

¹И.М. Кейтлин, ²А.В. Мазулин, ³Г.В. Падалко, ³В.П. Рева

ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК (СООБЩЕНИЕ 4). СПЕЦИФИЧНОСТЬ ИЛИ СЕЛЕКТИВНОСТЬ МЕТОДА, ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ, ПРЕДЕЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

¹Запорожская областная Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств,

²Запорожский Государственный медицинский университет,

³Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств

Ключові слова: валідація, специфічність (селективність), межа виявлення, межа кількісного визначення, критерій оцінки, відносне стандартне відхилення.

Ключевые слова: валидация, специфичность (селективность), предел обнаружения, предел количественного определения, критерий оценки, относительное стандартное отклонение.

Key words: validation, specificity (selectivity), detection limit, quantitation limit, acceptance criteria, relative standard deviation

Розглянуто деякі основні характеристики валідації аналітичних методик – специфічність (селективність), межа виявлення, межа кількісного визначення.

Рассмотрены некоторые основные характеристики валидации аналитических методик - специфичность (селективность), предел обнаружения, предел количественного определения.

Some main characteristics of validation analytical methods were considered. They are: the specificity (selectivity), detection limit, quantitation limit.

Как уже описано в сообщениях 1, 2 и 3 по теме «Валидация аналитических методик» (№6, 2008; №2, 2009; №3, 2009), валидация аналитической методики состоит в определении точности, воспроизводимости, чувствительности, межлабораторной воспроизводимости, линейности, специфичности или селективности и других характеристик аналитических методов [1].

Данная статья посвящена рассмотрению особенностей специфичности или селективности (избирательности) аналитического метода, а также вопросам выявления предела обнаружения и предела количественного определения.

Specificity (специфичность или селективность метода).

Специфичность метода - это способность однозначно оценивать анализируемое вещество в присутствии других компонентов, которые могут присутствовать в образце [2]. Это могут быть примеси, продукты разложения, вспомогательные вещества и т.п.

Готовится смесь неактивных ингредиентов (плацебо) и смесь известных примесей, и подвергается анализу. Эта смесь не должна давать сигналы, которые бы мешали поглощению активного ингредиента в лекарственной форме.

2. Для методов изучения стабильности:

А). Стандартный раствор делится на части. Каждая часть подвергается различным экстремальным воздействиям (см. ниже) для того, чтобы вещество подверглось разложению на 10-20%. Условия должны варьировать, пока не будут получены продукты разложения, если это возможно.

Б). Тем же экстремальным воздействиям так же должны быть подвергнуты образцы конечных продуктов (лекарственных форм).

В случае, если лекарственная форма -капсулы, то экстремальным воздействиям действующее вещество подвергается вместе с оболочкой капсулы.

В). Если более, чем одно экстремальное воздействие применяется для разложения, необходимо показать эффект каждого условия отдельно [3].

Экстремальные условия:

А). Солнечный свет или близкий к нему источник света при контролируемых условиях.

Б). Окисление пероксидом водорода или другим подходящим пероксидом.

В). Добавление кислоты или щелочи, причем их значение pH должно быть отрегулировано до начала анализа.

Г). Нагревание. В случае, если растворы устойчивы, нагревание субстанции стандартного образца и порошка растертых таблеток должно выполняться постепенно до температуры плавления.

Д). После обработки в экстремальных условиях, образцы и стандарты должны быть разбавлены до рабочей концентрации, если это возможно.

Эти растворы затем анализируют с помощью многоволновых УФ-детекторов или других подходящих детекторов и поглощение сравнивается с раствором, не подвергшимся экстремальным условиям. Критерии оценки:

1) Пик основного вещества должен быть хроматографически чистым.

2) Желательно продемонстрировать, что сигнал анализируемого вещества уменьшается при экстремальных условиях вместе с появлением пиков продуктов разложения, которые хорошо отделяются от анализируемого вещества.

Отчет по результатам определения чистоты хроматографического пика следует проводить по следующим параметрам:

Угол чистоты (Purity Angle) - мера спектральной неомогенности пика, т.е. среднее значение всех углов спектрального контраста (Spectral Contrast Angles) вычисленных сравнением всех спектров в интегрированном пике против вершины спектра пика (peak apex spectrum).

Порог чистоты (Purity Threshold) - является суммой угла шума (Noise Angle) и угла растворителя (Solvent Angle). Этот показатель является пределом обнаружения различий в форме между двумя спектрами.

Угол соответствия (Match Angle) - является сравнением спектра на вершине пика со спектром библиотеки.

Порог соответствия (Match Threshold) - является суммой угла соответствия шума (Match Noise Angle) и угла соответствия растворителя (Match Solvent Angle).

Угол шума (Noise Angle) - является мерой спектральной неомогенности, вызванной шумом системы.

Угол растворителя (Solvent Angle) - является мерой



спектральной неомогенности, вызванной составом растворителя.

Во всех анализируемых растворах (стандартного образца и образца из таблеток), подвергнутых процессам принудительного разложения, угол чистоты (purity angle) должен быть меньше, чем порог чистоты (purity threshold) и угол соответствия (match angle) должен быть меньше, чем порог соответствия (match threshold).

Detection Limit (DL) - Предел обнаружения [4,5]

Может быть определен одним из следующих методов:

1. Метод, основанный на визуальном определении.

DL определяется анализом образцов с известной концентрацией анализируемого вещества и установлением минимального уровня, при котором анализируемое вещество может быть отчетливо определено. Раствор в концентрации предполагаемого DL анализируется 6 раз.

Критерий оценки: если пик анализируемого вещества детектируется по крайней мере 5 из 6 раз, принимается, что анализируемое вещество может быть детектировано.

2. Метод, основанный на соотношении сигнала к уровню шума. Соотношение - сигнал: уровень шума определяется сравнением измеренных сигналов образцов с известной низкой концентрацией анализируемого вещества (6 определений) к сигналу растворителя и устанавливается наименьшая концентрация, при которой анализируемое вещество может быть отчетливо детектировано.

Критерий оценки: является приемлемым соотношение сигнала к уровню шума между 3:1 или 2:1.

3. Метод, основанный на использовании калибровочной прямой и стандартного отклонения аналитического сигнала. Предел обнаружения (DL) может быть выражен как:

$$DL = 3,3\sigma/S$$

Где σ - стандартное отклонение сигнала

S - тангенс угла наклона калибровочной прямой (наклон - slope)

Стандартное отклонение сигнала (σ) определяется размером аналитического сигнала для 6 образцов, не содержащих анализируемого вещества, и вычислением стандартного отклонения. Это значение, оцениваемое как уровень шума, затем проверяется 6-ю введениями растворов образцов, с близкой концентрацией или приготовленные в концентрации DL.

Тангенс угла наклона калибровочной прямой S (Slope) вычисляется из калибровочной прямой для анализируемого вещества.

Quantitation Limit (QL) - Предел количественного определения [6,7]

1. QL определяется анализом образцов с известной концентрацией анализируемого вещества и установлением минимального уровня, при котором анализируемое вещество может быть определено количественно с подходящей точностью и правильностью.

Готовятся 6 отдельных растворов определяемого вещества

с постоянным количеством плацебо (т.н. spiked solutions) в порядке уменьшения концентраций анализируемого вещества, близких к предполагаемой концентрации QL. Должны быть вычислены: относительное стандартное отклонение (RSD) и правильность 6 определений.

QL может быть вычислено одним из следующих методов:

- Метод, основанный на соотношении сигнала к уровню шума. Соотношение — сигнал : уровень шума определяется сравнением измеренных сигналов образцов с известными низкими концентрациями анализируемого вещества (6 определений) к «пустому» сигналу (сигналу без анализируемого вещества) и устанавливается наименьшая концентрация, при которой анализируемое вещество может быть определено количественно.

Критерий оценки : соотношение сигнала к уровню шума 10:1 является приемлемым.

- Метод, основанный на использовании калибровочной прямой и стандартного отклонения аналитического сигнала.

Предел количественного определения (QL) может быть выражен как:

$$QL = 10\sigma/S$$

Где σ - стандартное отклонение сигнала

S - тангенс угла наклона калибровочной прямой

Стандартное отклонение сигнала (σ) определяется размером аналитического сигнала для необходимого числа образцов, не содержащих анализируемого вещества, и вычислением стандартного отклонения, либо определяется из калибровочной прямой.

Тангенс угла наклона калибровочной прямой (S) вычисляется из калибровочной прямой для анализируемого вещества.

Критерий оценки: Наименьшая концентрация с $RSD \leq 20\%$ и правильностью (accuracy) 80-120%.

ЛИТЕРАТУРА

1. The United States Pharmacopoeia /The National Formulary XXVII./19. — 2004. — P. 2622—2625.

2. Производство лекарственных средств. Валидация. Основные положения: Методические указания. — М., 2001.

3. Проект ОФС «Валидация фармакопейных методов» // Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. — 2001. — № 1. — С. 28.

4. Development Pharmaceuticals and Process Validation: Directive 75/318/EEC - 1998. — April.

5. Validation of compendial methods. General Chapter <1225>: United States Pharmacopoeia XXIII. — National Formulary, XVIII, Rockville, MD — The United States Pharmacopoeial Convention. — 1995. — P. 1710 — 1712.

6. Validation of compendial methods. General Chapter <1225>: United States Pharmacopoeia XXV. — National Formulary, XXV, Rockville, MD. — The United States Pharmacopoeial Convention — 2002. — P. 2256-2259.

7. Veessman, J. Selectivity or specificity? Validation of analytical methods from the perspective of an analytical chemist in the pharmaceutical industry / J. Veeman // J. Pharm Biomed Analysis. — 1996. — № 14. — P. 867-869.

Сведения об авторах:

Кейтлин И.М., кандидат фармацевтических наук, заведующий лабораторией Запорожской областной государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств.

Мазулин А.В., доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии, технологии лекарственных форм, фармакогнозии ФПО Запорожского государственного медицинского университета.

Падалко Г.В., кандидат юридических наук, начальник государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств, Главный государственный инспектор Украины по контролю качества лекарственных средств.

Рева В.П., заместитель начальника Запорожской областной государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств.

Адрес для переписки: Кейтлин Илья Михайлович 69050, г. Запорожье, ул. Складская, 4, Запорожская областная Государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств. Тел. 8-(0612)-89-00-33. E-mail: Keytlin@list.ru