

УДК 615.07

М. В. ДМИТРИЕВА

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств, г. Харьков»

ПОДХОД К АТТЕСТАЦИИ ТЕСТОВОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПО ФАРМАКОПЕЙНОМУ МЕТОДУ «ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ОКРАСКИ ЖИДКОСТЕЙ»

С целью включения тестирования по показателю «Определение степени окраски жидкостей» в Программу профессионального тестирования лабораторий контроля качества лекарственных средств, выбран и аттестован тестовый образец (ТО) для определения степени окраски жидкостей. Для подтверждения объективности аттестации ТО субъективным фармакопейным методом по визуальному сравнению интенсивности окраски, предложено использование инструментального метода абсорбционной спектрофотометрии. Возможность применения этого метода в данных условиях и получения достоверных результатов аттестации подтверждена выполнением критериев приемлемости для ключевых валидационных параметров, таких как линейность, прецизионность, правильность. Аттестованный с использованием данного подхода тестовый образец, успешно применен в Программе профессионального тестирования лабораторий.

Ключевые слова: степень окраски жидкостей, абсорбционная спектрофотометрия, аттестация тестового образца, Программа профессионального тестирования лабораторий.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Фармакопейный метод определения степени окрашивания жидкостей является одним из самых доступных, не требующих дорогостоящего инструментального оборудования и экспрессных методов контроля качества, как субстанций для фармацевтического применения, так и готовых лекарственных средств. Однако следует заметить, что при всей своей простоте, данный метод является одним из наиболее субъективных методов контроля качества лекарственных средств, описанных в ГФУ [1]. Оценка оттенка и интенсивности окрашивания жидкостей проводится визуально по сравнению с эталонными растворами цветности. Поэтому на воспроизводимость и правильность результатов, получаемых в соответствии с фармакопейным методом, кроме корректности приготовления и использования эталонных растворов, велико влияние субъективных факторов, таких как освещение (яркость, угол падения света), состо-

яние зрения аналитика, качество стекла пробирок и т. д.

Принимая во внимание перечисленные выше особенности фармакопейного метода определения степени окрашивания жидкостей, для контроля корректности его выполнения в лабораториях контроля качества лекарственных средств необходимо включать его в Программу профессионального тестирования (ППТ) лабораторий [7]. В связи с этим возникает необходимость в объективной аттестации тестовых образцов (ТО) для контроля качества результатов, получаемых с применением данного метода.

АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ

Вопросам аттестации ТО для различных методов контроля качества посвящено большое количество научных работ организаторов ППТ в Украине С.В. Сура, Н.Н. Зволинской, А.И. Гризодуба, Д.А. Леонтьева и др. [3, 4, 6, 8, 9]. Однако описанные в указанных публикациях подходы, относятся к аттестации образцов с применением объективных инструментальных методов, с воз-

можностью документального подтверждения результатов аттестации, в то время, как информация о подходах к аттестации ТО для целей ППТ субъективным визуальным методом на данный момент в литературе отсутствует.

ВЫДЕЛЕНИЕ НЕРЕШЕННЫХ РАНЬШЕ ЧАСТЕЙ ОБЩЕЙ ПРОБЛЕМЫ

Подходы, применяемые к аттестации ТО для ППТ в целом подобны подходам к аттестации фармакопейных стандартных образцов Фармакопеи Украины [5]. Учитывая субъективность рекомендованого фармакопейного метода определения степени окрашивания жидкостей, необходимо было найти пути подтверждения результатов аттестации, в том числе и стабильности ТО в течение всего периода проведения тестирования, объективным методом.

ФОРМИРОВАНИЕ ЦЕЛЕЙ СТАТЬИ

Целью данной работы явилась разработка подхода к аттестации ТО по показателю «Определение степени окраски жидкостей» для ППТ, обеспечивающего получение объективных и достоверных результатов аттестации.

ИЗЛОЖЕНИЕ ОСНОВНОГО МАТЕРИАЛА ИССЛЕДОВАНИЯ

Поставленная задача решалась при аттестации ТО для проведения тестирования в 8-м раунде ППТ лабораторий по показателю «Определение степени окраски жидкостей» в соответствии с требованиями общей статьи 2.2.2. ГФУ. Наиболее подходящими ТО для целей тестирования могут быть сами анонимные эталоны цветности или растворы, соответствующие по составу эталону цветности с промежуточным значением интенсивности окрашивания. При их аттестации в качестве ТО необходимо рекомендуемым

фармакопейным методом убедиться в достоверности различия интенсивности окрашивания с близстоящими эталонами цветности, как при приготовлении ТО, так и в течение необходимого для проведения испытания срока годности.

В качестве образца для тестирования был предложен раствор, соответствующий по составу эталону шкалы цветности GY с промежуточным значением интенсивности окрашивания — между 5-й и 6-й ступенью. Количество основного раствора GY, которое использовалось для его приготовления указано в таблице 1.

Таблица 1

СОСТАВ ИССЛЕДУЕМЫХ РАСТВОРОВ

Название	Количество основного раствора GY, мл	Количество 2М раствора HCl, мл
GY ₅	3,0	97
ТО	2,25	97,75
GY ₆	1,5	98,5

Поскольку ТО состоит из тех же веществ, что и эталоны цветности GY₅ и GY₆, то интенсивность его окрашивания зависит только от концентрации этих веществ в растворе. Поэтому в качестве объективного метода анализа для подтверждения интенсивности окрашивания раствора ТО был выбран наиболее доступный в применении метод абсорбционной спектрофотометрии [10]. Для решения поставленной задачи исследуемые образцы анализировали на спектрофотометре UV-VIS HP 8453. Опытным путем было установлено, что указанные эталоны цветности и ТО демонстрируют оптимальное соотношение приемлемой, в соответствии с рекомендациями ДФУ, интенсивности поглощения и разности величин оптической плотности исследуемых растворов при длине волны 380 нм. Вид спектров, полученных в результате определения, представлен на рис. 1.

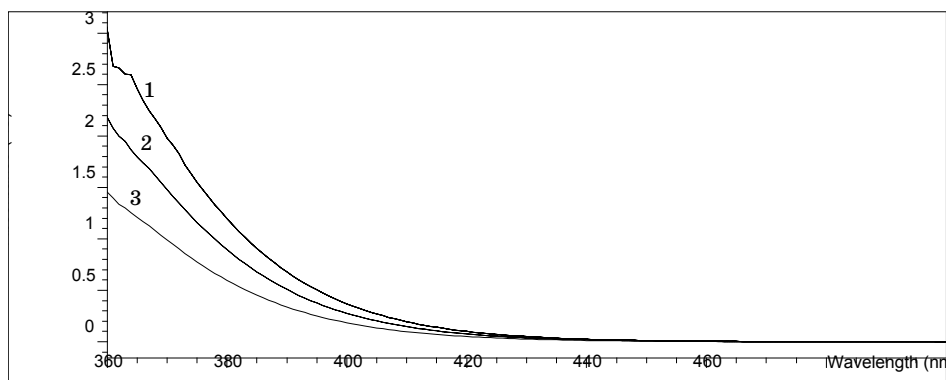


Рис. 1. Спектры поглощения испытуемых растворов: 1 — эталон цветности GY₆; 2 — эталон цветности GY₅; 3 — ТО.

Результаты визуальной аттестации ТО, а также средние значения величин оптической плотности анализируемых растворов (\bar{A}), полученные в процессе подтверждения результатов аттестации ТО, в частности, при проверке стабильности ТО во времени, инструментальным методом, представлены в табл. 2.

Из данных табл. 2 видно, что применение объективного спектрофотометрического метода дает возможность подтвердить выводы об аттестации ТО, сделанные при помощи субъективного визуального метода.

Для оценки возможности и корректности применения метода абсорбционной спектрофотометрии для аттестации ТО, была проверена линейность функции оптической плотности исследуемых растворов от концентрации в интервале концентраций эталонов цветности $GY_6 - GY_5$, что составило 65 – 135 % от концентрации ТО, а также соответствие параметров линейности, правильности и прецизионности критериям приемлемости.

Концентрация эталонных растворов и ТО рассчитана по желтому исходному раствору, который представляет собой раствор железа (III)

хлорида в хлористоводородной кислоте с концентрацией 45 мг/мл и содержится в основном растворе GY в наибольшем количестве (9,6 мл на 10 мл раствора).

Так как определение степени окраски жидкостей, по сути, является предельным тестом, то по аналогии с тестом на предельное содержание примесей, допустимая неопределенность анализа не должна превышать 16% [11]. Таким образом, критерии приемлемости для характеристик линейности, правильности и прецизионности рассчитаны исходя их требований к допустимой неопределенности анализа для нормализованных величин в соответствии с требованиями ГФУ [2, 11].

Средние значения оптических плотностей растворов и их концентрации, а также нормализованные величины представлены в таблице 3. График зависимости оптической плотности от концентрации в нормализованных координатах представлен на рис. 2.

Ключевые валидационные параметры и их значения, полученные в процессе эксперимента, а также критерии приемлемости каждого параметра представлены в таблице 4.

Таблица 2

**РЕЗУЛЬТАТЫ АТТЕСТАЦИИ И ПРОВЕРКИ СТАБИЛЬНОСТИ ТО,
ПОЛУЧЕННЫЕ ВИЗУАЛЬНЫМ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫМ МЕТОДОМ**

Период	свежеприготовленный	2 месяца	4 месяца	Заключение
Интенсивность окраски визуальным методом в соответствии с ДФУ				
ТО	$GY_5 > TO > GY_6^*$	$GY_5 > TO > GY_6^*$	$GY_5 > TO > GY_6^*$	стабилен $GY_5 > TO > GY_6$
Метод абсорбционной спектрофотометрии, \bar{A} (380 нм)				
GY_5	1.199131	1.196073	1.20167	стабилен $GY_5 > TO > GY_6$
ТО	0.894452	0.943639	0.922893	
GY_6	0.597273	0.633902	0.61754	
Вывод	$GY_5 > TO > GY_6$	$GY_5 > TO > GY_6$	$GY_5 > TO > GY_6$	

Примечание. * достоверность результатов подтверждена тремя опытными аналитиками.

Таблица 3

**КОНЦЕНТРАЦИЯ, ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ И НОРМАЛИЗОВАННЫЕ
ВЕЛИЧИНЫ ИСПЫТУЕМЫХ РАСТВОРОВ**

Название	Среднее A_i	C_i	Y_i	X_i	$Z_i, \%$
GY_6-1	0.5973	0.675	65.80	66.67	98.69
GY_5-1	1.2017	1.35	132.37	133.33	99.28
GY_6-2	0.6339	0.675	69.83	66.67	104.74
GY_5-2	1.1961	1.35	131.76	133.33	98.82
ТО_1	0.8945	1.0125	98.53	100.00	98.53
ТО_2	0.9001	1.0125	99.15	100.00	99.15
St	0.9078	1.0125			

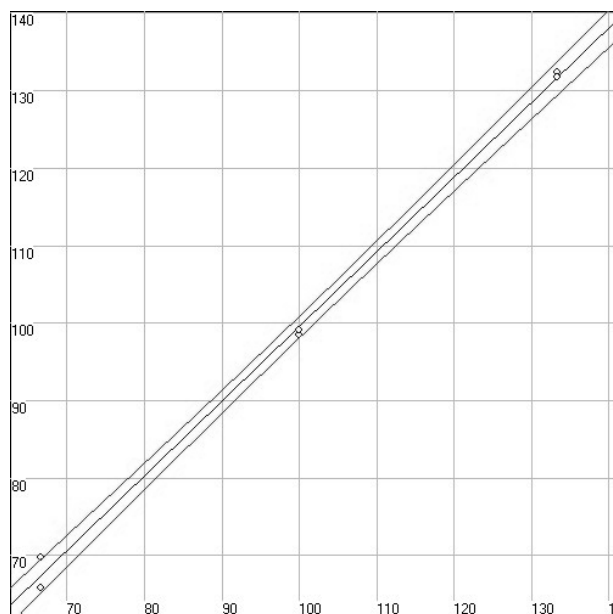


Рис. 2. Графік залежності середніх значень оптичної щільності від концентрації в нормалізованих координатах $A_i = a + b \times C_i$

Таблиця 4

ЗНАЧЕННЯ ВАЛІДАЦІОННИХ ПАРАМЕТРІВ І КРИТЕРІЇ ПРИЕМЛЕМОСТІ

Параметри	Значення	Критерій 1	Критерій 2	Заключення	
Линейність	a	3,2	$\leq 5,3 $	$\leq 15,4 $	выдерживается
	s_0/b	$ 1,65 $	$\leq 7,5 $		выдерживается
	r	0,99766	$\geq 0,9678$		выдерживается
Прецизионність	ΔZ	4,8	≤ 16		выдерживается
Правильність	$ Z_{cp} - 100 $	$ -0,13 $	≤ 2	$\leq 5,1$	выдерживается

Из таблицы 4 следует, что все исследованные валидационные параметры удовлетворяют рассчитанным критериям приемлемости, а значит, методика пригодна для применения в соответствии с поставленной задачей.

ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ РАЗРАБОТОК

Предложен подход к аттестации ТО для определения степени окрашивания жидкостей с применением метода абсорбционной спектрофотометрии, который позволяет объективно и достоверно оценить интенсивность окрашивания ТО и документально подтвердить результаты, полученные при аттестации ТО фармакопейным визуальным методом. В соответствии с предложенным подходом аттестован ТО для определения степени окрашивания жидкостей, который успешно применен в 8- раунде ППТ. Данный подход может быть применен при аттестации ТО для последующих раундов ППТ,

а также при аттестации ТО для внутрिलाбораторного тестирования.

ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Визначення ступеня забарвлення рідин // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 15–17.
2. Гризодуб А. І. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А. І. Гризодуб // Фармаком. — 2006. — № 1/2. — С. 35–44.
3. Дмітрієва М.В. Програма професійного тестування у фармацевтичній галузі України – особливості та перспективи / М. В. Дмітрієва // Фармаком – 2012. – № 1/2. – С. 33–38.
4. Идентификация действующего вещества в таблетках методом ТСХ в рамках 9 раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестовых образ-

- цов, критерии оценивания, анализ результатов / М. В. Дмитриева, И. С. Лукьянова, Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2013. — № 4. — С. 61-70.
5. Леонтьев Д. А. Фармацевтические стандартные образцы [В кн. «Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств» : в 3-х томах] / Под. ред. член-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского – X. : изд. «НТМТ», 2011. – Том 3 – С. 1064–1117.
 6. Определение кислотного числа в масле оливковом в рамках 10 раунда Программы профессионального тестирования лабораторий: аттестация тестового образца, критерии оценивания, анализ результатов / М. В. Дмитриева, И. С. Лукьянова, Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2014. — № 1. – С. 40-48.
 7. Сур С. В. Программы профессионального тестирования как средство стандартизации работы лабораторий по контролю качества лекарственных средств / С. В. Сур, Н. Н. Зволинская // В кн. [Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств] : в 3-х томах / Под. ред. член-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского – X. : изд. «НТМТ», 2011. – Т. 3 – С. 1177–1219.
 8. Створення Національної системи професійного тестування лабораторій контролю якості лікарських засобів: атестація зразків для кількісного спектрофотометричного аналізу / Н. М. Зволінська, Н. М. Архіпова, Д. А. Леонтьев, О. І. Гризодуб // Фармацевтичний журнал. — 2003. — № 6. — С. 7-21.
 9. Створення Національної системи атестації лабораторій з контролю якості лікарських засобів: атестація тестового зразка лінкоміцину гідрохлориду для кількісної рідинної хроматографії / Д. А. Леонтьев, С. В. Сур, Н. М. Архіпова [та ін.] // Фармацевтичний журнал. – 2004. — № 1. — С. 61-67.
 10. 2.2.25. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях : Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2 – X.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 50–55.
 11. 2.2.2. Валідація аналітичних методик і випробувань : Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. — X. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 85–100.

УДК 615.07

М. В. Дмитрієва

ПІДХІД ДО АТЕСТАЦІЇ ТЕСТОВОГО ЗРАЗКА ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗА ФАРМАКОПЕЙНИМ МЕТОДОМ «ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ЗАБАРВЛЕННЯ РІДИН»

З метою включення тестування за показником «Визначення ступеня забарвлення рідин» в Програму професійного тестування лабораторій контролю якості лікарських засобів, вибрано та атестовано тестовий зразок (ТЗ) для визначення ступеня забарвлення рідин. Для підтвердження об'єктивності атестації ТЗ суб'єктивним фармакопейним методом за візуальним порівнянням інтенсивності забарвлення, запропоновано використання інструментального метода абсорбційної спектрофотометрії. Можливість застосування цього методу в даних умовах і отримання достовірних результатів атестації підтверджено виконанням критеріїв прийнятності для ключових валідаційних параметрів, таких як лінійність, прецизійність, правильність. Атестований із залученням даного підходу тестовий зразок, успішно застосовано у Програмі професійного тестування лабораторій.

Ключові слова: ступінь забарвлення рідин, абсорбційна спектрофотометрія, атестація тестового зразка, Програма професійного тестування лабораторій.

UDC 615.07

M. V. Dmitrieva

THE APPROACH TO THE TEST SAMPLE ASSESSMENT FOR THE CONTROL QUALITY OF MEDICINES BY PHARMACOPOEIAL METHOD "DEGREE OF COLORATION OF LIQUIDS"

For the purpose of the testing of quality attribute "Degree of coloration of liquids" inclusion to the Professional testing program for laboratories a test sample (TS) to determine the degree of coloration of liquids was selected and certified. In order to do this a test sample (TS) to determine the degree of coloration of liquids was selected and certified. To confirm the objectivity of the TS attestation by recommended pharmacopoeial method by visual comparison, it is suggested to use the absorption spectrophotometry instrumental method. The possibilities of applying this method in these conditions and providing reliable assessment results are confirmed by fulfillment of the acceptance criteria for the key validation parameters such as linearity, precision, accuracy. The test sample which attested by using this approach was successfully implemented in the testing program for laboratory of control quality of medicines.

Key words: degree of coloration of liquids, absorption spectrophotometry, the test sample assessment, the program of laboratories professional testing.

Адреса для листування:

61085, г. Харьков, ул. Астрономическая, 33

ГП "Фармакопейный центр"

Тел. 719-06-02

E-mail: mary_dmit@mail.ru

Надійшла до редакції:

22.06.2015 р.