

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ЧИКАЛОВА СВІТЛАНА ОЛЕГІВНА

УДК 615.074:615.11

**ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ ФАРМАКОПЕЙНИХ
ВИПРОБУВАНЬ МЕТОДАМИ ТИТРУВАННЯ ТА ВИПРОБУВАННЯ
«ВТРАТА В МАСІ ПРИ ВИСУШУВАННІ»**

15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

Харків – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у відділі Державної Фармакопеї України Державного підприємства «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», м. Харків.

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор
ГРИЗОДУБ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»,
головний науковий співробітник відділу Державної Фармакопеї України.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПІДПРУЖНИКОВ ЮРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ,
Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри управління якістю;

кандидат фармацевтичних наук, старший науковий співробітник
НАЗАРОВА ОЛЕНА СЕРГІЇВНА,
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»,
завідувач лабораторії аналізу, якості і стандартизації лікарських препаратів

Захист відбудеться " 5 " квітня 2017 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий " ____ " березня 2017.року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В.А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Контроль якості є одним з фундаментальних елементів сучасної системи забезпечення якості лікарських засобів (ЛЗ). Основоположними документами діяльності лабораторій з контролю якості ЛЗ є Державна Фармакопея України (ДФУ) та ДСТУ 17025. ДФУ містить загальні вимоги до ЛЗ, фармакопейні статті (монографії) та методи контролю якості ЛЗ. ДСТУ 17025 встановлює загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій.

Загальна стаття або аналітична методика фармакопеї можуть містити вимоги до обладнання та аналітичних операцій при проведенні випробування, однак існує низка питань, які частково або повністю мають бути вирішені випробувальною лабораторією самостійно. Серед таких питань: розробка та проведення процедур кваліфікації вимірювального обладнання, валідація та верифікація методик випробувань, розробка та проведення процедур контролю якості результатів випробувань, процедур навчання персоналу тощо. Актуальними є деякі із таких питань і для поширеного в фармацевтичному аналізі методу кількісного визначення – методу титрування.

Межі вмісту для багатьох фармакопейних субстанцій зазначені в перерахунку на суху речовину. Таким чином, для забезпечення якості результатів кількісного визначення, в тому числі проведеного методом титрування, аналітик має забезпечити відповідну точність результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» («ВМВ»).

Відповідно ДСТУ 17025, лабораторія має продемонструвати, що вона володіє достатніми знаннями відносно всіх аспектів аналітичної процедури, що значущо впливають на невизначеність одержаних результатів, значущі джерела невизначеності мають бути ідентифіковані та знаходитися під контролем. Оцінка невизначеності є ефективним інструментом у вирішенні питань забезпечення якості результатів випробувань.

Детальні вказівки щодо оцінювання й виразу невизначеності в кількісному хімічному аналізі, розроблені Європейським товариством з аналітичної хімії (Eurachem) та Співробітництвом в галузі простежуваності вимірювань в аналітичній хімії (Citac).

Підхід ДФУ щодо прогнозу повної невизначеності результатів аналізу добре зарекомендував себе для випробувань методами хроматографії та спектрофотометрії, однак застосування його до оцінки невизначеності результатів методу титрування породжує низку проблем.

Підхід ДФУ є альтернативним до підходу Eurachem/Citac, який на сьогодні є загальноновизнаним в Європейському Союзі. Приймаючи до уваги вступ України до Європейської Фармакопеї (ЄФ) і Асоціацію з Європейським Союзом, актуальною є розробка гармонізованих з Eurachem/Citac підходів до оцінки невизначеності фармакопейних методик та розробка на їх основі критеріїв прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів випробувань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на виконання Указу Президента України № 615/98 від 11.06.98, а також на виконання науково-дослідних робіт із розробки та підготовки монографій

до видання Доповнення 2 до Державної Фармакопеї України (Державний реєстраційний номер 0107U012267); на виконання завдання Комплексної програми розвитку медичної промисловості України на 1997-2003 рр., затвердженої Постановою Кабінету Міністрів України від 18.12.1996 р. № 1538, зі стандартизації та сертифікації виробництва згідно вимог GMP (номер державної реєстрації 0103U002352, обліковий номер 0204U00087).

Мета і задачі дослідження. Метою дисертаційної роботи є вирішення питань забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні» за допомогою оцінки складових невизначеності результатів випробувань у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

- провести аналіз складових невизначеності поширених фармакопейних методів титрування субстанцій (титрування водними й неводними титрантами, титрування із первинною й вторинною стандартизацією титранту, титрування із візуальною й потенціометричною фіксацією кінцевої точки титрування) у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac;
- провести кількісну оцінку виділених складових невизначеності поширених фармакопейних методів титрування субстанцій у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac;
- на основі проведених оцінок невизначеності розробити науково обґрунтовані критерії прийнятності та рекомендації щодо процедур забезпечення якості результатів випробувань методами титрування: вимоги до збіжності результатів випробувань, дизайн-кваліфікація бюреток;
- провести експериментальну перевірку розроблених критеріїв прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів випробувань методами титрування;
- провести аналіз і кількісну оцінку складових невизначеності результатів випробування «ВМВ» у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac;
- на основі проведених оцінок невизначеності розробити науково обґрунтовані критерії прийнятності та рекомендації щодо процедур забезпечення якості результатів випробування «ВМВ»;
- провести експериментальну перевірку розроблених критеріїв прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів випробування «ВМВ»;
- внести необхідні рекомендації до ДФУ.

Об'єкти дослідження – фармакопейні методи титрування, випробування «Втрата в масі при висушуванні».

Предмет дослідження – складові невизначеності фармакопейних методів титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні», критерії прийнятності процедур забезпечення якості результатів випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні».

Методи дослідження. Оцінка невизначеності за типом А (на основі статистичного аналізу рядів спостережень), оцінка невизначеності за типом В (іншим способом, ніж статистичний аналіз рядів спостережень), математично-статистичні методи обробки результатів випробувань. Методи титрування: титрування водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки титрування,

титрування розчином хлорної кислоти із візуальною фіксацією кінцевої точки титрування, потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти, потенціометричне титрування галогенідів органічних основ за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу. Визначення втрати в масі при висушуванні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведена оцінка складових та сумарної невизначеності фармакопейних методів титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні» у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac.

За результатами проведених оцінок розроблені критерії прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні».

Вперше визначені критерії прийнятності використання скляних та поршневих бюреток для всіх найбільш поширених фармакопейних методів титрування.

Розроблені науково обґрунтовані рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів випробувань методами титрування.

Розроблені науково обґрунтовані рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні».

Коректність розроблених критеріїв прийнятності підтверджена внутрішньо- та міжлабораторним експериментом.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені рекомендації та критерії прийнятності щодо схеми та контролю якості результатів випробувань методами титрування (титрування водними й неводними титрантами, титрування із первинною й вторинною стандартизацією титранту, титрування із візуальною й потенціометричною фіксацією кінцевої точки титрування) включені до загальної статті 5.3.N.2. *Валідація аналітичних методик і випробувань ДФУ 2.0* (акт впровадження ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» від 10 лютого 2016 р.).

Розроблені рекомендації та критерії прийнятності у вигляді інформаційного листа впроваджено в практику лабораторій з аналізу якості лікарських засобів (Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 51-2016 «Процедури забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні»).

Особистий внесок здобувача. Автором особисто здійснено аналіз наукової літератури та нормативної документації за проблематикою, що вивчалась; аналіз складових невизначеності фармакопейних методів титрування субстанцій та випробування «Втрата в масі при висушуванні»; проведена кількісна оцінка виділених складових з подальшою оцінкою значущості вкладу окремих складових; запропонована методологія, на основі якої розроблені критерії прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні». Автор брала участь у плануванні експериментальних робіт, проводила статистичну обробку експериментальних даних.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на VII Національному з'їзді фармацевтів України «Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України» (Харків 2010), Міжнародних

науково-практичних інтернет-конференціях «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків 2014), «Аналітична хімія у фармації» (Харків 2015), науково-практичній конференції «Управління якістю в фармації» (Харків 2016).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 12 наукових робіт, у тому числі: 7 статей у наукових фахових виданнях, 5 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел.

Обсяг основного тексту дисертації складає 125 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 48 таблицями. Список використаних джерел містить 124 найменування, з них 77 кирилицею та 47 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У першому розділі «Питання забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні» (огляд літератури)» розглянуті підходи й вимоги національних та міжнародних керівних документів відносно забезпечення якості результатів випробувань лікарських засобів. Розглянуті аспекти забезпечення якості результатів випробувань методами титрування та випробування «ВМВ», виявлені питання, що мають бути вирішені контрольно-аналітичною лабораторією під час її поточної роботи самостійно. Ефективним інструментом вирішення цих питань є оцінка складових та сумарної невизначеності результатів випробувань.

Зроблений висновок про актуальність розробки гармонізованих з Eurachem/Citac підходів до оцінки невизначеності та подальшої розробки критеріїв прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів випробувань фармакопейними методами титрування та випробування «ВМВ».

У другому розділі розглянуті об'єкти й методи досліджень. Як об'єкти дослідження обрані найбільш поширені фармакопейні методи титрування субстанцій:

- 1) титрування водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки титрування;
- 2) титрування розчином хлорної кислоти в оцтовій кислоті із візуальною фіксацією кінцевої точки титрування;
- 3) потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти в оцтовій кислоті;
- 4) потенціометричне титрування галогенідів органічних основ за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу.

За результатами аналізу методик титрування обрані наступні параметри представницької методики, для якої буде проведена оцінка невизначеності: наважка випробовуваної речовини – 0.2 г; об'єм титранту в кінцевій точці титрування складає 80 % об'єму бюретки; невизначеність зважування складає 0.2 мг. Для аналітичного обладнання і операцій мають виконуватися вимоги ДФУ.

За результатами аналізу фармакопейних методик випробування «ВМВ» обрані наступні параметри представницької методики: наважка випробовуваної

речовини - 1.0 г, температура висушування складає 105 °С. Для аналітичного обладнання і операцій мають виконуватися вимоги ДФУ.

Розглянуті алгоритм та підходи Настанови Eurachem/Citac щодо оцінки невизначеності результатів аналітичних випробувань; способи оцінки незначущості складових невизначеності та методи статистичної обробки результатів експерименту.

У третьому розділі «Аналіз складових невизначеності титрування та підходів до їх кількісної оцінки» виділені складові невизначеності результатів аналізу, запропоновані підходи до кількісної оцінки виділених складових у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac. Оцінка невизначеності проведена переважно із використанням вимог до обладнання, допустимих коливань в параметрах методики (за типом В), деякі складові оцінені на основі статистичного аналізу експериментальних даних (за типом А).

Виділені наступні складові невизначеності результатів аналізу:

1. Невизначеність зважування. Розглянуті підходи провідних фармакопей світу до оцінки прийнятності ваг, використовуваних при взятті «точної наважки».

Розглянуті підходи й рекомендації керівних документів щодо оцінки невизначеності зважування.

Проведена оцінка невизначеності зважування деяких моделей ваг з дискретністю 0.1 мг і 0.01 мг, провідних виробників пропонує на ринку України. Оцінка проведена, виходячи із даних специфікацій виробника, у відповідності з рекомендаціями Eurachem/Citac. За результатами оцінки зроблений висновок, що рівень невизначеності зважування 0.2 мг, рекомендований ДФУ, забезпечується в діапазонах із дискретністю 0.01 мг і для деяких ваг в діапазонах із дискретністю 0.1 мг.

2. Невизначеність об'єму титранту. В невизначеності об'єму титранту були виділені та оцінені такі складові: невизначеність калібрування бюретки; невизначеність, обумовлена температурними флуктуаціями; невизначеність зчитування зі шкали бюретки; невизначеність взяття аліквоти; невизначеність визначення кінцевої точки титрування, яка має дві складові - випадкова складова визначення кінцевої точки та можливе зміщення (*bias*) визначуваної кінцевої точки від точки еквівалентності, яке має характер систематичного ефекту.

Невизначеність калібрування бюретки оцінюють, виходячи з меж (допусків) для об'єму, що доставляється (за типом В). Для переходу до стандартної невизначеності використовують трикутний розподіл (див. Табл. 1).

При оцінці *невизначеності обумовленої температурними ефектами* враховують наступне:

- об'єм мірного посуду калібрується на температуру 20 °С;
- під час виконання експерименту температура може змінюватися.

Оцінка невизначеності, що обумовлена даними ефектами, виконується, виходячи із коефіцієнта об'ємного розширення розчинника і допустимого в лабораторії діапазону коливання температур (за типом В). Для переходу до стандартної невизначеності використовують прямокутний розподіл (див. Табл. 1).

Розрахунок стандартної невизначеності складових невизначеності об'єму

Складова невизначеності об'єму	Формула	Позначення
Невизначеність калібрування бюретки	$u_{V,cal} = \frac{a}{\sqrt{6}}$	a - допустиме відхилення від номінального об'єму бюретки, мл
Невизначеність, обумовлена температурними флуктуаціями	$u_{V,t} = \frac{(V \times \Delta T \times \alpha)}{\sqrt{3}}$	V – вимірний об'єм; ΔT – напівширина інтервалу коливання температури; α – коефіцієнт об'ємного розширення розчинника
Невизначеність зчитування зі шкали бюретки	$u_{V,read} = \sqrt{2 \times \left(\frac{d}{2\sqrt{3}} \right)^2} = \frac{d}{\sqrt{6}}$	d – ціна поділки бюретки, мл
Невизначеність фіксації кінцевої точки титрування (випадкова складова візуального титрування)	$u_{V,endpoint} = \frac{V_{drop}}{2\sqrt{3}} = \frac{V_{drop}}{\sqrt{12}}$	V_{drop} – об'єм краплі, що доставляється бюреткою

Якщо титрування випробовуваної проби й установка титру проводяться не при 20 °С, але при однаковій температурі, температурні ефекти відсутні. Різниця температур при титрування проби і установці титру дає вплив на результати титрування, який має характер систематичного ефекту. Систематичні ефекти, що є значущими у порівнянні з необхідною точністю вимірювання, мають бути враховані і скомпенсовані. Проведена оцінка впливу температурних ефектів на результати випробувань із різними видами титрантів. Для меж нормування випробовуваної речовини $\pm 1\%$ і більше зміщення результатів титрування водним титрантом є незначущим у діапазоні температур (15 – 25) °С; при титруванні розчином хлорної кислоти в оцтовій зміщення є незначущим при різниці температур до 2 °С. Для меж нормування випробовуваної речовини $\pm 0.5\%$, що зустрічаються у методиках із водними титрантами, зміщення результату випробування є незначущим при різниці температур до 7 °С (див. Табл. 2).

Невизначеність зчитування зі шкали бюретки. Невизначеність зчитування зі шкали приладу дорівнює половині ціни поділки шкали (оцінювання за типом В). Для переходу до стандартної невизначеності використовують прямокутний розподіл. Невизначеність зчитування запропоновано враховувати двічі: при установці нуля й при зчитуванні об'єму, що доставляється, (див. Табл. 1).

Зміщення результату титрування, що виникає внаслідок різниці температур при титруванні та установці титру і відмінності цих температур від температури калібрування скляного посуду

Розчинник	Приклади фармакопейних титрантів	Відносне зміщення результату титрування, у відсотках					
		15 °C	17 °C	18 °C	22 °C	23 °C	24 °C
Температура при установці титру → (Температура при титруванні випробовуваної проби 25 °C)							
Вода	HCl, NaOH, йод	0.21	0.17	0.15	0.06	0.04	0.02
Оцтова кислота	Хлорна кислота	1.09	0.88	0.77	0.33	0.22	0.11
Межі вмісту випробовуваної речовини		Критерії незначущості для систематичного ефекту					
± 0.5 %		$\Delta_S \leq 0.16 \%$					
± 1.0 %		$\Delta_S \leq 0.32 \%$					

Невизначеність взяття аликвоти (для методик із вторинною стандартизацією титранту). Невизначеність об'єму, що доставляється піпеткою, має такі складові: невизначеність калібрування піпетки; невизначеність, обумовлена температурними ефектами; невизначеність роботи аналітика. Способи оцінки перших двох складових аналогічні розглянутим для складових невизначеності об'єму, що доставляється бюреткою. Невизначеність роботи аналітика може бути оцінена статистичними методами (оцінювання за типом А).

Невизначеність фіксації кінцевої точки титрування. Випадкова складова візуальної фіксації кінцевої точки титрування може бути оцінена за об'ємом краплі (V_{drop}), що доставляється бюреткою (за типом В). $V_{drop}/2$ – очікуване значення надлишку титранту. Для переходу до стандартної невизначеності використовують прямокутний розподіл (див. Табл. 1).

Незначущість систематичних ефектів, що пов'язані зі способом фіксації кінцевої точки титрування, повинна бути підтвердженою під час валідаційних випробувань. В рамках даної роботи такі ефекти прийняті незначущими.

3. Невизначеність контрольного дослідження оцінена для найбільш поширеної схеми експерименту: паралельно з титруванням випробовуваної проби проводять титрування контрольного дослідження, об'єм якого віднімається потім з об'єму титрування випробовуваної проби. Об'єм контрольного дослідження (V_o) має такі самі складові невизначеності, що й об'єм титрування випробовуваного розчину (V). Допуски калібрування бюретки нормують межі допустимих погрешностей між будь-якими двома точками шкали бюретки, виходячи з цього запропоновано для різниці об'ємів ($V-V_o$) невизначеність калібрування враховувати тільки один раз. Таким чином, для оцінки невизначеності контрольного дослідження враховували такі складові:

невизначеність зчитування зі шкали бюретки; випадкову складову визначення кінцевої точки титрування.

4. Невизначеність концентрації титранту. Концентрація титрантів, використовуваних у фармакопейних методиках, встановлюється шляхом титрування наважки стандартної речовини (первинна стандартизація) або титруванням іншого титрованого розчину (вторинна стандартизація). Невизначеність концентрації титранту може бути оцінена з використанням тих самих підходів, що й при оцінці невизначеності результатів титрування випробовуваної проби.

Додаткова складова невизначеності титранту – чистота стандартної речовини. Невизначеність вмісту стандартної речовини, що відповідає вимогам ДФУ (вихідні стандартні речовини для титрованих розчинів), оцінена як незначуща.

5. Невизначеність молярної маси еквівалента. Невизначеність молярної маси речовини може бути оцінена зі значень невизначеності атомних мас елементів, що входять до складу молекули. При вирішенні задач титриметричного аналізу невизначеність молярних мас еквівалентів є незначущою в порівнянні із найбільшими складовими невизначеності.

У четвертому розділі «Кількісна оцінка складових невизначеності фармакопейних методів титрування субстанцій» розраховані кількісні значення складових невизначеності результатів визначення речовини у випробовуваній пробі. З метою оцінки невизначеності, методи титрування були поділені на такі групи:

- титрування із візуальною фіксацією кінцевої точки титрування / потенціометричне титрування;
- водне титрування / неводне титрування;
- титрування з використанням скляної бюретки / титрування з використанням цифрового дозуючого пристрою.

Стандартну невизначеність результатів визначення речовини у випробовуваній пробі розглядали як таку, що складається із трьох складових:

- відносна стандартна невизначеність маси наважки проби;
- відносна стандартна невизначеність об'єму титранту;
- відносна стандартна невизначеність концентрації титранту.

Як неводний титрант розглядали розчин хлорної кислоти в оцтовій. Вплив температурних флуктуацій при титруванні неводними титрантами може бути значущим і ДФУ передбачає коректування виміряного об'єму на температуру. До появи рекомендацій ДФУ титр розчинів хлорної кислоти встановлювали безпосередньо перед використанням, дана практика збереглася в багатьох лабораторіях і на сьогодні. Оцінку невизначеності результатів неводного титрування проводили для двох підходів – коректування виміряного об'єму на температуру проводять або не проводять. Якщо температура повітря в лабораторії протягом дня змінюється, температура розчинів, що зберігаються в ній, не завжди урівноважена із температурою повітря, що обумовлено різницею в теплоємності повітря й розчину. За результатами експериментальних спостережень «найгірший» випадок зміни температури повітря в лабораторії протягом робочого дня склав 4 °С, а «найгірший» випадок для різниці температури повітря і температури титрованого розчину хлорної кислоти об'ємом 1 л – 1.5 °С. На підставі цих даних оцінені складові

невизначеності об'єму, обумовлені флуктуаціями температури. При коректуванні вимірюваного об'єму на температуру напівширина інтервалу зміни температури прийнята рівною $0.75\text{ }^{\circ}\text{C}$, при установці титру перед використанням $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Випадкова складова невизначеності визначення кінцевої точки візуального титрування залежить від об'єму краплі, що доставляється бюреткою. Оцінку даної складової проводили виходячи із значень об'єму краплі: водний титрант – $V_{drop}=0.05\text{ мл}$, розчин хлорної кислоти – $V_{drop}=0.02\text{ мл}$, що встановлені експериментально.

Об'єм краплі залежить від форми зливного кінчика бюретки та від поверхневого натягу титранту. Завеликий об'єм краплі може значно впливати на якість результатів титрування, тому запропоновано *критерій оцінювання придатності бюретки*: відношення об'єму краплі до об'єму титранту в кінцевій точці титрування має бути незначущим по відношенню до максимально допустимої невизначеності аналізу. Вимоги до об'єму краплі бюретки, розраховані за даним критерієм, наведені у Табл. 3. За результатами оцінок об'єму краплі рекомендується: при розробці методик титрування субстанцій обирати умови методики таким чином, щоб об'єм бюретки при водному титруванні був не менше 25 мл, при неводному титруванні – не менше 10 мл.

Таблиця 3

Вимоги до об'єму краплі, що доставляється бюреткою

Вимоги до точності аналізу ($\max\Delta_{As}$)	Вимоги до об'єму краплі, мл		
	Номінальний об'єм бюретки (V); Об'єм в точці еквівалентності ($V_{end\ point}$)		
	$V=5\text{ мл}$ $V_{end\ point} \approx 4\text{ мл}$	$V=10\text{ мл}$ $V_{end\ point} \approx 8\text{ мл}$	$V=25\text{ мл}$ $V_{end\ point} \approx 20\text{ мл}$
0.5%	≤ 0.006	≤ 0.013	≤ 0.032
1.0%	≤ 0.013	≤ 0.026	≤ 0.064

Розраховані відносні стандартні невизначеності концентрацій 0.1 М розчину хлористоводневої кислоти, 0.1 М розчину натрію гідроксиду, 0.1 М розчину хлорної кислоти, що стандартизовані у відповідності з ДФУ.

Розрахована відносна стандартна невизначеність 0.1 М розчину хлорної кислоти для *модифікованої* методики стандартизації: 0.180 г калію гідрофталату розчиняють у 30 мл оцтової кислоти безводної, обережно нагріваючи, якщо необхідно; охолоджують, захищаючи від повітря, і титрують приготованим розчином хлорної кислоти, використовуючи як індикатор 0.03 мл кристалічного фіолетового розчину (коректування вимірюваного об'єму на температуру не проводять, стандартизацію титранту та титрування випробовуваної речовини виконують в один день). За методикою ДФУ для стандартизації 0.1 М розчину хлорної кислоти беруть наважку калію гідрофталату 0.350 г, що передбачає використання бюретки об'ємом 25 мл. Зменшення наважки калію гідрофталату до 0.180 г дозволяє використовувати бюретку місткістю 10 мл й проводити стандартизацію титранту та титрування проби на одній бюретці, оскільки переважна

більшість методик титрування 0.1 М розчином хлорної кислоти передбачають використання бюретки об'ємом 10 мл.

Оцінка складових невизначеності проведена для таких методів титрування:

- титрування водним титрантом з візуальною фіксацією кінцевої точки титрування із використанням бюретки місткістю 25 мл (клас А);
- титрування 0.1 М розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки титрування із використанням бюретки місткістю 10 мл (клас А) із коректуванням виміряного об'єму на температуру і стандартизацією титранту відповідно до ДФУ;
- титрування 0.1 М розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки титрування із використанням бюретки місткістю 10 мл (клас А) без коректування виміряного об'єму на температуру (максимальний діапазон коливання температури - 4 °С) і стандартизацією титранту по модифікованій методиці;
- потенціометричне титрування 0.1 М розчином хлорної кислоти із використанням бюретки місткістю 10 мл (ISO 8655-3) без коректування об'єму на температуру (максимальний діапазон коливання температури – 4 °С) і стандартизацією титранту за модифікованою методикою;
- потенціометричне титрування 0.1 М розчином натрію гідроксиду із використанням бюретки місткістю 10 мл (ISO 8655-3) за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу.

Проведена оцінка значущості вкладу виділених складових невизначеності об'єму титранту та значущості вкладу виділених складових сумарної невизначеності результатів титрування випробовуваної проби. Одержані значення окремих складових використовували в подальшому при розробці критеріїв прийнятності щодо процедур забезпечення якості результатів випробовувань.

У п'ятому розділі «Розробка критеріїв прийнятності результатів контролю якості субстанцій при використанні методу титрування» розроблені рекомендації щодо схеми випробування та контролю якості результатів титрування субстанцій (вимоги до збіжності), визначені критерії прийнятності використання бюреток. Проведений порівняльний аналіз вимог до збіжності, що встановлені за результатами оцінки невизначеності, та експериментальних значень збіжності при титруванні субстанцій.

З метою встановлення вимог до збіжності складові невизначеності були розділені на дві групи: ті, що дають внесок в експериментально спостережувану змінність вхідних величин (назвемо їх «змінні складові») і ті, що не дають внесок в експериментально спостережувану змінність вхідних величин (назвемо їх «незмінні складові»). Сумарну стандартну невизначеність результатів титрування $u(X)$

представляли у вигляді:
$$u(X) = \sqrt{u_{\text{var}}^2(X) + u_{\text{invar}}^2(X)}, \text{ де}$$

$u_{\text{var}}(X)$ – сумарна стандартна невизначеність, обумовлена змінними складовими;

$u_{\text{invar}}(X)$ – сумарна стандартна невизначеність, обумовлена незмінними складовими.

Сумарна стандартна невизначеність, обумовлена змінними складовими, оцінюється як експериментальне стандартне відхилення (оцінка невизначеності за типом А). Тому, виходячи з вимог до сумарної стандартної невизначеності $u(X)$ і значення стандартної невизначеності, обумовленої незмінними складовими, можна

визначити значення експериментального стандартного відхилення, яке буде прийнятним для забезпечення точності одержаного результату. Був використаний підхід, в ході якого розраховували значення сумарної стандартної невизначеності та розширеної невизначеності для певних значень експериментального стандартного відхилення.

Як незмінні складові сумарної стандартної невизначеності розглядали незмінні складові невизначеності зважування, незмінні складові невизначеності об'єму титранту, невизначеність концентрації титранту.

Незмінні складові невизначеності зважування визначали за різницею вимог до сумарної невизначеності та збіжності.

До незмінних складових невизначеності об'єму титранту були віднесені невизначеність калібрування бюретки; невизначеність, обумовлена температурними флуктуаціями; невизначеність об'єму контрольного досліду. Невизначеність, обумовлена температурними флуктуаціями, має складний характер і, залежно від умов методики, була віднесена як до змінних, так і до незмінних складових.

Невизначеність концентрації титранту оцінювали як суму незмінних і змінних складових. Невизначеність змінних складових виражали через відносне стандартне відхилення середнього результатів стандартизації титранту ($RSD_{\bar{c}}$).

Оцінку розширеної невизначеності результатів титрування проводили за формулою: $U(X) = u(X) \times k$, де k – однобічний коефіцієнт Стюдента для рівня довірчої ймовірності 95 % і розрахованого за формулою Уелча-Саттертуейта ефективного числа ступенів свободи.

Були проведені розрахунки розширеної невизначеності результатів титрування при різних значеннях відносного стандартного відхилення середнього титрування проби ($RSD_{\bar{x}}$) та стандартизації титранту ($RSD_{\bar{c}}$). При виборі значення $RSD_{\bar{x}}$ та $RSD_{\bar{c}}$, які б могли бути прийнятними для забезпечення якості результатів рутинних випробувань, враховували рекомендації ЄФ щодо збіжності при верифікації методик титрування та стандартизації титранту.

Приклад результатів розрахунків стандартної невизначеності, ефективного числа ступенів свободи та розширеної невизначеності для водного титрування з візуальною фіксацією кінцевої точки титрування і первинною стандартизацією титранту наведений в Табл. 4.

Розглянуті методи відрізняються один від одного видами титранту (водний / неводний), способами стандартизації титранту (первинна / вторинна стандартизація), способами фіксації кінцевої точки титрування (візуальне / потенціометричне титрування), проте за одержаними результатами можна зробити загальні висновки:

- невизначеність методу титрування характеризується великим вкладом незмінних складових, у зв'язку з чим ефективне число ступенів свободи результатів титрування значно перевищує число ступенів свободи змінних складових;
- починаючи із трьох паралельних титрувань проби, розширена невизначеність зменшується незначно;
- починаючи із трьох паралельних титрувань титранту, розширена невизначеність кінцевих результатів титрування зменшується незначно.

Результати оцінки розширеної невизначеності результатів водного титрування з візуальною фіксацією кінцевої точки і первинною стандартизацією титранту

$RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%, \quad RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$										
Кількість титрувань	<i>Ефективне число ступенів свободи</i>									
	Розширена невизначеність \leq, %									
	Бюретка місткістю 25 мл, Ціна поділки 0.05 мл					Бюретка місткістю 25 мл, Ціна поділки 0.1 мл				
	$u(X) \leq 0.38 \%$					$u(X) \leq 0.48 \%$				
проба → титрант ↓	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
3	9	13	16	18	19	22	33	39	44	47
	0.70	0.67	0.66	0.66	0.66	0.82	0.81	0.81	0.81	0.80
4	10	16	20	23	25	25	40	50	57	62
	0.69	0.66	0.66	0.65	0.65	0.82	0.81	0.80	0.80	0.80
5	11	18	23	27	30	26	44	57	67	74
	0.68	0.66	0.65	0.65	0.65	0.82	0.81	0.80	0.80	0.80

В рамках звичайної аналітичної практики виконують від трьох до п'яти паралельних титрувань. Оцінка невизначеності результатів титрування показала, що виконання трьох паралельних титрувань є достатнім за умови прийнятних значень збіжності, виконання додаткових титрувань на одному рівні збіжності не підвищує точність результатів випробування.

Додатковим фактором, що впливає на результати випробування методом титрування, є профіль домішок, який нормується специфікацією на субстанцію. Вплив домішок залежить від їх вмісту у випробовуваному зразку і від їх властивостей і може бути оцінений як додаткова складова невизначеності результатів аналізу. Вимоги до стандартної невизначеності результатів титрування проби з урахуванням впливу домішок розраховували виходячи із вимог до сумарної невизначеності результату випробування та оціненого значення стандартної невизначеності, обумовленої впливом домішок.

Найбільш поширеними межами нормування вмісту основної речовини є $\pm 1 \%$. Аналіз монографій ДФУ із таким нормуванням показав, що максимально допустимий вміст домішок може складати до 1 %. Для виразу невизначеності, що обумовлена впливом домішок, у вигляді стандартної невизначеності нами був прийнятий трикутний розподіл із максимальним відхиленням рівним 1 %. Розрахунки показали, що стандартна невизначеність результатів титрування проби для субстанцій з межами вмісту $\pm 1 \%$ з урахуванням впливу домішок має задовольняти вимозі: $u(X) \leq 0.45 \%$. У разі більш широких меж вмісту, ніж $\pm 1 \%$, розширення меж пов'язане із систематичними ефектами, поправку на які вносять не в результат вимірювання, а в допустимі межі нормування вмісту визначуваної речовини. Таким чином вимоги до збіжності, що задовольняють найгіршому випадку, коли межі вмісту дорівнюють $\pm 1 \%$, будуть прийнятними й для більш широких меж нормування.

Значення стандартних невизначеностей результатів титрування проби, виконаного з параметрами збіжності: $RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$, $RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%$ наведені в Таблиці 5. Виходячи зі встановлених вимог до стандартної невизначеності результатів титрування ($u(X) \leq 0.45 \%$), зроблений висновок про прийнятність параметрів збіжності при стандартизації титранту – 0.20% і титруванні проби – 0.20% для забезпечення якості результатів аналізу субстанцій з межами вмісту $\geq \pm 1 \%$ з деякими обмеженнями за класом точності використовуваних бюреток.

Окремим випадком є нормування меж вмісту основної речовини $\pm 0.5 \%$. Такі вузькі межі дають підставу припустити відсутність впливу домішок. Розширена невизначеність результатів титрування при цьому має задовольняти вимозі: $U(X) \leq 0.5 \%$. За результатами розрахунків розширеної невизначеності з різними значеннями $RSD_{\bar{c}}$ і $RSD_{\bar{x}}$ як оптимальні для забезпечення $U(X) \leq 0.5 \%$ вибрані – 0.10% і 0.10% . Виняток становить метод водного титрування з візуальною фіксацією кінцевої точки титрування і вторинною стандартизацією титранту, для якого як прийнятні визначені – $RSD_{\bar{c}} \leq 0.06 \%$ і $RSD_{\bar{x}} \leq 0.06 \%$ при використанні бюреток місткістю 25 мл із ціною поділки 0.05 мл. Встановлені вимоги до збіжності є більш жорсткими у порівнянні з рекомендованими ЄФ/ДФУ.

Таблиця 5

Стандартна невизначеність результатів титрування виконаного з параметрами збіжності: $RSD_{\bar{c}} \leq 0.20 \%$ і $RSD_{\bar{x}} \leq 0.20 \%$

Метод титрування	Ціна поділки бюретки, мл / характеристики бюретки	Стандартна невизначеність* $u(X) \%, \leq$
Титрування водним титрантом з візуальною фіксацією кінцевої точки і первинною стандартизацією титранту	0.05 / 25мл	0.38
	0.1 / 25мл	0.48
Титрування водним титрантом з візуальною фіксацією кінцевої точки і вторинною стандартизацією титранту	0.05 / 25мл	0.45
	0.1 / 25мл	0.57
Титрування розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки при коректуванні виміряного об'єму на температуру, стандартизація титранту на бюретці місткістю 25 мл з ціною поділки 0.05 мл	0.02 / 10мл	0.38
	0.05 / 10мл	0.44
Титрування розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки при коректуванні виміряного об'єму на температуру, стандартизація титранту на бюретці місткістю 25 мл з ціною поділки 0.1 мл	0.02 / 10мл	0.43
	0.05 / 10мл	0.49
Титрування розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки без коректування виміряного об'єму на температуру	0.02 / 10мл	0.37
	0.05 / 10мл	0.50
Потенціометричне титрування галогенідів органічних основ за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу	Бюретка 10 мл (ISO 8655-3)	0.36
Потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти без коректування виміряного об'єму на температуру	Бюретка 10 мл (ISO 8655-3)	0.34

* генеральне стандартне відхилення.

Порівняльний аналіз розроблених вимог до збіжності та експериментальних значень збіжності при титруванні субстанцій. З метою оцінки коректності розроблені вимоги до збіжності були порівняні зі значеннями відносних стандартних відхилень, що одержані при проведенні робіт з атестації стандартних зразківДФУ, одержані учасниками Програми професійного тестування (ППТ) та даними міжлабораторних випробувань, що були організовані Європейським Директоратом з якості лікарських засобів (EDQM).

Після перевірки розглянутих вибірок на рівноточність за критерієм Кокрена розраховували об'єднане відносне стандартне відхилення (RSD_{tot}), яке є генеральною характеристикою випробування. Діленням RSD_{tot} на корінь із кількості паралельних титрувань розраховували відносне стандартне відхилення середнього для кількостей паралельних титрувань від трьох до п'яти. Одержані значення порівнювали із вимогами до збіжності, встановленими за результатами оцінки невизначеності. Узагальнені результати статистичної обробки експериментальних даних наведені в Таблиці 6.

Таблиця 6

Узагальнені результати титриметричних випробувань

Вид титрування	Джерело первинних даних	Об'єднане число ступенів свободи	RSD_{tot}	$RSD_{\bar{x}}$		
				3 паралельні	4 паралельні	5 паралельних
Розчином хлорної кислоти із візуальною фіксацією кінцевої точки	Атест. СЗ	25	0.09	0.05	0.05	0.04
	ППТ	79	0.07	0.04	0.04	0.03
	ППТ	83	0.12	0.07	0.06	0.05
Потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти	Атест. СЗ	30	0.19	0.11	0.10	0.08
	EDQM	175	0.40	0.23	0.20	0.18
Потенціометричне титрування галогенідів органічних основ розчином натрію гідроксиду	Атест. СЗ	22	0.22	0.13	0.11	0.10
	EDQM	175	0.39	0.23	0.20	0.17
Водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки	Атест. СЗ	13	0.09	0.05	0.05	0.04
	EDQM	40	0.23	0.13	0.12	0.10
Потенціометричне титрування водним титрантом	EDQM	34	0.20	0.12	0.10	0.09
Вимоги до збіжності, що встановлені за результатами оцінки невизначеності:	1. $RSD_{\bar{x}} \leq 0.20\%$ (при межах вмісту $\geq \pm 1.0\%$); 2. $RSD_{\bar{x}} \leq 0.10\%$ (при межах вмісту $< + 1.0\%$); 3. $RSD_{\bar{x}} \leq 0.06\%$ (при межах вмісту $< + 1.0\%$ та вторинній стандартизації титранту).					

В цілому вимоги до збіжності, встановлені за результатами оцінки невизначеності методик титрування, відповідають генеральним характеристикам випробувань, що розглянуті. Прогнозована кількість паралельних випробувань, що буде достатньою для досягнення рекомендованого значення для відносного стандартного відхилення середнього 0.20 %, складає від трьох до чотирьох.

Прийнятність використання різних видів бюреток. Відповідно до стандарту ISO для скляних бюреток класу А місткістю 10 мл та 25 мл регламентовано по дві різних ціни поділки, для кожної з яких прогнозується різний рівень невизначеності результатів вимірювання об'єму.

За результатами оцінки невизначеності встановлені метрологічні можливості бюреток відносно фармакопейних методів титрування субстанцій. Виходячи з одержаних вимог до стандартної невизначеності результатів титрування ($u(X) \leq 0.45\%$) та результатів оцінки розширеної невизначеності встановлені критерії прийнятності використання скляних бюреток класу А та поршневіх бюреток (ISO 8655-3) для розглянутих методів титрування. Одержані результати наведені в Таблиці 7.

Таблиця 7

Розроблені критерії прийнятності використання скляних бюреток класу А та поршневіх бюреток (ISO 8655-3)

Метод титрування	Ціна поділки бюретки, мл / характеристики бюретки	Придатність бюретки (+/-)	
		$max\Delta_{As} < 1\%$	$max\Delta_{As} \geq 1\%$
Титрування водним титрантом з візуальною фіксацією кінцевої точки і первинною стандартизацією титранту	0.05 / 25мл	+	+
	0.1 / 25мл	-	-
Титрування водним титрантом з візуальною фіксацією кінцевої точки і вторинною стандартизацією титранту	0.05 / 25мл	+	+
	0.1 / 25мл	-	-
Титрування розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки при коректуванні вимірюваного об'єму на температуру, стандартизація титранту на бюретці місткістю 25 мл з ціною поділки 0.05 мл	0.02 / 10мл	+	+
	0.05 / 10мл	-	+
Титрування розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки при коректуванні вимірюваного об'єму на температуру, стандартизація титранту на бюретці місткістю 25 мл з ціною поділки 0.1 мл	0.02 / 10мл	-	+
	0.05 / 10мл	-	-
Титрування розчином хлорної кислоти з візуальною фіксацією кінцевої точки без коректування вимірюваного об'єму на температуру	0.02 / 10мл	+	+
	0.05 / 10мл	-	-
Потенціометричне титрування галогенідів органічних основ за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу	Бюретка 10 мл (ISO 8655-3)	+	+
Потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти без коректування вимірюваного об'єму на температуру	Бюретка 10 мл (ISO 8655-3)	+	+

У шостому розділі «Оцінка невизначеності результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» проведена оцінка невизначеності результатів випробування, що виконують у відповідності із вимогами загальної статті (2.2.32) ДФУ. Оцінка проведена двома способами – із застосування покрокового і узагальнюючого підходів.

При використанні покрокового підходу одержані значення стандартної невизначеності $u(w)=0.069$ % при масі наважки $m=1000$ мг і $u(w)=0.099$ % при $m=500$ мг. Дані значення стандартної невизначеності одержані на підставі оцінювання окремих складових з використанням вимог до обладнання, допустимих коливань в параметрах методики і літературних даних. За допомогою цього підходу встановили, що критичними параметри методики є умова досягнення постійності маси і допустимі коливання температури висушування, стандартна невизначеність результатів залежить від маси наважки.

Проведена оцінка невизначеності за результатами випробування «Втрата в масі при висушуванні» субстанції натрію ацетат, одержаними в рамках ППТ (узагальнюючий підхід). Були розглянуті результати 43 лабораторій-учасниць. Перед об'єднанням вибірок була перевірена їх рівноточність за критерієм Кокрена і однорідність за $3s$ критерієм. Об'єднане стандартне відхилення SD_{tot} (стандартне відхилення збіжності) експерименту складає 0.037 % (абс.), стандартне відхилення результатів S_R (стандартне відхилення відтворюваності) складає 0.070 % (абс.). Результат оцінки невизначеності, одержаний із застосуванням узагальнюючого підходу (0.070 %), добре узгоджується із результатом, одержаним із застосуванням покрокового підходу (0.069 %).

Проведена оцінка впливу результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» на результати кількісного визначення методом титрування. При використанні принципу незначущості складової невизначеності показано, що одиничне випробування «Втрата в масі при висушуванні» забезпечує незначущість впливу одержаного результату на результати кількісного визначення субстанції методом титрування при перерахунку вмісту на суху речовину (для випробувань, в яких маса наважки ≈ 1.000 г, нормоване значення втрати в масі при висушуванні не перевищує 6.0% й температура висушування не менше 100°C). Виходячи з припущення про можливість грубого промаху, рекомендована мінімальна кількість паралельних випробувань – два.

Стандартне відхилення збіжності, одержане в міжлабораторному експерименті, було використане для визначення критерію прийнятності для збіжності результатів при виконанні рутинних випробувань. На основі критерію Фішера встановлені наступні вимоги до збіжності:

- різниця результатів двох паралельних випробувань не має перевищувати 0.10 % (абс.);
- стандартне відхилення трьох паралельних визначень не має перевищувати 0.064 % (абс.); третє випробування проводять, якщо вимога для двох паралельних не виконується.

З метою оцінки коректності розроблені вимоги до збіжності були порівняні із значеннями відносних стандартних відхилень, одержаними на зразках 31 субстанції. Об'єднане число ступенів свободи одержаних результатів – 62, об'єднане

стандартне відхилення – 0.031 % (абс). Результати випробувань кожної окремої субстанції відповідають критерію прийнятності, встановленому за даними міжлабораторних випробувань субстанції натрію ацетат. За результатами оцінки експериментальних даних зроблений висновок – розроблені критерії прийнятності відповідають генеральним характеристикам методу.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведені узагальнені наукові дослідження з проблеми забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні». Наукова задача вирішена на основі оцінки та порівняння складових невизначеності результатів випробувань, що проведена у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac.

1. Проведений аналіз складових невизначеності поширених фармакопейних методів титрування субстанцій та підходів до кількісної оцінки виділених складових невизначеності. Виділені складові невизначеності маси наважки, об'єму титранту в кінцевій точці титрування, об'єму контрольного досліду, концентрації титрованого розчину. Як складові невизначеності об'єму титранту виділені: невизначеність калібрування бюретки; невизначеність, обумовлена температурними флуктуаціями; невизначеність зчитування зі шкали бюретки; невизначеність визначення кінцевої точки титрування; невизначеність взяття аліквоти.

2. Вперше проведена кількісна оцінка виділених складових невизначеності фармакопейних методів титрування субстанцій у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac. Проведена оцінка значущості вкладу виділених складових невизначеності об'єму титранту та значущості вкладу виділених складових сумарної невизначеності результатів титрування.

3. На основі проведених оцінок невизначеності розроблені науково обґрунтовані критерії та рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів фармакопейних випробувань субстанцій методами титрування. Визначені критерії прийнятності використання скляних бюреток класу А та поршневих бюреток (ISO 8655-3).

Запропонований критерій оцінювання придатності бюретки за об'ємом краплі, що доставляється. Відношення об'єму краплі до об'єму титранту в кінцевій точці титрування має бути незначущим по відношенню до максимально припустимої невизначеності аналізу.

Встановлені критерії прийнятності щодо збіжності результатів титрування:

– для субстанцій з межами вмісту рівними або більше ± 1.0 % відносно стандартне відхилення середнього при стандартизації титранту та при титруванні проби не має перевищувати 0.20 %;

– для субстанцій з верхньою межею вмісту менше +1.0 % відносно стандартне відхилення середнього при стандартизації титранту та при титруванні проби не має перевищувати 0.10 % (окрім випадку, що зазначений нижче);

– у випадку методу титрування водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки титрування та вторинною стандартизацією титранту для субстанцій з

верхньою межею вмісту менше + 1.0 % відносно стандартне відхилення середнього при стандартизації титранту та при титруванні проби не має перевищувати 0.06 %.

Встановлені вимоги до кількості паралельних титрувань титранту та проби. Достатньою кількістю паралельних титрувань як проби, так і титранту є три паралельні титрування; виконання більше трьох паралельних титрувань звичайно потребується для досягнення рекомендованого значення відносного стандартного відхилення середнього.

4. Проведена експериментальна перевірка коректності розроблених критеріїв прийнятності щодо збіжності результатів фармакопейних випробувань методами титрування. Розроблені вимоги до збіжності були порівняні зі значеннями відносних стандартних відхилень, що одержані при проведенні робіт з атестації стандартних зразків ДФУ, одержані учасниками ППТ та даними міжлабораторних випробувань, що були організовані EDQM.

5. Проведений аналіз складових невизначеності результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» та підходів до кількісної оцінки виділених складових невизначеності. Вперше проведена кількісна оцінка виділених складових невизначеності результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac. Оцінка проведена із використанням двох підходів: покрокового і узагальнюючого, одержані значення невизначеності добре узгоджуються один з одним (0.069 % і 0.070 %).

6. При використанні принципу незначущості показано, що одиничне випробування «Втрата в масі при висушуванні» забезпечує незначущість впливу одержаного результату на результати кількісного визначення субстанції методом титрування при перерахунку вмісту на суху речовину (для випробувань, в яких маса наважки ≈ 1.000 г, нормоване значення втрати в масі при висушуванні не перевищує 6.0% й температура висушування не менше 100°C).

7. На основі проведених оцінок невизначеності розроблені науково обґрунтовані критерії та рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні». Проводять два паралельних випробування, одержані результати мають різнитись не більше ніж на 0.10 %; якщо дана вимога не виконується, проводять третє випробування, стандартне відхилення трьох паралельних не має перевищувати 0.064 % (abc).

8. Проведена експериментальна перевірка коректності розроблених критеріїв прийнятності щодо збіжності результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні». Розроблені вимоги до збіжності були порівняні з експериментальними даними, одержаними на зразках 31 субстанції.

9. Результати дисертаційних досліджень включені в монографію ДФУ 5.3.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань. Розроблені рекомендації та критерії прийнятності у вигляді інформаційного листа впроваджено в практику лабораторій з аналізу якості лікарських засобів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Стандартизованная процедура валидации количественных методик титрования лекарственных средств / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, С. О. Чикалова и др. // Фармаком. – 2009. – № 2. – С. 5 – 29 (Особистий внесок полягає в плануванні та обробці експериментальних досліджень, узагальненні одержаних результатів).
2. Чикалова, С. О. Оценка неопределенности методик титрования субстанций с использованием пошагового похода / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2011. – № 3. – С. 11 – 31 (Особистий внесок полягає в пошуку літературних даних, розробці підходів до оцінювання невизначеності, проведенні розрахунків, написанні статті, формулюванні загальних висновків).
3. Чикалова, С. О. Критерии приемлемости результатов контроля качества субстанций при использовании метода титрования / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 41 – 54 (Особистий внесок полягає в розробці підходів до формування критеріїв, проведенні розрахунків, написанні статті, формулюванні загальних висновків).
4. Чикалова, С. О. Некоторые аспекты оценки пригодности весов при проведении фармакопейного анализа / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2014. – № 1. – С. 25 – 29 (Особистий внесок полягає в пошуку і аналізі літературних даних, формулюванні загальних висновків, написанні статті).
5. Гризодуб, А. И. Оценка неопределенности результатов испытания «Потеря в массе при высушивании» / А. И. Гризодуб, С. О. Чикалова // Фармація Казахстана. – 2014. – № 2. – С. 41 – 45 (Особистий внесок полягає в розробці підходів до оцінювання невизначеності, написанні статті, формулюванні загальних висновків).
6. Чикалова, С. О. Оценка влияния результатов испытания «Потеря в массе при высушивании» на результаты количественного определения методом титрования / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2014. – № 2. – С. 64 – 67 (Особистий внесок полягає в проведенні оцінок, розробці критеріїв прийнятності, написанні статті).
7. Збіжність результатів фармакопейних випробувань методами титрування: критерії прийнятності та експериментальні характеристики / С. О. Чикалова, О. І. Гризодуб, О. В. Бевз та ін. // Science Rise: Pharmaceutical Science – 2016. – № 2(2). – С. 42 – 45 (Особистий внесок полягає в обробці експериментальних даних, написанні статті).
8. Чикалова, С. О. Оцінка складових невизначеності методик титрування лікарських засобів / С. О. Чикалова, О. І. Гризодуб // Фармація України. Погляд у майбутнє : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 15-17 верес. 2010 р. : у 2 т. – Х. : НФАУ, 2010. – Т. 1. – С. 182.
9. Чикалова, С. О. Использование оценки неопределенности в соответствии с рекомендациями GUM в решении вопросов оперативного контроля качества результатов фармакопейных испытаний методом титрования / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матер. І міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 7-8 лист. 2014 р. – Х. : НФАУ, 2014. – С. 228 – 229.

10. Чикалова, С. О. Невизначеність випробування «Втрата в масі при висушуванні» та забезпечення якості результатів кількісних визначень методом титрування / С. О. Чикалова, О. І. Гризодуб // Аналітична хімія у фармації : матер. міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19-20 бер. 2015 р. – Х. : НФаУ, 2015. – С. 20 – 21.

11. Чикалова, С. О. Критерії прийнятності результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» / С. О. Чикалова, О. І. Гризодуб // Управління якістю в фармації : матер. ІХ наук.-практ. конф., м. Харків, 22 травня 2015 р. – Х. : НФаУ, 2015. – С. 166.

12. Чикалова, С. О. Рекомендації Державної Фармакопеї України щодо проведення рутинних випробувань методами титрування / С. О. Чикалова // Управління якістю в фармації : зб. наук. роб. Х наук.-практ. конф., м. Харків, 20 травня 2016 р. – Х. : НФаУ, 2016. – С. 185.

АНОТАЦІЯ

Чикалова С.О. «Забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні». – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2017.

В дисертації вирішено ряд питань щодо забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань методами титрування та випробування «Втрата в масі при висушуванні». Як інструмент дослідження використовували оцінку та порівняння складових невизначеності результатів випробувань. Оцінка невизначеності проведена у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac.

Вперше проведена кількісна оцінка складових невизначеності фармакопейних методів титрування субстанцій у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac. За результатами оцінки розроблені науково обґрунтовані рекомендації щодо схеми випробування та контролю якості результатів титрування субстанцій (вимоги до збіжності). Коректність розроблених критеріїв прийнятності оцінена при порівнянні із експериментальними даними одержаними в окремих лабораторіях і даними міжлабораторного експерименту.

Розроблені критерії прийнятності використання скляних та поршневих бюреток для розглянутих методів титрування. Запропонований критерій оцінювання придатності бюретки за об'ємом краплі, що доставляється.

Вперше проведена кількісна оцінка виділених складових невизначеності випробування «Втрата в масі при висушуванні» у відповідності із рекомендаціями Eurachem/Citac. За результатами оцінки розроблені науково обґрунтовані рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів випробування «Втрата в масі при висушуванні» (вимоги до збіжності). Проведений порівняльний аналіз розроблених вимог до збіжності та експериментальних характеристик випробування «Втрата в масі при висушуванні».

Ключові слова: контроль якості, метод титрування, втрата в масі при висушуванні, оцінка невизначеності, критерії прийнятності.

АННОТАЦІЯ

Чикалова С.О. «Обеспечение качества результатов фармакопейных испытаний методами титрования и испытания «Потеря в массе при высушивании». – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.03 – стандартизация и организация производства лекарственных средств. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2017.

В диссертации решен ряд вопросов относительно обеспечения качества результатов фармакопейных испытаний методами титрования и испытания «Потеря в массе при высушивании». В качестве инструмента исследования использовали оценку и сравнение составляющих неопределенности результатов испытаний. Оценка неопределенности проведена в соответствии с рекомендациями Eurachem/Citac.

Проведен анализ составляющих неопределенности наиболее часто используемых фармакопейных методов титрования субстанций (титрование водным титрантом и титрование раствором хлорной кислоты с визуальной фиксацией конечной точки титрования, потенциметрическое титрование раствором хлорной кислоты, потенциметрическое титрование галогенидов органических оснований по разности объемов между двумя скачками потенциала). Проведен анализ подходов к количественной оценке выделенных составляющих. Выделены составляющие неопределенности массы навески, объема титранта в конечной точке титрования, объема контрольного опыта, концентрации титрованного раствора. В качестве составляющих неопределенности объема титранта выделены: неопределенность калибровки бюретки; неопределенность, обусловленная температурными флуктуациями; неопределенность считывания со шкалы бюретки; неопределенность определения конечной точки титрования; неопределенность взятия аликвоты.

Впервые проведена количественная оценка выделенных составляющих неопределенности фармакопейных методов титрования в соответствии с рекомендациями Eurachem/Citac. По результатам проведенных оценок установлены критические параметры методик титрования, разработан критерий оценивания пригодности бюретки по объему капли, которая доставляется.

С целью определения требований к сходимости результатов титрования, составляющие неопределенности были разделены на две группы: вносящие вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин (изменяемые составляющие) и не вносящие вклад в экспериментально наблюдаемую изменчивость входных величин (неизменяемые составляющие). Исходя из требований к суммарной стандартной неопределенности и значения стандартной неопределенности неизменяемых составляющих, установлены требования к сходимости результатов титрования. Корректность разработанных требований к

сходимости оценена при сравнении с экспериментальными данными, полученными в отдельных лабораториях и данными межлабораторного эксперимента.

По результатам оценки стандартной неопределенности, эффективного числа степеней свободы и расширенной неопределенности для рассмотренных методов титрования сделаны общие выводы: неопределенность метода титрования характеризуется большим вкладом неизменяемых составляющих, в связи эффективное число степеней свободы результатов титрования значительно превышает число степеней свободы изменяемых составляющих; начиная с трех параллельных титрований пробы, расширенная неопределенность уменьшается незначительно; начиная с трех параллельных титрований титранта, расширенная неопределенность конечных результатов титрования уменьшается незначительно. По результатам проведенных оценок, разработаны научно обоснованные рекомендации относительно количества параллельных титрований пробы и титранта, разработаны критерии приемлемости использования стеклянных и поршневых бюреток.

Проведен анализ составляющих неопределенности результатов испытания «Потеря в массе при высушивании» и анализ подходов к количественной оценке выделенных составляющих. Впервые проведена количественная оценка выделенных составляющих неопределенности результатов испытания «Потеря в массе при высушивании» в соответствии с рекомендациями Eurachem/Citac. Неопределенность оценена двумя независимыми способами – статистическим анализом рядов наблюдений и на основе требований к оборудованию, допустимых колебаний в параметрах методики и литературных данных. Полученные результаты хорошо согласуются.

Проведена оценка влияния неопределенности результатов испытания «Потеря в массе при высушивании» на результаты количественного определения методом титрования. При использовании принципа незначимости составляющей неопределенности показано, что единичное испытание «Потеря в массе при высушивании» обеспечивает незначимость влияния полученного результата на результаты количественного определения субстанции методом титрования при пересчете содержания на сухое вещество. Исходя из предположения о возможности грубого промаха, рекомендовано минимальное количество параллельных определений – два.

По результатам проведенных оценок установлены критические параметры и требования к сходимости результатов испытания «Потеря в массе при высушивании». Корректность разработанных требований к сходимости оценена при сравнении с экспериментальными данными, полученными на образцах 31 субстанции.

Ключевые слова: контроль качества, метод титрования, потеря в массе при высушивании, оценка неопределенности, критерии приемлемости.

SUMMARY

Chikalova S. O. «Assurance of quality of pharmacopoeial titrimetric test results and «Loss on drying» test results. – Manuscript.

Thesis for obtaining of scientific degree of candidate of pharmaceutical sciences, specialty 15.00.03 – standardization and organization of pharmaceutical preparation manufacturing. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2017.

Series of questions in relation to assurance of quality of pharmacopoeial titrimetric test results and «Loss on drying» test results are decided. Estimation and comparison of uncertainty components are used as research instrument. The estimation of uncertainty is done in accordance with Eurachem/Citac Guide.

The quantitative estimation of uncertainty components of pharmacopoeial titrimetric tests of substances is first done in accordance with Eurachem/Citac Guide. Scientifically reasonable recommendations for experiment design and quality control of results (repeatability requirements) of pharmacopoeial tests of substances by volumetric titrations are worked out on basis of estimation results. Elaborated acceptance criteria have been verified by experimental data obtained in a separate laboratory and in an interlaboratory experiment.

The acceptance criteria of the use of glass and piston burettes for the considered titrimetric methods are determined. The verification criterion of burette on the delivered drop is offered.

The quantitative estimation of indentified uncertainty components of «Loss on drying» test is first done in accordance with Eurachem/Citac Guide. Scientifically reasonable recommendations for experiment design and quality control of results (repeatability requirements) of «Loss on drying» test are worked out on basis of estimation results. The comparative analysis of the developed repeatability requirements and experimental data is done.

Keywords: control of quality, volumetric titration, loss on drying, uncertainty estimation, acceptance criteria.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЛЗ	–	лікарський засіб
ДФУ	–	Державна Фармакопея України
«ВМВ»	–	втрата в масі при висушуванні
Eurachem	–	a Focus for Analytical Chemistry in Europe (Європейське товариство з аналітичної хімії)
Citac	–	the Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry (Співробітництво в галузі простежуваності вимірювань в аналітичній хімії)
ЄФ	–	Європейська Фармакопея
ППТ	–	програма професійного тестування лабораторій
EDQM	–	European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (Європейський директорат з якості ЛЗ та охорони здоров'я)