-

фесійного тестування (ППТ-7), забезпечення єдності вимірювань вмісту домішок методом ТШХ та оцінка точності вимірювань вмісту домішок з використанням методу ТШХ.

Функції координатора ППТ-7 виконував відділ Державної Фармакопеї України (ДФУ) ДП «Фармакопейний центр», до оргкомітету ППТ-7 також входили представники Асоціації фармацевтичних виробників України, ДП «Державного фармакологічного центру» (нині – ДП «Державного експертного центру») та Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України (нині – Державної служби України з лікарських засобів).

В раунді брали участь лабораторії фармацевтичних підприємств, територіальних державних інспекцій з контролю якості лікарських засобів, уповноважені лабораторії та інші організації.

ВИКЛАД ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Методика визначення вмісту домішок у ТЗ малеїнової кислоти була розроблена на основі випробування «Фумарова кислота» монографії «Малеїнова кислота» Європейської фармакопеї [7] із тривірневою регламентацією вмісту домішок.

Методика передбачала проведення випробувань та оцінку результатів у відповідності до вимог загальної статті ДФУ 2.2.27 «Тонкошарова хроматографія» [8, 9].

Перед учасниками тестування були поставлені наступні задачі:

1. Визначення загальної кількості домішок у тестовому зразку.
2. Візуальна оцінка вмісту домішки фумарової кислоти та неідентифікованої домішки за результатами порівняння інтенсивностей забарвлення плям.
3. Числова оцінка: розрахунок встановлених (обмежуючих) рівнів вмісту домішок із концентрацій розчинів порівняння та надання результатів візуальної оцінки у числовому вигляді.

За результатами атестації були встановлені наступні приписні значення для вмісту домішок у ТЗ малеїнової кислоти: фумарової кислоти від 1,5 % до 5 %; неідентифікованої домішки – більше 8 %. Допускалася можливість визначення лабораторіями-учасницями більшої кількості домішок, ніж дві – за рахунок присутності у ТЗ домішок на межі виявлення.

Методика передбачала використання розчинів порівняння, що відповідали наступним рівням вмісту домішок:

1. Для вмісту фумарової кислоти:
– розчин порівняння (h) – 1,5 %;

- розчин порівняння (g) – 2,5 %;
- розчин порівняння (f) – 5 %.

2. Для вмісту неідентифікованої домішки:

- розчин порівняння (d) – 4 %;
- розчин порівняння (c) – 8 %;
- розчин порівняння (b) – 11 %.

Результати учасників вважали задовільними, якщо обидві форми представлення результатів (візуальна оцінка та числова оцінка) відповідали приписному інтервалу значень для обох домішок. В протилежному випадку результати вважали незадовільними або сумнівними. Сумнівними вважали результати, для яких візуальна оцінка відповідала приписному інтервалу, рівні вмісту домішок були розраховані правильно, але числова оцінка була надана у некоректній формі і, таким чином, не відповідала приписному значенню.

Одночасно була проведена оцінка якості результатів, одержаних учасниками тестування. Результати, що були одержані із дотриманням вимог ДФУ та параметрів методики, вважали достовірними, а у протилежному випадку – недостовірними.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Організаторами ППТ були отримані звіти з результатами визначення вмісту домішок у ТЗ малеїнової кислоти від 46 лабораторій-учасниць, серед яких: були 24 лабораторії вітчизняних фармацевтичних підприємств, 14 лабораторій територіальних державних інспекцій та 8 уповноважених лабораторій, що здійснюють контроль якості лікарських засобів.

Для дотримання конфіденційності інформації, кожній лабораторії було присвоєно індивідуальний код.

Отримані результати всіх лабораторій-учасниць наведено в табл. 1.

Задовільні результати візуальної та числової оцінки визначення вмісту домішок у ТЗ малеїнової кислоти отримали 26 лабораторій (56,5 %), 19 лабораторій (41,3 %) отримали незадовільні результати, а результат 1 лабораторії (2,2 %) був визнаний сумнівним.

Вісім лабораторій (під кодами 22, 26, 32, 39, 41, 50, 53 та 60) отримали правильний результат при візуальній оцінці, але неправильно розраховали встановлені рівні вмісту домішок.

Чотири лабораторії (під кодами 11, 29, 37 та 46) отримали неправильний результат при візуальній оцінці, але правильно розраховали встановлені рівні вмісту домішок.

Сім лабораторій (під кодами 12, 18, 20, 25, 40, 43 та 59) отримали неправильний результат при

візуальній оцінці і неправильно розраховали встановлені рівні вмісту домішок.

Результат однієї лабораторії (під кодом 35) був визнаний сумнівним. Дана лабораторія отримала правильний результат при візуальній оцінці і правильно розраховала встановлені рівні вмісту домішок, але надала числову оцінку у редакції: «біля 11 %» для неідентифікованої домішки та «біля 2,5 %» для домішки фумарової кислоти. Така редакція була некоректною для граничного тесту, оскільки неможливо зробити висновок: перевищує вміст домішки встановлений рівень чи ні.

Результати 28 лабораторій (60,9 %) були визнані достовірними, а результати 18 лабораторій (39,1 %) – недостовірними.

Достовірні результати лабораторій – це результати, що були одержані із дотриманням вимог ДФУ та параметрів методики, контрольованих під час тестування, а недостовірні результати – результати, що одержані із порушенням вимог ДФУ та параметрів методики. Більша частина недостовірних результатів була одночасно і незадовільними.

Перед учасниками тестування стояло завдання по визначенню вмісту двох домішок, а не однієї, як у першому тестуванні для методу тонкошарової хроматографії у ППТ-6 [6]. Слід зазначити, що деякі учасники, результати яких були визнані незадовільними, мали незадовільні результати визначення лише за однією із домішок. А саме:

- Лабораторії (під кодами 41 та 32) помилились при розрахунку встановлених рівнів вмісту домішок тільки за однією із домішок, тобто їх помилки належать, скоріш за все, до розряду випадкових.
- Всі лабораторії, що правильно розраховали встановлені рівні вмісту домішок, але одержали неправильний результат при візуальній оцінці, помилились тільки для однієї домішки (коди лабораторій – 11, 29, 37 та 46).
- Лабораторії (під кодами 18, 20, 25 та 43) помилились при візуальній оцінці вмісту тільки однієї домішки, але встановлені рівні вмісту домішок були розраховані неправильно за обома домішками.
- Узагальнені результати ТШХ-визначення, отримані лабораторіями-учасницями ППТ-7, наведено в табл. 2.

При порівнянні результатів, одержаних різними групами учасників, слід відзначити більш високий рівень лабораторій територіальних держінспекцій, уповноважених лабораторій у порівнянні із лабораторіями фармацевтичних підприємств. Що стосується дотримання вимог ДФУ та

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ДОМШОК У ТЗ МАЛЕЙНОВА
КИСЛОТА УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ
(темно-сірим фоном позначені незадовільні результати, світло-
сірим фоном позначені сумнівні результати)**

№ п/п	Код лабораторії	Неідентифікована домішка, результат, %		Фумарова кислота, результат, %		Дотримання вимог ДФУ та методики*
		Візуальний	Числовий	Візуальний	Числовий	
1	1	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
2	5	8-11	8,0-11,0	2,5-5	2,5-5,0	Так
3	6	8-11	8,0-11,0	2,5-5	2,5-5,0	Ні (4)
4	9	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5,0	Так
5	13	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
6	14	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5,0	Так
7	15	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
8	17	8-11	8-11	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
9	23	> 11	> 11	2,5-5	2,5-5,0	Так
10	28	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5,0	Так
11	30	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
12	33	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5,0	Так
13	42	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
14	44	8-11	8,0-11,0	2,5-5	2,5-5,0	Так
15	47	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Ні (4)
16	48	8-11	8-11	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
17	49	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
18	52	8-11	8-11	2,5-5	2,5-5	Так
19	54	8-11	8,0-11,0	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
20	55	8-11	8-11 (біля 10)	2,5-5	2,5-5,0	Так
21	56	8-11	8-11	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
22	57	8-11	8-11 (біля 10)	2,5-5	2,5-5,0	Так
23	58	> 11	> 11	1,5-2,5	1,5-2,5	Ні (1, 3)
24	61	8-11	8,0-11,0	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
25	62	8-11	8,0-11,0	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
26	8	8-11	біля 10	1,5-2,5	біля 2	Ні (1)
27	35	> 11	біля 11	1,5-2,5	біля 2,5	Так
28	22	8-11	0,19	2,5-5	0,075	Ні (4)
29	26	8-11	7,91-10,87	1,5-2,5	0,99-2,475	Ні (1)
30	32	8-11	8-11	2,5-5	0,25-0,5	Так
31	39	8-11	0,16	1,5-2,5	0,05	Ні (1)
32	41	> 11	12-16	2,5-5	2,5-5	Ні (1)
33	50	8-11	0,2	1,5-2,5	0,04	Ні (3)
34	53	8-11	0,18	1,5-2,5	0,04	Ні (5)
35	60	8-11	0,20	1,5-2,5	0,05	Так
36	11	4-8	4-8	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
37	37	4-8	4-8	1,5-2,5	1,5-2,5	Ні (3)
38	29	4-8	4-8	1,5-2,5	1,5-2,5	Ні (3)
39	46	4-8	4,0-8,0	1,5-2,5	1,5-2,5	Так
40	18	4-8	0,16	2,5-5	0,1	Ні (3)
41	20	4-8	0,08-0,16	1,5-2,5	0,03-0,05	Ні (1, 2)
42	25	< 4	< 2,0	1,5-2,5	0,6-1,0	Так
43	43	4-8	0,16	2,5-5	0,1	Ні (1, 2, 4)
44	12	4-8	0,4	< 1,5	0,1	Ні (1, 5)
45	40	< 4	25	< 1,5	15	Ні (1)
46	59	не виявлена	не виявлена	> 5	не зазначено	Ні (1)

Примітки: * – числа 1-5 відповідають наступним параметрам: 1 – перевірка розділювальної здатності ТШХ-пластинок; 2 – діаметр плями при нанесенні проби; 3 – температура; 4 – час насичення хроматографічної камери; 5 – перевірка придатності хроматографічної системи.

Таблиця 2

**УЗАГАЛЬНЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ДОМІШОК
МЕТОДОМ ТШХ ЛАБОРАТОРІЯМИ-УЧАСНИЦЯМИ ППТ-7**

Результати	Кількість лабораторій	Коди лабораторій
Загальна кількість лабораторій, що проводили ТШХ-визначення в рамках ППТ-7	46	1, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 20, 22, 23, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 35, 37, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60
Лабораторії, які отримали задовільні результати:	26 (56,5 %)	1, 5, 6, 8, 9, 13, 14, 15, 17, 23, 28, 30, 33, 42, 44, 47, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 61, 62
Лабораторії, які отримали незадовільні результати:	19 (41,3 %)	11, 12, 18, 20, 22, 25, 26, 29, 32, 37, 39, 40, 41, 43, 46, 50, 53, 59, 60
Лабораторії, які отримали сумнівні результати:	1 (< 2,2 %)	35
Лабораторії, результати яких признані достовірними	28 (60,9 %)	1, 5, 9, 13, 14, 15, 17, 23, 28, 30, 33, 42, 44, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 57, 61, 62, 35, 32, 60, 11, 46, 25
Лабораторії, результати яких признані недостовірними	18 (39,1 %)	6, 8, 12, 40, 18, 20, 22, 26, 29, 39, 41, 43, 47, 50, 53, 37, 58, 59
Лабораторії, які отримали задовільні результати при візуальній оцінці	35 (76,1 %)	1, 5, 6, 8, 9, 13, 14, 15, 17, 22, 23, 26, 28, 30, 32, 33, 35, 39, 41, 42, 44, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 60
Лабораторії, які отримали незадовільні результати при візуальній оцінці	11 (23,9 %)	11, 12, 18, 20, 25, 29, 37, 40, 43, 46, 59
Лабораторії, які правильно розраховали встановлені рівні вмісту домішок	31 (67,4 %)	1, 5, 6, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 17, 23, 28, 29, 46, 30, 33, 35, 37, 42, 44, 47, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 61, 62
Лабораторії, які неправильно розраховали встановлені рівні вмісту домішок	15 (32,6 %)	12, 18, 20, 22, 25, 26, 32, 39, 40, 41, 43, 50, 53, 59, 60
Лабораторії, які надали числовий результат у коректній формі	33 (71,7 %)	1, 5, 6, 9, 11, 13, 14, 15, 17, 20, 23, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 37, 42, 44, 46, 47, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 61, 62
Лабораторії, які надали числовий результат у некоректній формі	13 (28,3 %)	8, 12, 18, 22, 35, 39, 40, 41, 43, 50, 53, 59, 60

Таблиця 3

**ПОРІВНЯЛЬНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТШХ-ВИЗНАЧЕННЯ ЛАБОРАТОРІЙ ТЕРИТОРІАЛЬНИХ
ДЕРЖАВНИХ ІНСПЕКЦІЙ (ТДІ), ЛАБОРАТОРІЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ
ПІДПРИЄМСТВ ТА УПОВНОВАЖЕНИХ ЛАБОРАТОРІЙ В РАМКАХ ППТ-7**

	Лабораторії ТДІ	Лабораторії підприємств	Уповноважені лабораторії
Загалом	14	24	8
Задовільні результати	9 (64,3 %)	9 (37,5 %)	8 (100 %)
Незадовільні результати	5 (35,7 %)	14 (58,3 %)	–
Сумнівні результати	–	1 (4,2 %)	–
Достовірні результати	8 (57,1 %)	13 (54,2 %)	7 (87,5 %)
Недостовірні результати	6 (42,9 %)	11 (45,8 %)	1 (12,5 %)

звичайної аналітичної практики, то більш відповідально до цього ставляться уповноважені та незалежні лабораторії. Дані за результатами, що одержані різними групами учасників, наведено у табл. 3.

Дотримання вимог ДФУ та звичайної аналітичної практики гарантує аналітику отримання задовільних результатів візуальної оцінки хроматограм. Форми звітів для учасників були розроблені таким чином, щоб дослідити коректність виконання учасниками вимог ДФУ [8, 9,

10] та звичайної аналітичної практики при проведенні випробувань методом ТШХ. Вони включали такі параметри, як:

1. Перевірка розділяючої здатності ТШХ-пластинки на відповідність вимогам ДФУ.
2. Діаметр плями при нанесенні проб.
3. Температура, при якій виконується випробування.
4. Параметри методики, що забезпечують одержання коректних результатів: час насичення

ня хроматографічної камери та перевірка придатності хроматографічної системи.

Відсутність даних, що підтверджують вимоги ДФУ до розділяючої здатності ТШХ-пластинки, були підставою вважати результати випробування недостовірними.

Аналіз отриманих звітів показав, що 5 лабораторій (під кодами 8, 12, 40, 39 та 59) не перевіряли розділяючу здатність ТШХ-пластинки на відповідність вимогам ДФУ.

Чотири лабораторії (під кодами 20, 41, 43 та 58) одержали незадовільні результати для цього тесту, що було зафіксовано у звіті учасника під кодом 58, а учасники під кодами 20, 41 та 43 помилково визнали результати тесту задовільними.

Відомості про задовільні результати випробування трьох барвників за відсутності четвертого є недостатніми для висновку щодо належної розділяючої здатності пластинки (такі дані наведено у звіті учасника під кодом 26).

Чотири учасника із десяти, що не одержали задовільні результати тесту на перевірку розділяючої здатності ТШХ-пластинки, мали незадовільні результати візуальної оцінки вмісту домішок.

Діаметр плями, що наноситься на пластинку, відіграє дуже важливу роль і може спричинити невиконання тесту «Придатність хроматографічної системи» та призвести до одержання незадовільних результатів, що докладно обговорювалось при аналізі результатів ППТ-6 [6]. Згідно вимогам Європейської фармакопеї, діаметр плями що наноситься, для звичайної (невисокоєфективної) пластинки має становити 2–6 мм. Відповідно до останніх рекомендацій Європейської фармакопеї та рекомендацій ДФУ [8, 9, 10] діаметр плями, що наноситься, для звичайної ТШХ пластинки має становити 2–5 мм та 1–2 мм – для високоєфективної пластинки.

У лабораторій (під кодами 20, 43 та 44) діаметр плям, що наносили на пластинку, становив 6 мм, 7 мм та 8 мм відповідно, що не відповідає зазначеним вище рекомендаціям. Результати лабораторій під кодами 20 та 43 були визнані недостовірними, та слід зазначити, що дані лабораторії мали незадовільні результати щодо візуальної оцінки вмісту домішок.

При нанесенні проб на пластинку необхідно пам'ятати про можливі крайові ефекти і дотримуватись вимог ДФУ [8, 9, 10] стосовно розташування плям відносно нижнього краю і сторін пластинки та відстані між центрами плям. Нанесення проб на пластини не має супроводжуватись порушенням сорбенту (це сильно впливає на якість розділення).

Для зменшення розміру плями, яка наноситься, допускається використання потоку холодного або теплого повітря. При нанесенні розчинів у більшості органічних розчинників цілком достатнім може бути використання потоку повітря із температурою навколишнього середовища. При нанесенні розчинів у етиловому спирті або воді може бути доцільним використання теплого потоку повітря. При використанні теплого потоку і за відсутності прямих вказівок у тексті методики, аналітик має оцінити ризик одержання недостовірних результатів внаслідок нестабільності речовин, які наносяться (випробовувана речовина і домішки).

Температура випробування є одним із самих критичних параметрів при проведенні випробувань методом ТШХ. Відповідно рекомендацій ДФУ [8, 9, 10], температура, при якій виконуються хроматографічні випробування (насичення хроматографічної камери, хроматографування пластинки), має становити від 20 до 25 °С, для інших видів випробувань рекомендований інтервал температур становить від 15 до 25 °С.

Лабораторії (під кодами 18 та 58) проводили випробування при температурі 18 °С, а лабораторії (під кодами 29, 37 та 50) даних за температурою не надали. У зв'язку з цим, результати вищезазначених лабораторій були визнані недостовірними.

Методика тестування, що була запропонована учасникам ППТ-7, передбачала хроматографування пластинки у ненасиченій камері. Це було обумовлено можливістю реагування компонентів рухомої фази між собою.

В ДФУ відсутні рекомендації стосовно часу, протягом якого хроматографічну камеру можна вважати ненасиченою. У разі, коли хроматографування проводять у ненасиченій камері, пластинка має бути вміщена у камеру одразу після її заповнення рухомою фазою. Однак, якщо під час експерименту виникає затримка, рекомендується провести порівняння часу хроматографування та часу, протягом якого насичувалась хроматографічна камера. Виходячи із досвіду аналітичної практики, координатор ППТ пропонував застосування наступного критерію прийнятності: хроматографічну камеру можна вважати ненасиченою, якщо час між заповненням хроматографічної камери та початком хроматографування складає не більше, ніж 10 % від часу хроматографування. За результатами атестаційних випробувань час хроматографування складав близько 2 годин, таким чином, максимально припустимий час насичення хроматографічної камери для методики тестування складав 12 хвилини. Даний параметр не був виконаний

лабораторіями (під кодами 6, 22, 47 та 43), які насичували хроматографічну камеру протягом 15, 50, 60 та 73 хвилин відповідно. Результати вищезазначених лабораторій були визнані недостовірними.

Результати хроматографічного випробування підлягають оцінці тільки у разі виконання вимог тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи”.

Згідно отриманим звітам, придатність хроматографічної системи задовольняла зазначеним в методиці вимогам всіх лабораторій-учасниць, окрім лабораторії під кодом 12. Ця лабораторія не надала жодних відомостей щодо результатів перевірки придатності хроматографічної системи. Можливо, ця лабораторія не проводила хроматографування розчину для перевірки придатності хроматографічної системи.

Лабораторія під кодом 53 отримала на хроматограмі розчину для перевірки придатності хроматографічної системи три плями замість двох, що не відповідало вимогам тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи». Одержані результати могли бути обумовлені помилкою при приготуванні або нанесенні даного розчину. Результати лабораторії (під кодом 53) були визнані недостовірними.

Вміння провести розрахунки кількості речовин, що наносять на хроматограму, є показником рівня компетентності співробітників лабораторії, свідченням осмисленості процедури, що виконується, і є особливо важливим для лабораторій, що розробляють методики випробувань методом ТШХ.

При візуальній оцінці результатів хроматографування метод ТШХ є граничним випробуванням, тобто оцінюється вміст домішок більше або менше встановленого рівня, який визначається за кількістю речовини на хроматограмі розчину порівняння. В якості речовини порівняння для оцінки вмісту домішки може бути використана, як сама домішка, так і випробовувана речовина. В якості речовини порівняння для оцінки вмісту фумарової кислоти використовували фумарову кислоту (розчини порівняння (f) – 5 %, (g) – 2,5 %, (h) – 1,5 %), для оцінки вмісту неідентифікованої домішки використовували випробовувану речовину (розчини порівняння (b) – 11 %, (c) – 8 %, (d) – 4 %).

Виходячи із встановлених рівнів вмісту домішок, були можливі наступні коректні форми надання числового результату.

1. Для вмісту фумарової кислоти:

- «менше 1,5 %» або «< 1,5 %»;
- «більше 1,5% і менше 2,5%» або «1,5% <X< 2,5%»;
- «більше 2,5 % і менше 5 %» або «2,5 % <X< 5 %»;

• «більше 5 %» або «> 5 %».

2. Для вмісту неідентифікованої домішки:

- «менше 4 %» або «< 4 %»;
- «більше 4 % і менше 8 %» або «4 % <X< 8 %»;
- «більше 8 % і менше 11 %» або «8 % <X< 11 %»;
- «більше 11 %» або «> 11 %».

При наданні числової оцінки результатів випробування, необхідно було знати числові значення встановлених рівнів вмісту домішки та коректно порівняти ці значення із результатами візуальної оцінки. Необхідно було також усвідомлювати, що за результатами граничного випробування визначається діапазон, а не одичне значення для вмісту речовини, що визначається. Із таблиці 2 видно, що 32,6 % учасників некоректно розраховували встановлені рівні вмісту домішок і 28,3 % учасників надали числовий результат у некоректній формі.

У звіті про випробування аналітик має надати одержані результати із такою кількістю значущих цифр, яка відповідає метрологічним характеристикам методу. Для методу ТШХ із візуальною оцінкою не є коректним у розрядах: десятки, соті або тисячні зазначати нуль, оскільки похибка (невизначеність) даного методу більше ніж 10 % (складає близько 30 %).

Під час тестування перед учасниками стояло завдання розрахунку значень коефіцієнту утримування (R_f) для плям на одержаних хроматограмах. Аналіз звітів виявив існування наступних проблем щодо розрахунку та надання значень R_f :

1. Не всі учасники тестування були знайомі із змінами у ДФУ стосовно визначення величини утримування.

Коефіцієнт утримування (R_f) визначають як відношення відстані від точки нанесення проби до центру плями після хроматографування до відстані, пройдені фронтом розчинника від точки нанесення [8].

Лабораторія (під кодом 11), наприклад, розраховувала значення R_f за новими правилами, але в примітках, зазначено, що розрахунок виконаний із відхиленням від існуючих правил.

2. Лабораторія (під кодом 6) надала значення R_f більше 1, що фізично неможливо.

3. При обговоренні результатів 6-го раунду тестування [6] зазначалось, що значення R_f необхідно надавати із точністю до сотих, однак 7 лабораторій (15,2 %) не дотримались даної вимоги. Лабораторії (під кодами 8, 39, 43 та 50) надали значення R_f із точністю до десятих, а лабораторії (під кодами 1, 35 та 58) надали значення R_f із точністю до тисячних.

4. При округленні значення R_f до десятих дві плями, розташовані на відстані 9 мм одна від од-

ної, можуть мати однакові значення R_f (для довжини пробігу фронту, що дорівнює 10 см).

5. Зазначення R_f із точністю до тисячних не є коректним, оскільки це не відповідає розділювальній здатності метода.

Таким чином, важливими елементами забезпечення якості ТШХ-досліджень є:

- Відповідність ТШХ-пластинки вимогам ДФУ щодо розділюючої здатності, гасіння флуоресценції (для пластинок з УФ-індикатором) та відтворюваності значень R_f в межах однієї пластинки.
- Процедури попередньої підготовки пластинок (промивання пластинок, імпрегування, активація пластинок нагріванням в термостаті).
- Використання реактивів, кваліфікація яких відповідає зазначеному в методиці.
- Забезпечення належного температурного режиму та режиму освітлення.
- Уважне виконання пробопідготовки.
- При нанесенні зразка: діаметр плями; відстань від плями до країв пластинки, відстань між плямами; коректне використання потоку повітря.
- Коректна підготовка хроматографічної камери, відповідність форми та розмірів хроматографічної камери та хроматографічної пластинки.
- Положення хроматографічної пластинки у камері, належний рівень рухомої фази у камері.
- Дотримання вимог відносно довжини пробігу фронту розчинників.
- Належне проведення стадії висушування пластинки.
- Досконала техніка проявлення пластинки.
- Перевірка умов придатності хроматографічної системи.
- Коректна оцінка та оформлення одержаних результатів.

Система якості лабораторії має містити письмові процедури, які враховують вимоги та рекомендації керівних документів, досвід аналітичної практики співробітників лабораторії, та забезпечують таким чином одержання достовірних результатів.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

1. У визначенні вмісту супровідних домішок у ТЗ малеїнової кислоти методом ТШХ в ППТ-7 взяли участь 46 лабораторій-учасниць, у т.ч. 14 лабораторій територіальних державних інспекцій, 24 лабораторії вітчизняних фармацевтичних підприємств та 8 уповноважених лабораторій.

2. У цілому задовільні результати отримали 26 лабораторій (56,5 % від загальної кількості учасників), результати 19 лабораторій (41,3 %) були незадовільними, а результат 1 лабораторії (2,2 %) був визнаний сумнівним.

3. Достовірні результати отримали 28 лабораторій (60,9 % від загальної кількості учасників). Результати 18 лабораторій (39,1 %) були визнані недостовірними.

4. Результати ТШХ-визначення в ППТ-7 з урахуванням зауважень до лабораторій, які одержали «задовільні» результати, ставлять під сумнів можливість значної кількості лабораторій-учасниць, належним чином проводити аналіз ЛЗ з використанням цього методу.

5. В якості корегуючих дій рекомендується підвищення кваліфікації співробітників лабораторій з контролю якості лікарських засобів щодо виконання вимог ДФУ і звичайної лабораторної практики у проведенні досліджень з використанням методу ТШХ, врахування факторів, що впливають на процес хроматографування; вміння проводити візуальну та числову оцінку вмісту домішок у досліджуваному зразку з урахуванням концентрації відповідних розчинів порівняння при ТШХ-визначеннях.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2006 IDT): ДСТУ ISO/IEC 17025:2006. – [Чинний від 2007 – 07 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2007. – 40 с. – (Національний стандарт України).
2. Good Practices for Pharmaceutical Quality Control Laboratories. WHO TRS 957, 2010, Annex 1. – P.81-129.
3. Сур С.В. Створення системи професійного тестування лабораторій в системі Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України / Сур С.В., Архіпова Н.М., Зволінська Н.М. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей ЗДМУ. – Запоріжжя, 2003. – Вип. X. – С. 102-105. ISBN 966-7495-13-2.
4. Deom A. Requirements and guidance for external quality assessment schemes for health laboratories / Deom A., Aouad R.El., Neuck C.C. // WHO/DIL/LAB/99.2. – 1999. – 65 p.
5. Сур С. В. Оцінка воспроизводимости величин R_f в различных лабораториях / С.В. Сур, С.О. Чикалова, Н. Н. Зволінская, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 58-67.
6. Сур С. В. Результати визначення супровідної домішки 3-амінопропанолу в тестовому зраз-

- ку декспантенолу методом тонкошарової хроматографії в рамках програм професійного тестування лабораторій із контролю якості лікарських засобів / С.В. Сур [и др.] // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – № 6 (14). – С. 4-11.
7. European Pharmacopoeia 5th edition //Strasbourg: Council of Europe. – 2005. – P. 1966.
8. Державна Фармакопея України /Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с., ISBN 966-96478-1-9.
9. Державна Фармакопея України /Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: PIPEG, 2001. – Доповнення 1. – 2004.– 520 с., ISBN 966-95824-3-1.
10. Державна Фармакопея України /Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: PIPEG, 2001. – 556 с., ISBN 966-95824-1-5.

УДК 543.544.743:615.11:615.07

**С.В. Сур, А.И. Гризодуб, С.Н. Губарь, Д.А. Леонтьев,
Н.Н. Зволинская, Н.В. Денисенко, С.О. Чикалова**

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ В ТЕСТОВОМ ОБРАЗЦЕ МАЛЕИНОВОЙ
КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ УЧАСТНИКАМИ
7-ГО РАУНДА ПРОГРАММЫ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ
ЛАБОРАТОРИЙ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

При проведении 7-го раунда программы профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств (ППТ-7) в Украине был оценен уровень компетентности как отдельных лабораторий, так и всей системы лабораторий в целом, при определении сопутствующих примесей fumarовой кислоты и неидентифицированной примеси в тестовом образце maleиновой кислоты методом тонкослойной хроматографии.

В исследовании приняли участие 46 лабораторий территориальных государственных инспекций по контролю качества лекарственных средств, уполномоченных лабораторий и лабораторий отделов контроля качества фармацевтических предприятий. Результаты 26 лабораторий-участниц (56,5%) были признаны удовлетворительными, 19 лабораторий (41,3%) – неудовлетворительными, а результат 1 лаборатории (2,2%) был признан сомнительным.

Определение основных источников ошибок при визуальной и числовой оценке содержания примесей в тестовом образце maleиновой кислоты методом тонкослойной хроматографии позволило провести соответствующие корректирующие действия для обеспечения качества работ, выполняемых лабораториями, и требований надлежащей профессиональной практики.

Ключевые слова: контроль качества, лекарственные средства, программы профессионального тестирования лабораторий, сопутствующие примеси, тестовый образец, maleиновая кислота, тонкослойная хроматография.

UDC543.544.743:615.11:615.07

S.V. Sur, A.I. Grizodub, S.M. Gubar', D.A. Leontiev, N.M. Zvolinskya, N.V. Denisenko, S.O. Chikalova

**RESULTS OF THE DEFINITION RELATED SUBSTANCES IN THE TEST SAMPLE OF
MALEIC ACID BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY IN THE SEVENTH ROUND OF
PROGRAMS OF PROFESSIONAL TESTS DRUG QUALITY CONTROL LABORATORIES**

At the realization of the seventh round of professional programm test laboratories for drug quality control (PPT-7) in Ukraine was estimated the level of competence as separate laboratories as the whole system of laboratories at the definition related substances of fumaric acid and unspecified impurity in the test sample of maleic acid by thin-layer chromatography.

The study involved 46 laboratories of territorial state inspections for quality control of medicines, authorized laboratories and laboratory for quality control departments of pharmaceutical companies. The results of 26 laboratories-participants (56.5%) were satisfactory, the results of 19 laboratories-participants (41.3%) were unsatisfactory, and the result of a laboratory (2.2%) was considered uncertain.

The estimation of the main sources of mistakes at a visual and numerical assessment of the content of impurities in the test sample of maleic acid by thin-layer chromatography gave an opportunity to conduct appropriate correcting actions for the ensuring of the quality of conducted by laboratories works and supporting of the requirements of good professional practice.

Key words: a quality control, drugs, the professional programs of tests laboratories, related substances, a test sample, maleic acid, thin-layer chromatography.

Адреса для листування:
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.
каф. управління якістю
тел. (057) 68-56-71

Надійшла до редакції:
12.04.2012