МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЛЕОНТЬЄВ ДМИТРО АНАТОЛІЙОВИЧ

УДК: 615.074:001.891+543:615.2/.3

СТВОРЕННЯ СИСТЕМИ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ СТАНДАРТНИХ ЗРАЗКІВ В УКРАЇНІ

15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Харків 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державному підприємстві «Український науковий фармакопейний центр лікарських засобів» (61085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33).

Науковий консультант: доктор хімічних наук, професор
ГРИЗОДУБ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ,
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», м. Харків, директор.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ЄВТІФЄЄВА ОЛЬГА АНАТОЛІЇВНА,
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, завідувач кафедри аналітичної хімії;

доктор фармацевтичних наук, професор
ВЕТЮТНЕВА НАТАЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА
Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, м. Київ,
завідувач кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів;

доктор фармацевтичних наук, професор
БОРЩЕВСЬКА МАРИНА ІЛЛІНІЧНА,
Приватне акціонерне товариство «Фармак», м. Київ, керівник департаменту біотехнології.

Захист відбудеться 12 травня о 10.00 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 ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «11» квітня 2016 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
професор В. А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Стандартні зразки (СЗ) у фармацевтичному аналізі використовують для досягнення належного рівня контролю якості (КЯ) лікарських засобів (ЛЗ). Без СЗ неможливо: перевірити якість ЛЗ або виявити фальсифікат, тобто проконтролювати справжність препарату; оцінити його безпечність – проконтролювати домішки; оцінити його ефективність – для твердих дозованих препаратів оцінити динаміку вивільнення діючої речовини тощо. Тому для досягнення сучасного рівня КЯ практично для кожного препарату потрібно використання одного або навіть декількох різних СЗ. Для фармації характерно використання дуже широкої номенклатури СЗ – велике фармацевтичне підприємство використовує звичайно близько 3000 різних СЗ. Витрати СЗ також дуже великі, особливо для рутинного КЯ ЛЗ при їх виробництві –для випуску практично кожної серії ЛЗ необхідно використати потрібний набір СЗ. Тому наявність національної системи фармацевтичних СЗ виступає одним із гарантів економічної та політичної незалежності країни.

В Україні на момент виходу із СРСР система СЗ у фармацевтичному секторі була відсутня. Прийнята в СРСР система фармацевтичних СЗ принципово не відповідала дворівневій системі СЗ, котра сьогодні використовується у фармацевтичному секторі. Теоретична база атестації фармацевтичних СЗ була відсутня.

Україна взяла курс на гармонізацію з Європейським співтовариством (Постанова Кабінету Міністрів України від 19.03.1997 р. № 244). Були розпочаті роботи зі створення Державної Фармакопеї України (ДФУ), гармонізованої з Європейською фармакопеєю (ЄФ). Фармакопейні СЗ (ФСЗ) є невід’ємною частиною фармакопеї. Тому створення ДФУ та її гармонізація з ЄФ неможливі без створення системи фармацевтичних СЗ.

У теперішній час загальновизнаною науковою базою забезпечення якості результатів аналізу, а отже, і забезпечення прийняття надійного висновку про якість ЛЗ є концепція невизначеності результатів вимірювань. Тому система фармацевтичних СЗ має спиратися на відповідне метрологічне забезпечення, базою якого є концепція невизначеності. Ця концепція тільки починає запроваджуватися у фармації, що потребує відповідних системних досліджень.

Україна має розвинутий фармацевтичний сектор, який у багатьох напрямках є лідером серед країн ближнього зарубіжжя. Тому створення національної системи фармацевтичних СЗ є актуальним завданням.

Зв'язок з науковими планами, програмами, темами. Робота виконана згідно з Наказом Президента України від 11.06.98 № 615/98, а також на виконання замовлення Державного підприємства «Державний фармакологічний центр» із розробки та підготовки монографій до видання Доповнення 2 Державної Фармакопеї України 1-го видання (№ державної реєстрації 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 з

вимогами GMP (№ державної реєстрації 0103U008804, 0103U002352); відповідно до господарських договорів з лабораторіями КЯЛЗ Держлікслужби України, лабораторіями фармацевтичних підприємств України та держав близького зарубіжжя (7 держав, включаючи Україну; близько 300 суб'єктів господарської діяльності).

Мета і задачі дослідження. Метою дисертаційної роботи є теоретичне обґрунтування принципів побудови та впровадження в дію національної системи фармацевтичних СЗ, методологічних основ атестації СЗ, гармонізованих з положеннями провідних фармакопей і GMP з урахуванням особливостей розвитку фармацевтичного сектору України.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

– провести аналіз різних існуючих систем СЗ фармацевтичного сектору та визначити принципи побудови системи СЗ для фармацевтичного сектору України;

– провести аналіз існуючих підходів щодо реалізації концепції невизначеності у фармацевтичному аналізі;

– розробити науково обґрунтовані вимоги до максимально припустимої невизначеності результату аналізу ($\max\Delta_{As}$), спираючись на концепцію невизначеності для основних фармацевтичних випробувань, в яких використовуються СЗ;

– розробити методологічні і теоретичні основи атестації фармацевтичних СЗ, виходячи з концепції невизначеності, при систематичному застосуванні принципу незначущості;

– розробити алгоритм атестації, підходи до метрологічного КЯ та систему документації, необхідні для упровадження в дію системи фармацевтичних СЗ;

– розробити процедури та критерії контролю загальної невизначеності та її складових для первинних і вторинних СЗ;

– розробити процедури та критерії атестації фармацевтичних СЗ для спектрофотометричного (СФ) аналізу;

– розробити й упровадити систему робочих СЗ (РСЗ) для фармацевтичних підприємств, яка б спиралась на науково обґрунтовану базу та повністю відповідала вимогам GMP;

– розробити й упровадити систему фармакопейних СЗ (ФСЗ) ДФУ, яка б відповідала практиці провідних фармакопей і враховувала практичні потреби України.

– на підставі проведених досліджень розробити та увести в дію комплекс статей ДФУ, в яких використовуються розроблені підходи.

Об'єкт дослідження. Створення системи СЗ фармацевтичного сектору України.

Предмет дослідження. Принципи побудови СЗ фармацевтичного сектору в межах концепції невизначеності при систематичному використанні принципу незначущості. Процедури та критерії метрологічного КЯ атестації СЗ різних категорій, які використовуються у фармацевтичному секторі.

Методи дослідження. Фармакопейні фізичні та фізико-хімічні методи рідинна хроматографія (РХ), газова хроматографія (ГХ); тонкошарова хроматографія

(ТШХ), рефрактометрія, поляриметрія, абсорбційна спектрофотометрія (СФ) в інфрачервоній області спектра (ІЧ), адсорбційна СФ в ультрафіолетовій і видимій областях (УФ); спектроскопія ядерного магнітного резонансу (ЯМР), мас-спектрометрія та ін.); хімічні методи ідентифікації та кількісного визначення, випробування на чистоту, у т.ч. контроль домішок; фармако-технологічні випробування готових лікарських засобів, випробування на залишкові кількості органічних розчинників; методи математичної статистики, у т.ч. статистичний аналіз результатів експериментальних досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше розроблені метрологічні і теоретичні основи системи СЗ фармацевтичного сектору.

Уперше обґрунтований принцип незначущості для часткової складової невизначеності, який оперує довірчими інтервалами та в явній формі відображає зв'язок з обраним рівнем надійності.

Уперше обґрунтовані вимоги до $\max\Delta_{As}$ для основних фармацевтичних випробувань (кількісне визначення для субстанцій і готових ЛЗ (ГЛЗ), тести «Розчинення для твердих дозованих форм» («Розчинення») та «Однорідність вмісту для дозованих ЛЗ» («Однорідність»), випробовування на вміст залишкових органічних розчинників (ЗОР) і супутніх домішок), виходячи з призначення таких випробовувань.

Для кількісного визначення вперше обґрунтовані різні підходи: «підтверджувальний підхід» та «доказовий підхід».

Вперше розроблена теоретична база атестації первинних і вторинних фармацевтичних СЗ, які використовують як безпосередньо для КЯ ЛЗ, так і для забезпечення якості результатів аналізу (для валідації методик, як тестові зразки (ТЗ) для проведення Програм професійного тестування (ППТ) фармацевтичних лабораторій та ін.).

Уперше обґрунтована метрологічна модель для вимог до максимально припустимої невизначеності, пов'язаної з використанням СЗ ($\max\Delta_{RS}$), яка враховує використання фармацевтичних СЗ на різних рівнях ланцюга вимірювань.

Уперше обґрунтовані вимоги до складових $\max\Delta_{As}$, пов'язаних з присвоєнням атестованого значення X_{Att}, стабільністю СЗ та його однорідністю, виходячи зі специфіки СЗ фармацевтичного сектору. Розроблені відповідні процедури атестації фармацевтичних СЗ.

Теоретичні розробки та експериментальні дослідження були використані при розробці національних загальних статей «Валідація аналітичних методик і випробувань ^{N}», «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту ^{N}», національних частин загальних статей «5.12. Стандартні зразки», «2.2.25. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях ^{N}», «1.4. Монографії. Стандартні зразки, стандартні препарати та еталонні спектри ^{N}», «2.2.39. Молекулярно-масовий розподіл декстринів ^{N}», «2.2.46. Методи хроматографічного розділення» та монографій на субстанції «Цефалексин», «Цефіксим», «Цефотаксим», «Таблетки клопідогрелю бісульфату» ДФУ 1 та 2 видання.

Практичне значення одержаних результатів. Уперше в Україні створена національна система СЗ фармацевтичного сектору, яка відповідає вимогам GMP та практики провідних фармакопей і враховує специфіку України. Україна перша і єдина серед країн колишнього СРСР має власні національні фармацевтичні СЗ усіх категорій.

Уперше уведена в дію система ФСЗ ДФУ. Атестовано понад 600 найменувань ФСЗ ДФУ різних категорій, які використовуються в Україні практично усіма виробниками ЛЗ, лабораторіями з КЯЛЗ Держлікслужби, Уповноваженими лабораторіями на ринку країни, в передреєстраційних дослідженнях, а також у країнах СНД. Сфера застосування різних ФСЗ ДФУ охоплює всі основні завдання фармацевтичного аналізу, як безпосередньо для КЯ ЛЗ, так і для КЯ результатів аналізу. Розроблені принципи використані при атестації СЗ для валідації методик і ТЗ, використовуваних у ППТ.

Уперше в Україні уведена в дію система РСЗ на фармацевтичних підприємствах України, яка спирається на розроблену наукову базу та повністю відповідає вимогам GMP. Розроблена система РСЗ упроваджена в практичну діяльність лабораторій 14 фармацевтичних підприємств України.

Розроблена уніфікована процедура атестації фармацевтичних СЗ (оформлена у вигляді інформаційного листа) упроваджена в практику атестації ФСЗ ДФУ та РСЗ лабораторій з КЯ ЛЗ.

Розроблені вимоги до $\max\Delta_{As}$ та запропонована метрологічна модель широко використовуються при проведенні валідації методик аналізу ЛЗ, у ППТ лабораторій з КЯ ЛЗ, при кваліфікації аналітичного обладнання, валідації технологічних процесів, в Україні та в країнах СНД.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено системний аналіз функціонування різних систем СЗ у фармацевтичному секторі, атестації та використання СЗ, а також існуючих підходів щодо реалізації концепції невизначеності у фармацевтичному аналізі. На основі проведеного аналізу сформульовані основні напрямки досліджень, їх цілі та завдання.

Спільно з науковим консультантом обґрунтовано принцип незначущості, який оперує довірчими інтервалами, а також вимоги до $\max\Delta_{As}$ для основних фармацевтичних випробовувань.

Розроблено процедури та критерії щодо встановлення значень $\max\Delta_{RS}$ та її складових (пов’язаних із присвоєнням X_{Att}, стабільністю та однорідністю СЗ) для фармацевтичних СЗ для різних рівнів ланцюга вимірювань (первинних і вторинних СЗ).

Спільно з науковим консультантом методологічно обґрунтовано підходи щодо можливості використання зовнішнього еталона оптичної густини, субстанції/реактиву без атестації або спеціально атестованого СЗ для методу СФ у видимій та УФ областях спектра (ДФУ 2.2.25). Розроблено процедури атестації фармацевтичних СЗ, призначених для використання у СФ методах.

Розроблено уніфіковану процедуру (методологічний підхід) атестації фармацевтичних СЗ.

Розроблено концепцію ФСЗ ДФУ, яка відповідає вимогам GMP і враховує специфіку України.

Здійснював керівництво атестацією ФСЗ ДФУ, розробкою та впровадженням системи ФСЗ ДФУ (процедури та критерії, система документації).

Здійснював наукове керівництво атестацією ТЗ у 3–7 раундах ППТ Фарматест.

Розроблено систему РСЗ: процедури, критерії, документацію. Здійснював керівництво під час впровадження системи РСЗ на 14 фармацевтичних підприємствах України.

Спільно з науковим консультантом розроблено й уведено в дію комплекс загальних статей та монографій ДФУ.

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи викладено на науково-практичних конференціях різного рівня: Всеукраїнській науково-практичній конференції «Фармація XXI століття» (Харків, 2002); III міжнародній науково-практичній конференції «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія» (Харків, 2003); сесії наукової ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія» (Дніпропетровськ, 2004 та Гурзуф, 2012); міжнародній науковій конференції «Історія та перспективи розвитку фармацевтичної науки та освіти» (Запоріжжя, 2004); IV науково – практичному семінарі при Координаційній раді відділення хімії НАН Україні з проблеми «Наукові основи створення лікарських засобів в Україні» (Гурзуф, 2004); міжнародних конгресах «Ліки та життя» (Київ, 2004 та 2005); VI науково – практичному семінарі «Перспективи створення нових лікарських засобів в Україні»; VI з’їзді фармацевтів України (Харків, 2005); науково – практичній конференції «Управління якістю в фармації» (Харків, 2011 та 2015); XI міжнародному симпозіумі Європейського директорату з якості лікарських засобів та охорони здоров'я (Франція, Страсбург, 2012); IX Всеукраїнській конференції з аналітичної хімії (Донецьк, 2013); міжнародному тренінгу Фармакопеї США (США, Роквілл, 2014); міжнародній науково – практичній конференції «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2015) та ін.

Публікації. Матеріали дисертації опубліковано у 44 наукових працях, зокрема: 1 колективній монографії, 1 керівництві, 1 інформаційному листі, 27 статтях у наукових фахових виданнях, з них 6 публікацій у іноземних виданнях, та 14 тезах доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 328 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу (1 розділ), 6 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 1 додатка. Обсяг основного тексту дисертації складає 272 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 23 таблицями та 24 рисунками. Список використаних джерел містить 274 найменування, з них 152 кирилицею та 122 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Застосування СЗ у фармацевтичному аналізі (огляд літератури). Проведено науковий аналіз принципів використання фармацевтичних СЗ, розглянуто специфіка ФСЗ і нефармакопейних СЗ; різні категорії фармацевтичних СЗ за їх призначенням і за положенням в ланцюгу вимірювань; сучасна практика атестації фармацевтичних СЗ (первинних і вторинних).

Обґрунтовано, що система фармацевтичних СЗ колишнього СРСР втратила актуальність в умовах сучасної інтернаціоналізації фармацевтичного ринку та не задовольняє потребам номенклатури фармацевтичних СЗ.

Визначена ієрархія для фармацевтичних СЗ в Україні: офіційні фармацевтичні СЗ – ФСЗ - за призначенням і використанням повністю відповідають статусу галузевих СЗ; РСЗ фармацевтичних підприємств - статусу СЗ підприємства.

Показано, що «дворівнева» система СЗ у відповідності з підходами GMP повністю відповідає сучасним принципам стандартизації ЛЗ..

Зроблено висновок, що на сучасному рівні розвитку стандартизації якість СЗ може бути забезпечена шляхом впровадження концепції невизначеності та розробки теоретично бази атестації фармацевтичних СЗ.

Визначено, що для коректного функціонування системи СЗ в сучасних умовах необхідна розробка критеріїв якості атестації СЗ (як для ФСЗ, так і для РСЗ) процедур атестації, системи документації і ін. Критерії повинні базуватися на призначенні фармацевтичних випробувань, в яких використовуються СЗ.

Розділ 2. Концепція невизначеності та вимоги до результатів аналізу. Проаналізовані наявні елементи метрологічного контролю у фармацевтичному секторі. Обґрунтовано, що без концепції невизначеності, яка робить акцент на варіювання кінцевого результату аналізу, нормування окремих метрологічних характеристик для окремих компонентів аналітичної системи може призводити до їх взаємної неузгодженості та недостатньої стандартизації.

Проаналізовані прийняті у фармацевтичній галузі міжнародні правила стандартизації, що пов’язані з концепцією невизначеності. Найбільш важливою є Фармакопейна модель прийняття рішення щодо якості ЛЗ, яка використовується провідними фармакопеями: варіювання, пов’язане з результатами аналізу, внесено у специфікації. У фармацевтичному секторі зазвичай використовують однобічні довірчі інтервали для рівня надійності 95%.

Обґрунтовано, що для фармацевтичного сектора використання загально-прийнятої в інших галузях моделі оцінки внеску часткових складових невизначеності Welch-Satterthwaite (базується на складанні вибіркових дисперсій варіювання часткових складових невизначеності) (1, 1a) дає некоректні оцінки сумарної невизначеності. Так, якщо оцінюють сумісний внесок від компонентів варіювання, які мають дуже різне число ступенів свободи ν (типова ситуація для фармацевтичного аналізу: $\nu = 1\text{-}2$ для 2-3 паралельних хроматограм і $\nu = \infty$ при оцінці внеску від мірного посуду), то сумарна невизначеність може бути менше, ніж її часткова складова. Запропонована так звана лінійна модель, яка базується на складанні квадратів довірчих інтервалів (1, 1b):

$$y = f(x_1, x_2, ...x_n) \quad (1); \; s_y^2 = \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \bullet s_{xi}^2 \quad (1a); \; \Delta_y^2 = \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \bullet \Delta_{xi}^2 \quad (1b)$$

де y – величина, яку вимірюють експериментально; x_i – незалежні випадкові величини, від яких залежить y; s – стандартне відхилення для y; Δ – довірчий інтервал для y.

Лінійна модель використовує суттєво менше припущень, ніж модель Welch-Satterthwaite, тому що не потребує перетворення довірчих інтервалів у дисперсії і дає більш жорсткі оцінки невизначеності, тобто завжди може бути використаною замість моделі Welch-Satterthwaite.

У межах лінійної моделі був сформульований принцип незначущості. Довірчий інтервал Δ_2 (часткова складова невизначеності) є значущій на рівні p% (тобто незначущій на рівні 100 - p%) у порівнянні з довірчим інтервалом Δ_1 (сумарна складова інших невизначеностей), якщо сумарний довірчий інтервал Δ_{pooled} перевищує Δ_1 не більш ніж на p%, тобто виконується співвідношення (2):

$$\Delta_{pooled} = \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \; ; \; \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \le (1 + \frac{p}{100}) \bullet \Delta_1 . \qquad (2)$$

Відповідно, для рівня значущості p = 5%: $\Delta_2 \le 0{,}32 \bullet \Delta_1$. Систематичне застосування принципу незначущості дозволило сформулювати вимоги до maxΔ_{As} для основних фармацевтичних випробувань, що є необхідною базою для обґрунтування вимог до всіх компонентів аналітичної системи: атестації СЗ, валідації аналітичних методик, критеріїв кваліфікації аналітичного устаткування, критеріїв для зовнішнього тестування лабораторій та ін.

Запропоновано використання для кількісного визначення в ГЛЗ і в деяких субстанція «доказового» підходу (3):

$$\max \Delta_{As} = 0{,}32 \bullet (B_{High} - B_{Low}) / 2 , \qquad (3)$$

де В – верхня та нижня межі вмісту (позначені індексами High та Low) відповідно.

Для кількісного визначення у субстанціях, в яких перевищення верхньої межі вмісту над 100% обумовлено тільки maxΔ_{As}, використовують підхід ЄФ («підтверджувальний» підхід): $\max \Delta_{As} = B_{High} - 100\%$.

Обґрунтовано, що відповідно до принципу незначущості для тесту «Однорідність» (4) має виконуватися співвідношення:

$$\max \Delta_{As} = 3{,}0\% . \qquad (4)$$

Вимоги до тесту «Розчинення» (ДФУ 2.9.3, 2.9.4, 2.9.25 і 2.9.42) тісно пов’язані з вимогами до тесту «Однорідність», оскільки припустиме перевищення над 100% від номінального вмісту (+15 %) може відбуватися тільки за рахунок перевищення вмісту речовини, яку аналізують, в окремій одиниці ГЛЗ. Вимоги до тесту «Розчинення» є менш жорсткими за рахунок додаткової (до неоднорідності вмісту) неоднорідності розчинення. При ступені розчинення, рівній 100%, вимоги до тесту «Розчинення» мають автоматично переходити у вимоги до тесту «Однорідність». Тому раціонально встановити вимоги до невизначеності методики аналізу при проведенні тесту «Розчинення» такими, як і при проведенні тесту «Однорідність».

Для випробовування на вміст супутніх домішок необхідно розрізняти граничне і кількісне випробовування, для яких результат повідомляють як «не більше» або «скільки саме» відповідно. Були проаналізовані різні підходи до встановлення вимог для $\max\Delta_{As}$: (1) виходячи із заокруглення у специфікаціях, (2) корегувальних коефіцієнтів і (3) порога площі піка, яку не враховують. Обґрунтовано, що перші два підходи для різних випадків нормування вмісту домішок призводять до безпідставного встановлення вимог до $\max\Delta_{As}$. Третій підхід дозволяє сформулювати метрологічно обґрунтовані вимоги до $\max\Delta_{As}$ (5):

$\max\Delta_{As} = 16\%$ граничні випробування; $\max\Delta_{As} = 5\%$ кількісні випробування. (5)

Обґрунтовано, що випробовування на вміст ЗОР є тільки граничним випробуванням. Виходячи із фармакопейних вимог (ДФУ 2.4.24: RS ≤ 15% для 3 паралельних визначень методом добавок), сформульовані вимоги до $\max\Delta_{As}$, які співпадають із вимогами до граничного випробовування на вміст домішок ($\max\Delta_{As} \leq 16\%$).

Розділ 3. Розробка теоретичної бази атестації фармацевтичних СЗ. Невизначеність, яку вносить використання СЗ (Δ_{RS}), є однією з часткових складових Δ_{As}. Для Δ_{RS} частковими складовими є:

– невизначеність особисто присвоєння атестованого значення Δ_{Att};

– невизначеність, яку вносить неоднорідність СЗ Δ_{Unif};

– зміна атестованого значення в процесі зберігання СЗ Δ_{Stab}.

Вимоги до $\max\Delta_{RS}$. Відповідно до обґрунтованого нами принципу незначущості запропоновано використовувати вимогу (6):

$$\max\Delta_{RS} = 0.32 \bullet \max\Delta_{As}. \quad (6)$$

Використання принципу незначущості забезпечує реалізацію простежуваності результатів вимірювань при переході до другої серії СЗ або при використанні ФСЗ різних національних фармакопей (наприклад, фармакопеї США (USP) і ДФУ), тобто виступає гарантом порівнянності результатів.

Використання СЗ і метрологічна коректність методик. Уже при співвіднесенні специфікацій з методами аналізу, які використовують, беруть до уваги метрологічні можливості останніх, тому що вимоги до $\max\Delta_{As}$ досить жорсткі. Так, ЄФ використовує такий підхід до співвідношення специфікацій і методів аналізу для субстанцій: $B_{High} \geq 101\%$ для титриметрії; $B_{High} \geq 102\%$ для хроматографії і $B_{High} \geq 103\%$ для СФ за питомим показником поглинання. Вимоги до $\max\Delta_{RS}$ у 3 рази більш жорсткі, ніж до $\max\Delta_{As}$, тому для оцінки досяжності вимог до $\max\Delta_{RS}$ тим більше необхідно брати до уваги можливості методів аналізу (табл. 1). Враховуючи необхідність присвоєння атестованого значення СЗ незалежними методами й оцінку розбіжності результатів між двома методами, на практиці може бути досягнуто значення $\max\Delta_{RS} \geq 0{,}5\%$. Але це потребує спеціальної кваліфікації аналітика, спеціальної організації експерименту (оптимізація наважок, розведень, числа вимірювань та ін.) і максимального метрологічного КЯ результатів аналізу. Межі вмісту для ГЛЗ більш жорсткі ніж ±5% (наприклад, межі ±3%, які раніше використовували для інфузій) є метрологічно некоректними як з погляду

використання порівняльних методів аналізу, так і з погляду атестації СЗ для них. Для субстанцій з верхньою межею вмісту 101% некоректно використовувати порівняльні методи (коректно використовувати тільки титрування). Такий аналіз є надзвичайно актуальним, тому що відсутність метрологічної бази призводить до наявності навіть у провідних фармакопеях метрологічно некоректних монографій. Наприклад, в USP для субстанції натрію аміносаліцилату верхня межа вмісту складає 100,5% при використанні для кількісного визначення РХ.

Таблиця 1

Вимоги до maxΔ_{RS} виходячи з вимог до maxΔ_{As} для основних фармацевтичних випробовувань

Випробовування	Вимоги до maxΔ_{As}	Вимоги до maxΔ_{RS}
Кількісне визначення:		
– субстанції (B_{High}=100,5%)	0,5%[1]	0,16%[1]
– субстанції (B_{High}=101%)	1%[5]	0,32%[2]
– субстанції (B_{High}=101,5%)	1,5%[3]	0,5%[3]
– субстанції (B_{High}=102%)	2%[6]	0,64%[3]
– ГЛЗ (± 5%)	1,6%	0,5%[3]
– ГЛЗ (однобічне нормування) = ±20%)	6,4%	2,0%[4]
«Однорідність», «Розчинення»	3,0%	0,96%[3]
Сторонні домішки:		
– Кількісні випробовування	5,0%	1,6%[3,4]
– Граничні випробовування	16,%	5%[4]
Залишкові органічні розчинники (ЗОР)	16,0%	5%[4]

Примітка: 1 – практично не можна досягти; 2 – можна досягти не в усіх випадках; 3 – зазвичай не проблемно для порівняльних методів; 4 – можливе використання субстанції/реактиву, для яких умовно приймають вміст за 100%; 5 – практично не можна досягти для хроматографічних методів; 6 – практично не можна досягти для СФ методів з використанням питомого показника поглинання.

Для контролю ЗОР і супутніх домішок (граничне випробовування), виходячи з вимог до maxΔ_{As}, достатньо використовувати замість спеціально атестованого СЗ відповідний реактив з чистотою понад 98%. Оскільки для реактивів/субстанцій чистоту 98% зазвичай легко досягнути, також можна використовувати субстанції/реактиви відповідної чистоти без присвоєння атестованого значення для однобічних меж вмісту в кількісному визначенні (для аналізу рослинної сировини).

Обґрунтування метрологічної моделі вимог до невизначеності для використання СЗ на різних рівнях метрологічного ланцюга вимірювань. Типовим ланцюгом вимірювань для фармацевтичного аналізу (рис. 1) є ситуація, коли для рутинного аналізу використовують РСЗ, який відкалібрований за ФСЗ. Зазначимо, що і для ФСЗ, і для РСЗ є свої Δ_{Att}, Δ_{Unif} і Δ_{Stab}.

Необхідно підкреслити, що оптимізація усіх часткових складових невизначеності проводиться з метою забезпечення їх прийнятного співвідношення щодо специфікацій. При цьому подальше зменшення співвідношення *часткова складова невизначеності/ширина специфікацій* = 1/10 вже не приводить до

помітного поліпшення надійності прийняття коректного висновку про якість ЛЗ, але при цьому критично завищуються метрологічні вимоги, які вже неможливо реально виконати. Послідовне застосування принципу незначущості виправдано тільки на перших 2-3 ланках метрологічного ланцюга, подальше його використання не має сенсу.

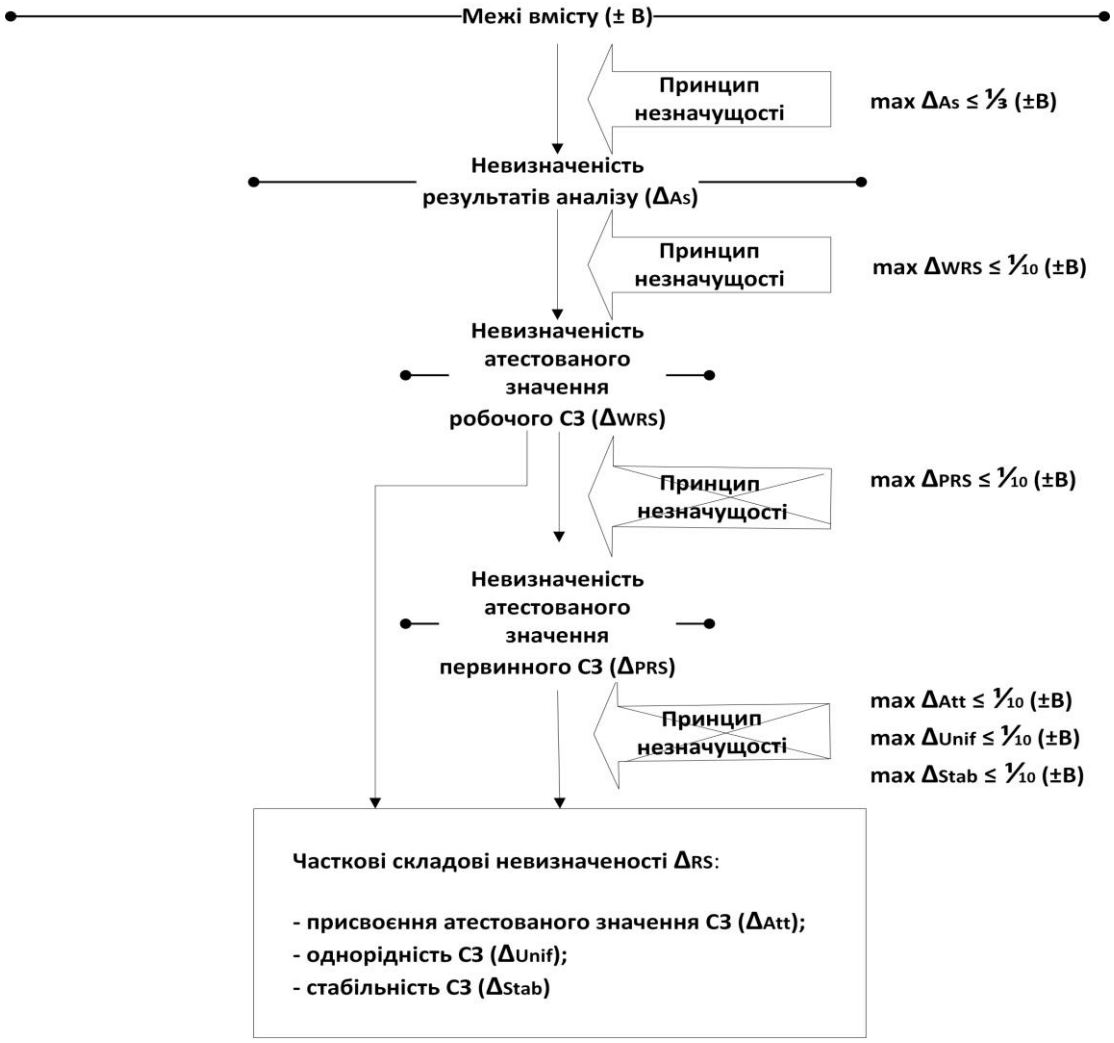

Рис. 1. Можливість використання принципу незначущості для різних рівнів типового ланцюга вимірювань у фармацевтичному аналізі.

Виходячи з положення СЗ у ланцюзі вимірювань і з урахуванням можливостей методів аналізу, які використовують для атестації СЗ, обґрунтовані метрологічні вимоги до maxΔ_{RS} та її часткових складових для первинних і вторинних СЗ, які використовують для фармацевтичного аналізу (табл. 2).

Показано, що при такому підході вірогідність бракування правильних результатів за рахунок maxΔ_{RS}, яку вносить РСЗ, збільшується тільки на 1,2%, що є цілком прийнятним (тобто незначущим для прийнятого рівня надійності 95%).

Часто результат оцінки якості СЗ містить декілька метрологічних характеристик. Коли титрують декілька наважок СЗ для встановлення $X_{ФСЗ}$, це є одночасно підтвердженням однорідності СЗ. При вивченні стабільності СЗ на протязі терміну придатності одержані результати також підтверджують і

однорідність СЗ. «Виділити» в чистому вигляді внесок Δ_{Att}, Δ_{Unif} і Δ_{Stab} для фармацевтичних СЗ часто неможливо.

Таблиця 2

Вимоги до метрологічних характеристик фармацевтичних СЗ на різних рівнях ланцюга вимірювань

Метрологічні характеристики фармацевтичних СЗ	Вимоги
$max\Delta_{RS}$ для ФСЗ (первинного або вторинного)	$\leq 0.32 \times max\Delta_{As}$
$max\Delta_{RS}$ для РСЗ (вторинного)	$\leq 0.32 \times max\Delta_{As}$
Δ_{Att} для ФСЗ або РСЗ	$\leq 0.32 \times max\Delta_{As}$
Δ_{Unif} для ФСЗ або РСЗ	$\leq 0.32 \times max\Delta_{As}$
Δ_{Stab} для ФСЗ або РСЗ	$\leq 0.32 \times max\Delta_{As}$

Реалізація розробленого підходу до встановлення метрологічних характеристик СЗ.

Встановлення атестованого значення первинного СЗ (національного ФСЗ).

– атестоване значення для ФСЗ ДФУ встановлюють двома методами: прямим методом (зазвичай титрування) і вирахуванням знайденого вмісту домішок зі 100 %;

– для вмісту, знайденого обома методами, з експериментальних даних розраховують невизначеність атестованого значення (Δ_{Att});

– для одержаних результатів мають виконуватися співвідношення (7):

$$\Delta_{Att} \leq \max \Delta_{RS}; \quad \left|\left(X_{Att} + \sum Imp\right) - 100\right| \leq \max \Delta_{RS}. \qquad (7)$$

Встановлення атестованого значення РСЗ. Специфіка атестації РСЗ: X_{Att} встановлюють шляхом порівняння з іншим СЗ. При цьому не використовують підтвердження «балансу» декількома методами. Однак при появі проблем може бути потрібно, наприклад, порівняння з попередньою серією РСЗ. Це може бути зроблено на тих саме принципах, що і присвоєння X_{Att}. Специфіка атестації РСЗ полягає в такому:

– атестація РСЗ принципово відрізняється від проведення КЯЛЗ на відповідність специфікаціям. Вимоги до невизначеності X_{Att} РСЗ у 3 рази більш жорсткі, ніж вимоги до відповідного результату аналізу ЛЗ.

– атестація РСЗ принципово відрізняється від атестації ФСЗ. Зазвичай для ФСЗ вміст встановлюють титруванням (один з найбільш точних методів аналізу). При встановленні атестованого значення вирахуванням домішок зі 100% їх вміст зазвичай досить низький, тому відносна похибка їх визначення мало впливає на невизначеність атестованого значення ФСЗ. Тобто одержати потрібну невизначеність при атестації вторинного СЗ може бути суттєво важче, ніж при атестації первинного СЗ.

– на відміну від ФСЗ РСЗ є вторинними СЗ і їх атестують за ФСЗ в умовах методики, в якій РСЗ призначений використовуватися. Основними методами атестації РСЗ є хроматографія и спектрофотометрія. Для цих методів значно складніше досягнути такої низької невизначеності результатів, яку може забезпечити титрування. Для багатьох випадків атестація РСЗ проводиться на межі метрологічних можливостей цього методу аналізу.

У зв’язку з цим реалізація процедур атестації РСЗ поставила вимоги використання спеціальних заходів:

– розведення у разі необхідності виконують ваговим методом.

– аналізують не менш ніж 2 паралельних розчини РСЗ і ФСЗ.

– наважки, розведення і число паралельних вимірювань оптимізують таким чином, щоб забезпечити виконання вимог до невизначеності атестованого значення.

Використовують також систематичний контроль результатів аналізу:

– перевірка відмінності результатів аналізу для двох паралельних розчинів (не має перевищувати максимально припустиму прогнозовану невизначеність).

– перевірка однорідності вибірок для результатів паралельних вимірювань.

– перевірка рівноточності вимірювань для всіх розчинів, що дозволяє використовувати об’єднане число ступенів свободи.

– перевірка відсутності дрейфу (зміна аналітичного сигналу з часом).

Встановлення терміну придатності СЗ. Термін придатності для СЗ встановлюють, виходячи з такої інформації:

– дані про термін придатності матеріалу для атестації, використовуваного для атестації ФСЗ і про граничний вміст домішок зі специфікації на матеріал для атестації (надаються виробником матеріалу для атестації).

– результати, отримані з використанням методу прискореного старіння.

– результати переконтролю після закінчення присвоєного терміну придатності.

Найбільш надійним підходом є прогнозування за результатами вивчення стабільності в приписаних умовах зберігання. Однак навіть для такого випадку прогнозований термін придатності не повинен перевищувати половини від вивченого експериментально. Це означає, що СЗ із терміном придатності 1 рік може бути уведений в дію лише через 2 роки після з'ясування потреби в ньому. Це робить практично неможливою атестацію нових ФСЗ ДФУ за заявками, а залишає можливість тільки атестації нових ФСЗ для прогнозованого попиту в майбутньому, що набагато менш ефективно.

Найбільш ефективним є встановлення терміну придатності на підставі інформації, наданої виробником. Однак виробник оцінює матеріал для атестації як ЛЗ, до якого ставляться більш м'які вимоги щодо варіювання складу, ніж до СЗ. У зв'язку з цим був розроблений підхід, що дозволяє кількісно оцінювати апріорну інформацію виробника для оцінки терміну придатності СЗ. При встановленні терміну придатності розрізняють два випадки, що залежать від виконання співвідношення (8):

$$\sum X_{i,MAX} \leq \max \Delta_{RS} , \qquad (8)$$

де $\sum X_{i,MAX}$ – максимально припустимий, відповідно до специфікацій на матеріал для атестації, вміст суми домішок, %.

1. Співвідношення виконується. Термін придатності вважається рівним терміну придатності матеріалу для атестації.

2. Співвідношення не виконується. Термін придатності необхідно встановлювати незалежно від терміну придатності субстанції.

Розробка уніфікованої процедури атестації фармацевтичних СЗ. Застосування сформульованих вимог для $\max\Delta_{As}$ та принципу незначущості до реалізації ланцюга вимірювань для фармацевтичних аналізів дозволило сформулювати узагальнений методологічний підхід до атестації первинних і вторинних фармацевтичних СЗ. Це стосується, зокрема, ТЗ, що використовують при проведенні ППТ лабораторій, зразків, що використовують для валідації аналітичних методик, зразків КЯ результатів аналізу і т.д. Такий підхід може застосовуватися:

– лабораторіями фармацевтичних підприємств, які вперше атестують первинний СЗ для інноваційного препарату;

– регуляторними органами для атестації офіційних СЗ;

– лабораторіями КЯ ЛЗ при атестації РСЗ для рутинних аналізів;

– лабораторіями КЯ ЛЗ при проведенні процедур забезпечення якості результатів аналізу.

Нижче наводиться положення уніфікованої процедури. Розглядаються тільки СЗ складу, що використовуються для кількісних визначень.

А. Атестація первинних СЗ.

А.1. Присвоєння атестованого значення (X_{Att}).

А.1.1. Віднімання знайденого вмісту домішок зі 100% (основний метод).

Атестований вміст обчислюють за формулою:

$X_{att} = [(100\%-\Sigma X_{Imp,i}\%) \div 100\%]\bullet\{[100\% - (ROI\% + VOL\%)] \div 100\%\}$,

де $\Sigma X_{Imp,i}$ – знайдений вміст домішок, які не є ЗОР; ROI – вміст неорганічних речовин (забруднення), знайдене як залишок після спалювання (ДФУ) або подібним методом; VOL – вміст летких домішок (вода та ЗОР).

Контроль якості. $\Delta_{Att} = \sqrt{\sum \Delta_i^2}$, де Δ_i – невизначеність для знайденого значення відповідної групи домішок за п. А.1.1.

Критерій: $\Delta_{Att} \le 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

А.1.2. Підтвердження X_{Att} прямим методом.

Якщо можливо, додатково встановлюють X_{Att} прямим методом. Зазвичай це пов'язано зі встановленням концентрації функціональних груп молекули (титрування, спектрофотометрія, ЯМР). Отриманий результат коригують, виходячи з аналітичного відгуку для відомого вмісту домішок.

Як основний метод – за відсутності можливості встановити X_{Att} за п. А.1.1.

Як процедура КЯ – у разі використання додаткового методу відповідно до п. А.1.1.

Контроль якості. 1. Δ_{Att} оцінюють, виходячи зі специфіки використовуваного методу аналізу та з конкретного проведення експерименту.

Критерій: $\Delta_{Att_2} \le 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

2. Додатково, коли прямий метод використовують як додатковий до п. А.1.1.

Критерій: $\left|X_{Att_1} - X_{Att_2}\right| \le 0{,}32 \bullet \max \Delta_{As}$.

А.1.3. Підтвердження X_{Att} порівняльним методом аналізу.

СЗ призначені для використання в порівняльних методах аналізу. Іноді є можливість підтвердити X_{Att} порівнянням з особливо чистою речовиною, за СЗ попередньої серії або для ФСЗ – за СЗ іншої фармакопеї.

Контроль якості. Δ_{Att} оцінюють, виходячи зі специфіки використовуваного методу аналізу та з конкретного проведення експерименту.

Критерій 1: $\Delta_{Att_3} \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

Критерій 2: $\left|X_{Att_1} - X_{Att_3}\right| \leq 0{,}32 \bullet \max \Delta_{As}$.

А.1.4. Стандартизація властивостей СЗ.

Інколи під час атестації СЗ уперше немає можливості об'єктивно присвоїти йому атестоване значення. У такому разі стандартизують властивості СЗ, що пов'язані з його чистотою/дією. Для наступних серій цього СЗ: (1) перевіряють знаходження стандартизованих властивостей у межах встановлених специфікацій; (2) порівняльним методом визначають X_{Att} з використанням СЗ попередньої серії.

А.2. Вивчення однорідності (Δ_{Unif}).

Проводять тільки для СЗ, що мають високий ризик бути неоднорідними: (1) гігроскопічні речовини; (2) містять леткі домішки в кількості, що перевищує $\max\Delta_{RS}$; (3) нестабільні в умовах аналізу (4); в інших обґрунтованих випадках.

Однорідність вивчають для наважки СЗ не меншій, ніж для методики, в якій СЗ призначений використовуватися.

Однорідність вивчають для розфасованої серії СЗ. На аналіз відбирають упаковки послідовно у процесі фасування, рівномірно розподілені за часом.

Аналізують наважки СЗ не менш ніж 5 упаковок.

А.2.1. Одночасне присвоєння X_{Att} прямим методом та вивчення однорідності.

Якщо є можливість, аналізують розфасований СЗ прямим методом, який використовують для присвоєння/підтвердження X_{Att} п. А.1.2.

Контроль якості. Відповідно до методики аналізу розраховують індивідуальні значення X_i, стандартне відхилення SD_{Unif} і довірчий інтервал Δ_{Unif}:

$$\Delta_{Unif} = SD_{Unif} \cdot t(95\%;1),$$

де t – однобічній коефіцієнт Стьюдента для рівня надійності 95%.

Критерій: $\Delta_{Unif} \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

А.2.2. Окреме вивчення однорідності – індикаторні показники.

Однорідність можна вивчати окремо від присвоєння атестованого значення. Для цього можна використовувати «індикаторний» метод аналізу, який дозволяє контролювати природну неоднорідність СЗ або можливі зміни під час фасування. Наприклад, визначають вміст води напівмікрометодом, або питомий показник поглинання методом спектрофотометрії, або вміст домішок.

Контроль якості. Виражають знайдений вміст аналізованих домішок у відсотках від змісту основної речовини. Розраховують стандартне відхилення SD_{Unif} і довірчий інтервал Δ_{Unif}, як зазначено у п. А.1.2.1.

Критерій: $\Delta_{Unif} \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

А.2.3. Окреме вивчення однорідності – визначення вмісту основної речовини порівняльним методом.

Метод аналізу, в якому призначений використовуватися певний СЗ, може бути використаний для оцінки однорідності СЗ.

Контроль якості. Виражають результати аналізу для розфасованих упаковок СЗ як відношення аналітичний сигнал / фактична концентрація: $R_i = r_i / C_i$. Для

отриманих значень R_i розраховують відносне стандартне відхилення у відсотках RSD_{Unif} і довірчий інтервал Δ_{Unif}, як зазначено у п. А.1.2.1.

Критерій: $\Delta_{Unif} \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

А.3. Встановлення терміну придатності (Δ_{Stab}).

А.3.1. За результатами для передбачених умов зберігання СЗ.

Може бути встановлений той самий термін придатності або термін придатності може бути збільшений, але не більш ніж у 2 рази.

Контроль якості. 1. Той самий термін придатності: оцінюють змінення атестованого значення.

Критерій: $\left|X_{Att_1} - X_{Att_2}\right| \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

2. Збільшення терміну придатності: за даними, що одержані під час вивчення стабільності, прогнозують X_{Att_2} для збільшеного терміну придатності.

Критерій: $\left|X_{Att_1} - X_{Att_2}\right| \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

А.3.2. За результатами зберігання СЗ при підвищеній температурі.

Використовують підхід, як для вивчення стабільності ЛЗ.

Контроль якості.

Критерій: зміна для X_{Att} не більш ніж на $\max\Delta_{RS}$.

А.3.3. За апріорної інформації щодо накопичення продуктів деградації.

Якщо у специфікації на матеріал для атестації СЗ для передбачених умов зберігання СЗ вказано максимально допустимий вміст домішок – продуктів деградації.

Контроль якості. За максимально допустимим вмістом суми продуктів деградації ($\Sigma X_{Imp,i}$) оцінюють зміну вмісту основної речовини $X_{Att_2} = 100\% - \Sigma X_{Imp,i}$.

Критерій: $X_{Att_1} - X_{Att_2} \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

В. Атестація вторинних СЗ.

В.1. Присвоєння атестованого значення (X_{Att}).

Для вторинних СЗ X_{Att} завжди присвоюють шляхом порівняння з іншим (зазвичай первинним) СЗ. Для ФСЗ додатково підтверджують X_{Att} відніманням домішок зі 100%, прямим методом або, якщо це неможливо, стандартизують властивості СЗ. Для вторинних СЗ, які використовуються для рутинних аналізів, додаткове підтвердження атестованого значення може використовуватися як додатковий КЯ результатів аналізу, наприклад, при отриманні результатів, які не відповідають специфікації (як процедури OOS).

Контроль якості. 1. Виконують два незалежних аналізи. Розраховують нормалізовані значення аналітичного сигналу (R_i) як відношення аналітичний сигнал / фактична концентрація: $R_i = r_i / C_i$. Оцінюють максимально допустиму розбіжність між двома результатами для первинного СЗ і двома результатами для вторинного СЗ, виходячи з експериментальних даних і фармакопейних вимог до пробопідготовки (Δ_{MAX}).

Критерій: $\left|R_1 - R_2\right| / \overline{R} \leq \Delta_{MAX}$.

2. Залежно від використовуваного методу аналізу оцінюють Δ_{Att}.

Критерій: $\Delta_{Att} \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$.

В.2. Вивчення однорідності (Δ_{Unif}). Як для первинних СЗ.

В.3. Встановлення терміну придатності (Δ_{Stab}). Якщо вторинний СЗ зберігається за тих самих умов, що й первинний, для вторинного СЗ може бути присвоєний той самий термін придатності, що й для первинного. Якщо вторинний СЗ зберігається не як первинний (наприклад, при кімнатній температурі), термін придатності встановлюють як для первинних СЗ.

Розділ 4. Застосування СЗ для методу аналізу спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях. Розглянуто специфіку різних варіантів методу СФ по відношенню до СЗ.

Використання «зовнішнього СЗ». Проаналізовані умови коректного використання «зовнішніх СЗ» – чистої, стабільної, однорідної і доступної речовини, яка відрізняється за своєю природою від аналіту. Застосування зовнішніх СЗ оптимально при симбатній зміні спектрів поглинання СЗ і речовини, що аналізують, при аналітичній довжині хвилі. Застосування зовнішніх СЗ обмежено вимогами до спектрофотометрів (ЄФ/ДФУ 2.2.25 «Перевірка шкали оптичних густин»). Припустиме варіювання при різних довжинах хвиль може призводити до похибок визначення оптичної густини до 2% (для видимої області спектра допускається варіювання 3%). Тому застосування зовнішніх СЗ для кожного випадку необхідно обґрунтовувати, виходячи з вимог до $\max\Delta_{As}$ і $\max\Delta_{RS}$. Загалом застосування зовнішніх СЗ можливе тільки для ГЛЗ із межами вмісту більше ±10%. Використання зовнішніх СЗ для кількісного визначення залишається актуальним тільки для рослинної сировини і ЛЗ із неї з однобічним нормуванням вмісту.

Використання речовини порівняння без установленого атестованого значення. При цьому використовують речовину порівняння, яка відповідає специфікаціям. Вміст основної речовини вважають рівним 100%.

Одним з обмежень такого випадку є необхідність легітимності результатів аналізу, яка реалізується через їх простежуваність. Тому всі провідні фармакопеї включають у номенклатуру СЗ усі діючі речовини ГЛЗ незалежно від чистоти відповідної субстанції, тобто без розгляду коректності використання субстанції як речовини порівняння без атестації. Однак такий підхід використовується при визначенні вмісту домішок і для кількісного визначення в рослинній сировині та препаратах з неї. Зазначимо, що в умовах GMP цей спосіб можна використовувати для неофіційних аналізів, наприклад, на ранніх етапах фармацевтичної розробки.

А. Загальний випадок. Апріорі відома (до атестації) невизначеність вмісту основної речовини в такій субстанції дорівнює допускам вмісту цієї речовини відповідно до нормативної документації. Згідно з вимогами до $\max\Delta_{RS}$ умовою використання субстанції для аналізу ГЛЗ як СЗ без атестації буде таке (9):

$$\max\Delta_{RS} = \pm B_{Sub},\ \max\Delta_{RS} = 0{,}1\times(\pm B), \tag{9}$$

де $\pm B_{sub}$ – двобічні симетричні допуски вмісту для субстанції, яку передбачають використовувати як речовину порівняння без атестації; $\pm B$ – двобічні симетричні допуски вмісту діючої речовини в ГЛЗ, для аналізу якого передбачають використовувати субстанцію як речовину порівняння без атестації.

Б. Субстанція має сертифікат відповідності ЄФ і задовольняє принцип «прозорості» (transparency) монографії. Це істотно змінює наші апріорні знання про

субстанцію. Вміст основної речовини тепер коливається не в межах допусків монографії (формально від 100 – B_{low} до 100 + B_{high}), а в значно вужчих межах від (100 – вміст домішок)% до 100%. Умовою застосування для аналізу ГЛЗ як СЗ без атестації буде (10):

$$\Delta_{RS} = \mathrm{ROI} + \sum_i X_{imp,i}\ ;\ \max \Delta_{RS} = 0{,}1 \bullet (\pm B), \tag{10}$$

де ROI – граничний вміст неорганічних домішок, одержаний спалюванням, % (часто використовують показник «сульфатна зола»); $X_{imp,i}$ – граничний вміст суми домішок у субстанції, у відсотках, відповідно до вимог монографії ЄФ.

У разі спектрофотометричного аналізу можна чекати, що питоме поглинання суми домішок не більш ніж у два рази може перевершувати питоме поглинання основної речовини, тобто з урахуванням сульфатної золи отримуємо таке рівняння (11):

$$\sum_i \frac{E_i(\lambda)}{E_{RS}(\lambda)} \bullet X_{imp,i} \le \mathrm{ROI} + 2 \bullet \sum_i X_{imp,i}\ , \tag{11}$$

де E – питомий показник поглинання (1% 1 см) для і-тої домішки і для субстанції (позначені індексами i та RS), відповідно, при зазначеній довжині хвилі.

Важливим питанням є вплив поглинання домішок при застосуванні субстанції без атестації для спектрофотометричного аналізу. Виходячи з (11) отримуємо, що приписаний вміст основної речовини (для спектрофотометрії) в субстанції знаходиться в межах від (100 - ROI - $\sum X_{imp,i}$)% до (100 + ROI +$\sum X_{imp,i}$)%. Тобто, якщо (ROI +$\sum \boldsymbol{X_{imp,i}}$)% ≤ max$\Delta_{RS}$, то цій субстанції можна приписати вміст 100%.

Цей спосіб мало застосується, оскільки не всі субстанції ЄФ відповідають принципу «прозорості» монографій, лише невелика кількість виробників має сертифікат відповідності ЄФ. І головне, що тільки невелика кількість субстанцій витримують вимоги співвідношення (10), тобто що можуть бути використані без атестації як СЗ при кількісному аналізі ГЛЗ. У решті випадків необхідно використовувати процедуру атестації СЗ.

Первинні СЗ. Для атестації СЗ використовують субстанції, що відповідають вимогам певної монографії фармакопеї або іншої аналітичної нормативної документації.

Нами запропоновано рівняння для присвоєння X_{RS}, яке відрізняється для селективного методу (наприклад, хроматографія) і неселективного (СФ) (12-14):

Хроматографія: $$X_{RS} = 100\% - ROI - VOL - \sum X_{\mathrm{imp},i}\ ; \tag{12}$$

де VOL – сумарний вміст води та ЗОР; $X_{imp,i}$ – вміст і-тої домішки, знайдений методом хроматографії, у відсотках.

СФ: $$X_{RS} = 100\% - ROI - VOL - \sum X_{\mathrm{imp},i} + \sum r_{\mathrm{imp},i}(\lambda)\,; \tag{13}$$

$$r_{\mathrm{imp},i}(\lambda) = \frac{100 \cdot E_i(\lambda) \bullet X_{imp,i}}{E_{RS}(\lambda) \bullet X_{RS} + \sum E_i(\lambda) \bullet X_{imp,i}} = \frac{E_i(\lambda)}{E_{RS}(\lambda)} \bullet X_{imp,i}\ ; \tag{14}$$

де $r_{imp,i}(\lambda)$ – інформаційний коефіцієнт і-тої домішки при аналітичній довжині хвилі (при якій проводиться кількісний аналіз ЛЗ).

Нами запропонований спосіб оцінки Δ_{RS} для первинних СЗ (15, 16):

$$\textit{Хроматографія}:\ \Delta_{RS}^2 = \Delta_{ROI}^2 + \Delta_{VOL}^2 + \sum \Delta_{imp,i}^2\ ; \qquad (15)$$

$$СФ:\quad \Delta_{RS}^2 = \Delta_{ROI}^2 + \Delta_{VOL}^2 + \sum_i \left[\frac{E_i(\lambda)}{E_{RS}(\lambda)} - 1 \right]^2 \bullet \Delta_{imp,i}^2\ ; \qquad (16)$$

де Δ_{ROI} – невизначеність результату для сумарного вмісту неорганічних домішок; Δ_{VOL} – невизначеність результату для сумарного вмісту води та ЗОР; $\Delta_{imp,i}$ – невизначеність результату для сумарного вмісту супутніх домішок.

Вторинні СЗ. Основні принципи атестації СЗ для СФ аналізу такі самі, як для хроматографічних методів аналізу. Специфікою в цьому разі є можливість ситуації, коли X_{Att} перевищує 100%, що фізично неможливо для СЗ, які використовують у селективних методах аналізу. У разі СФ СЗ є просто еталоном оптичної густини, тобто завдяки присутності домішок, поглинання яких може бути істотно сильніше за поглинання основної речовини, «ефективне» значення вмісту для СЗ, дійсно, може бути понад 100%.

Особливим моментом атестації вторинних СЗ для методу СФ у порівнянні з хроматографічними методами є використання набагато нижчих концентрацій. Це призводить до необхідності виконання додаткових розведень, що негативно позначається на невизначеності X_{Att}. У таких випадках необхідно використання вагового методу приготування розчинів.

Приклад проведення практичної атестації СЗ парацетамолу для СФ (табл. 3).

Таблиця 3

Атестація первинного СЗ для хроматографії та СФ

Домішки	Вміст, %	Невизначеність, %	E_i / E_{RS}	Вміст основної речовини для РХ	Вміст основної речовини для СФ
ROI	0,1	0,057		X_{RS} (хром,) = 99,5%	X_{RS} (СФ) = 99,6%
VOL	0,30	0,026			
2-acetamidophenol	0,049	0,014	0,49		
4-nitrophenol	0,01	0,0041	0,41	Δ_{Att} = 0,064%	
$\sum X_{imp,i}$	0,059				
$\sum r_{imp,i}(\lambda=257$ *нм)*	0,028				

Результати визначення вмісту парацетамолу методом віднімання домішок від 100% були підтверджені результатами титрування: вміст парацетамолу склав 99,6% з невизначеністю 0,45%.

За отриманим первинним СЗ парацетамолу як приклад атестували іншу субстанцію парацетамолу як вторинний СЗ методом СФ (табл. 4, рис. 2).
Невизначеність вмісту основної речовини при цьому дозволяє в принципі використовувати вторинний СЗ для СФ не тільки лікарських форм парацетамолу, але й самої субстанції.

Запропоновані способи апробовані при атестації ФСЗ ДФУ (близько 200 ФСЗ) і РСЗ фармацевтичних підприємств України.

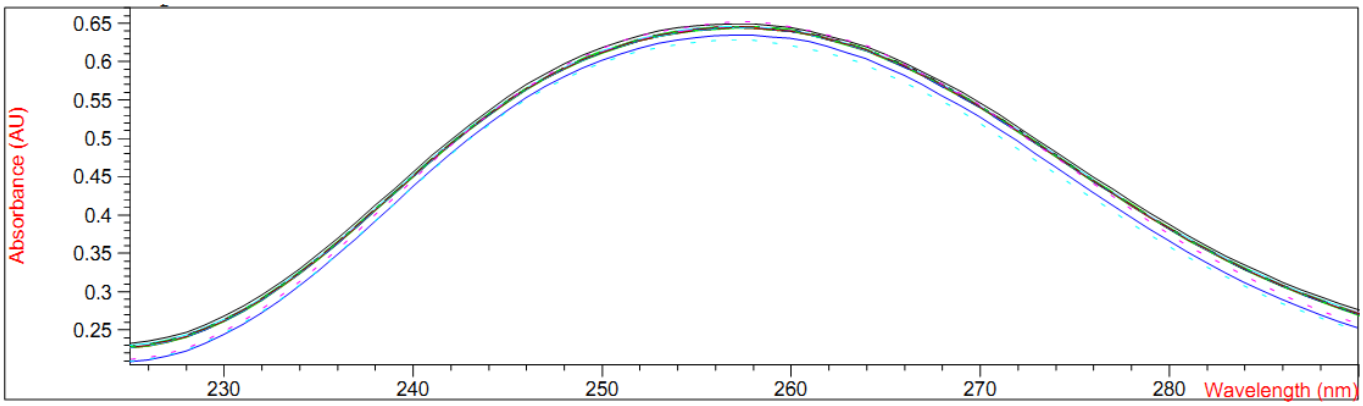

Рис. 2. УФ-спектри, одержані при атестації вторинного СЗ парацетамолу.

Таблиця 4

Атестація вторинного СЗ парацетамолу для спектрофотометрії

Метрологічні характеристики	Результати
Атестоване значення РСЗ парацетамолу	X_{PC3} (СФ) = 98,96%
Невизначеність пробопідготовки	$\Delta_{V,r}$ = 0,24%
Невизначеність кінцевої аналітичної операції	$\Delta_{СФ}$=0,055% (n=5, RSD_P=0,06%)
Невизначеність атестованого значення РСЗ	Δ_{PC3} = 0,25%

Узагальнена інформація щодо атестації деяких ФСЗ ДФУ, призначених для кількісного визначення методом СФ, наведена в табл. 5.

Таблиця 5

Узагальнена інформація щодо атестації деяких ФСЗ ДФУ, призначених для кількісного визначення методом СФ

Назва ФСЗ ДФУ, результати атестації	Атестаційні випробування та результати
1	2
Лідокаїну гідрохлорид 100%–Σ_{Imp} = 93,7 % X_{Att}(СФ) = 93,7 % maxΔ_{RS}% = 0,5 % Δ_{RS}% факт = 0,05 %	Ідентифікація методом СФ ІЧ – позитивний Визначення води напівмікрометодом – 6,3 % Супровідні домішки, методом РХ – 0,03 % ЗОР, ROI – незначуще Кількісне визначення методом індикаторного титрування – 100,7%
Ципрофлоксацину гідрохлорид 100%–Σ_{Imp} = 93,2 % X_{Att}(СФ) = 93,5 % maxΔ_{RS}% = 0,5 % Δ_{RS}% факт = 0,13 %	Ідентифікація методом СФ ІЧ – відповідає Визначення води напівмікрометодом – 6,4% Супровідні домішки, методом РХ – 0,17% Домішка А, методом ТШХ – 0,20% ROI, ЗОР – незначуще

Продовж. табл. 5

1	2
Натрію пікосульфат $100\%-\Sigma_{Imp}$ = 95,2 % X_{Att}(СФ) = 95,3 % $\max\Delta_{RS}\%$ = 0,5 % $\Delta_{RS}\%$ факт = 0,05 %	Ідентифікація методом СФ ІЧ – позитивний Визначення води напівмікрометодом – 4,7 % Супровідні домішки методом РХ 0,11 % ЗОР – незначуще Кількісне визначення, потенціометричне титрування – 100,1 %
Хлоропіраміну гідрохлорид $100\%-\Sigma_{Imp}$ = 99,7 % X_{Att}(СФ) = 99,9 % $\max\Delta_{RS}\%$ = 0,5 % $\Delta_{RS}\%$ факт = 0,12 %	Ідентифікація методом СФ ІЧ – позитивний Втрата в масі при висушуванні – 0,07 % ROI 0,05 % Супровідні домішки методом ГХ – 0,2 % Кількісне визначення, індикаторне титрування – 99,8 %
Рилузол $100\%-\Sigma_{Imp}$ = 99,1 % X_{Att}(СФ) = 99,1 % $\max\Delta_{RS}\%$ = 0,5 % $\Delta_{RS}\%$ факт = 0,09 %	Ідентифікація методом СФ ІЧ – позитивний Втрата в масі при висушуванні – 0,84% Супровідні домішки, методом РХ – 0,025% ROI – 0,013% Кількісне визначення, потенціометричне титрування – 99,4%

Розділ 5. Однорідність фармацевтичних СЗ. Проведений критичний аналіз нормативних документів з вивчення однорідності. Використовуваний спосіб передбачає статистичне виділення варіювання, пов'язаного власне з неоднорідністю. При цьому, якщо невизначеність власне аналізу досить велика в порівнянні з неоднорідністю, що вивчається, мінімальна необхідна кількість аналізів зростає (може бути потрібно до 90 аналізів). Для фармацевтичних СЗ цей спосіб неприйнятний, оскільки атестація проводиться на межі можливості аналітичних методів, тобто внесок від методу аналізу значущий у порівнянні з $\max\Delta_{RS}$.

У зв'язку з цим запропонована нова концепція вивчення однорідності СЗ. Оцінюють сумарне варіювання між пробами СЗ, компонентами якого є варіювання аналітичного сигналу, пробіподготовки і власне варіювання, пов'язане з неоднорідністю. При цьому не оцінюють фактичне значення варіювання від неоднорідності, а підтверджують, що сумарне варіювання знаходиться в прийнятному діапазоні. Це дозволяє використовувати мінімальну вибірку, для якої виконується нормальний розподіл (починаючи з 5). Оцінку неоднорідності виражають як довірчий інтервал, який враховує число ступенів свободи для вибіркового стандартного відхилення, тобто ризик зменшення числа проаналізованих проб СЗ. усе це дозволяє отримувати надійну оцінку однорідності при роботі на межу можливості аналітичного методу.

Запропонована така методика вивчення однорідності.

1. Проводять аналіз нерозфасованого СЗ. Визначають X_{att} та відповідну йому невизначеність Δ_{bulk}.

2. Проводять розфасування СЗ і визначають вміст у кожній упаковці (не менше 5), використовуючи нерозфасований матеріал для атестації як речовину порівняння. Розраховують довірчий інтервал (Δ_{Unif}) відхилень одиничних вмістів від атестованого значення X_{Att}. Довірчий інтервал Δ_{Unif} не повинен перевищувати максимально допустиму невизначеність атестованого значення СЗ (17):

$$\Delta_{\text{Unif}} \leq \max \Delta_{RS} = 0{,}32 \bullet \Delta_{As} . \qquad (17)$$

3. Якщо співвідношення (17) виконується, то це означає не тільки те, що повна невизначеність атестованого значення для розфасованого СЗ знаходиться в допустимих межах, а й те, що неоднорідність цього СЗ (один з доданків цієї повної невизначеності) також знаходиться в допустимих межах. При цьому конкретне значення невизначеності, пов'язаної з неоднорідністю, не є важливим і воно не визначається.

Узагальнена інформація щодо атестації деяких ФСЗ ДФУ, для яких була необхідна перевірка однорідності, наведена в табл. 6.

Таблиця 6

Узагальнена інформація щодо атестації деяких ФСЗ ДФУ, для яких була необхідна перевірка однорідності

Назва ФСЗ ДФУ	**Наважка ФСЗ, для якої підтверджена однорідність**	**Метод вивчення однорідності**	**max Δ_{RS}%**	**$\Delta_{Unif}=\Delta_{RS}$, %**
Золмітриптан	0,02 г	РХ	0,5	0,34
Валсартан	0,04 г	РХ	0,5	0,48
Нітроксолін	0,05 г	СФ в УФ області	0,32	0,27
Вінкамін	0,1 г	Потенціометричне титрування	0,5	0,5
Тіотриазолін (Морфолінієва сіль тіазотної кислоти)	0,05 г	Індикаторне титрування	0,5	0,30
Моксифлоксацину гідрохлорид	0,044 г	Визначення води напівмікрометодом	0,5	0,11
Цитиколін натрію	0,05 г	Втрата в масі при висушуванні	0,5	0,21

На цей час розроблена методика систематично застосовується при атестації ФСЗ ДФУ (підтверджена експериментально однорідність більш ніж для 200 ФСЗ ДФУ) і для РСЗ підприємств.

Розділ 6. Створення системи РСЗ в Україні. В Україні розроблена й впроваджена на фармацевтичних підприємствах система РСЗ у повній відповідності з вимогами GMP. Забезпечення якості РСЗ базується на концепції невизначеності. На основі теоретичної бази атестації СЗ (розділи 2-5) розроблені, апробовані й упроваджені процедури атестації і КЯ РСЗ, система документації та інші необхідні елементи.

Розроблена система враховує специфіку атестації РСЗ – виконання аналізу на межі можливостей використовуваних методів аналізу. При атестації РСЗ проводять оптимізацію пробопідготовки і кількості паралельних вимірювань, використовують об'єднання вибірок для зменшення оцінки невизначеності, аналізують паралельні зразки для підтвердження якості результатів і максимально використовується метрологічний КЯ результатів.

Запропоновані метрологічно обґрунтовані рішення для атестації РСЗ із широкою сферою застосування. При проведенні атестації РСЗ для кількісних випробувань, призначених для використання в декількох аналітичних випробуваннях із різними умовами, можна розробити єдину методику атестації. РСЗ можна атестувати в єдиних умовах, якщо прогнозована різниця між атестованими значеннями РСЗ ($X_{РСЗ}$), які будуть одержані в різних умовах, не перевищуватиме припустимого значення $\max\Delta_{РСЗ}$. РСЗ, що використовуються в різних умовах для хроматографічних методів, можуть бути атестовані в однакових умовах, якщо всі методики, де використовуються РСЗ, селективні (валідовані для певного профілю домішок). Для РСЗ, що використовуються в різних умовах для спектроскопічного методу (хоча б для однієї методики МКЯ), оцінюють потенціальний вплив домішок. Максимально припустимий вміст суми домішок відповідно до специфікацій або фактичний вміст суми технологічних домішок (при відсутності домішок – продуктів деградації) має бути не більше, ніж $\max\Delta_{РСЗ}$. Для чистоти вихідного матеріалу можуть бути встановлені більш жорсткі вимоги, якщо це робить можливою атестацію в одних умовах. Де це неможливо, до методики атестації включають декілька процедур атестації РСЗ у різних умовах використання РСЗ.

Розроблені різні схеми атестації РСЗ, що враховують необхідність перевірки однорідності:

A. Встановлення атестованого значення (2 розчини РСЗ і 2 розчини ФСЗ).

B. Встановлення атестованого значення та подальша перевірка однорідності РСЗ (не менше 5 розчинів РСЗ). Для перевірки однорідності може бути застосований інший метод аналізу (наприклад, спектрофотометрія замість хроматографії), у цьому випадку вибір методу перевірки однорідності має бути обґрунтованим.

C. Одночасне встановлення атестованого значення та перевірка однорідності РСЗ (2 розчини ФСЗ і не менше 5 розчинів РСЗ).

Для Схеми А використовують такий метрологічний контроль:

– перевірка однорідності вибірок для кожного із випробовуваних розчинів;

– перевірка значущості відмінності дисперсій усіх вибірок, що об’єднуються;

– перевірка значущості відмінності середніх значень для 2 розчинів РСЗ і 2 розчинів ФСЗ;

– перевірка відсутності дрейфу (статистично значущої монотонної зміни аналітичного відгуку з часом).

Порівнюють два середніх нормалізованих значення результатів аналізу відповідного розчину (R_1 та R_2) з урахуванням усередненої для всіх розчинів дисперсії (RSD^2_p) та прогнозованої невизначеності пробопідготовки ($\Delta_{Пр}$). Неконтрольована похибка відсутня, якщо для відповідних двох пар розчинів значущо не відрізняються середні нормалізовані значення (18):

$$2\bullet\frac{|R_1-R_2|}{R_1+R_2}\bullet 100\% \le \sqrt{2\bullet\left(\frac{RSD_P^2}{n}\bullet t^2(\nu;95\%)+\Delta^2_{Пр_j}\right)};\ \nu=\sum_m n-m, \qquad (18)$$

де R_1, R_2 – нормалізоване середнє значення вимірювань для пари розчинів $СЗ_1$ та $СЗ_2$ або $РСЗ_1$ та $РСЗ_2$, відповідно; RSD^2_p – усереднена дисперсія вимірювань для всіх

розчинів; m - число розчинів, для яких розраховано RSD^2_p; t – однобічний коефіцієнт Стьюдента для рівня надійності 95 %.

При перевірці однорідності:

Розраховують відносне стандартне відхилення (RSD_{Unif}), одержане для результатів визначення вмісту для одиниці упаковки РСЗ, у відсотках, за формулою (19):

$$RSD_{Unif} = \sqrt{\frac{\sum_i D^2_{PC3,i}}{n-1}} . \qquad (19)$$

Розраховують відносний довірчий інтервал (Δ_{Unif}), у відсотках (20):

$$\Delta_{Unif} = RSD_{Unif} \bullet t(95\%;(n-1)) , \qquad (20)$$

де $t(95\%;(n-1))$ – однобічний коефіцієнт Стьюдента для рівня довірчої ймовірності 95% та числа ступенів свободи $n-1$.

Проводять статистичний КЯ одержаних результатів:

- перевірка однорідності вибірок для кожного з розчинів, що випробовувався;
- перевірка значущості відмінності дисперсій усіх вибірок, що об’єднуються;
- перевірка відсутності дрейфу;
- для розчинів ФСЗ перевірка значущості відмінності середніх значень.

Реалізація системи РСЗ продемонстрована на прикладі атестації РСЗ гідрохлортиазиду. Призначення РСЗ гідрохлортиазиду і вимоги до maxΔ_{PC3} наведені в табл. 7. Результати атестації РСЗ гідрохлортиазиду наведені в табл. 8 і на рис. 3.

Таблиця 7

Призначення РСЗ гідрохлортіазиду і вимоги до maxΔ_{PC3}

Показник якості	maxΔ_{As} %	maxΔ_{PC3} %
«Розчинення», РХ	3,0	0,96
Супутні домішки, РХ	5,0	1,6
Кількісне визначення (ГЛЗ), РХ*	1,6	0,5
«Однорідність», РХ	3,0	0,96

*Найбільш жорстка вимога.

Таблиця 8

Результати атестації РСЗ гідрохлортіазиду

Критерії прийнятності	Вимоги	Отримане значення
Невизначеність пробопідготовки $\Delta_{Пр}$, %	0,16	0,09
Об'єднане відносне стандартне відхилення аналітичного сигналу (RSD_p), %	0,64	0,39
Однорідність вибірок, %	≤1,44	0,71
Рівність дисперсій всіх поєднуваних вибірок, %	≤ 0,63	0,40
Різниця середніх значень для розчинів, %	≤ 0,45	ФСЗ: 0,44 РСЗ: 0,40
Невизначеність атестованого значення вмісту РСЗ (Δ_{PC3}), %	≤ 0,5	0,32

Розроблена система РСЗ упроваджена на 14 фармацевтичних підприємствах України.

Узагальнена інформація щодо атестації деяких РСЗ наведена в табл. 9.

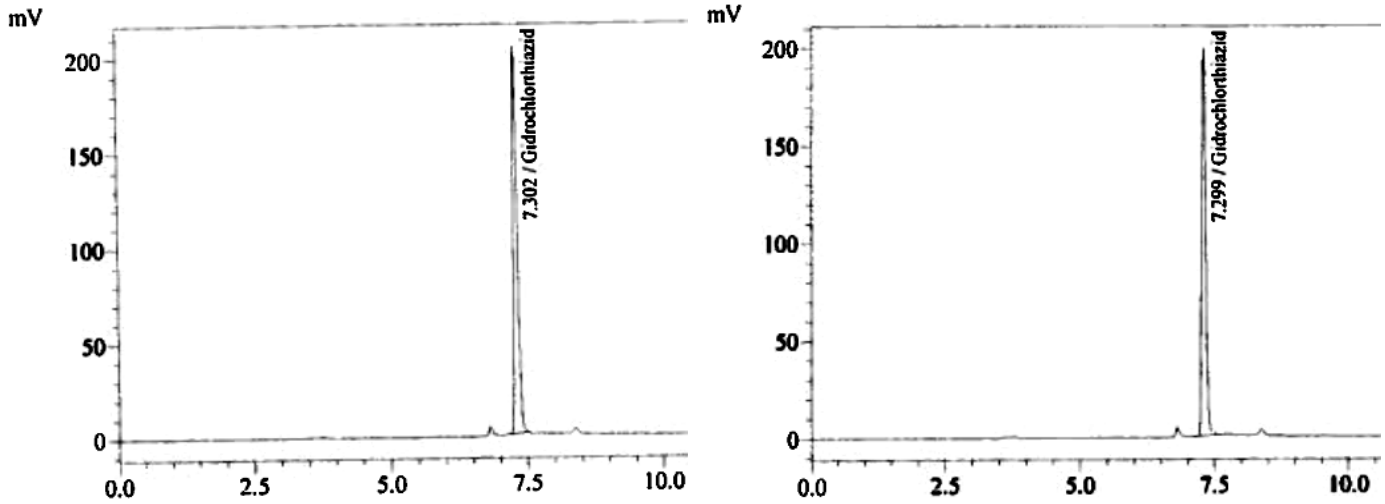

Рис. 3. Хроматограми, одержані при атестації РСЗ гідрохлортіазиду. Хроматограма розчину ФСЗ ліворуч; хроматограма розчину РСЗ праворуч.

Таблиця 9

Узагальнена інформація щодо атестації деяких РСЗ

Підприємство	РСЗ	Метод
ТОВ «Здоров'я народу»	Метамізол натрію моногідрат	Абсорбційна СФ в УФ
	Парацетамол	
	Аденозин – 5 – трифосфорної кислоти динатрієва сіль	РХ
ПАТ «Монфарм»	Хлорамфенікол	РХ та абсорбційна СФ в УФ
	Папаверину гідрохлорид	РХ та абсорбційна СФ в УФ
	Метамізол натрію моногідрат	Абсорбційна СФ в УФ
ТОВ «Валартин Фарма»	Піридоксину гідрохлорид	РХ
	Рибавірин	РХ
	Пуерарії екстракт сухий	РХ
ТОВ «Юрія-Фарм»	Глюкоза моногідрат	Поляриметрія
	Ізоніазид	РХ
	Етамбутолу гідрохлорид	Абсорбційна СФ у видимій області
ВАТ «Фітофарм»	Гесперидин	РХ
	Левоментол	Абсорбційна СФ у видимій області
	Хондроїтин сульфат натрію	РХ та абсорбційна СФ у видимій області

Розділ 7. Створення системи ФСЗ ДФУ в Україні. Розроблена і реалізована *національна концепція ФСЗ ДФУ*. Оцінка невизначеності для метрологічних характеристик ФСЗ є обов'язковою базою метрологічного забезпечення їх якості. ФСЗ ДФУ мають статус галузевих СЗ, тобто атестуються, уводяться в дію фармакопейним органом України. ФСЗ ДФУ атестують для аналізу субстанцій/ГЛЗ, які можуть бути на певний момент не описані в ДФУ, що максимально забезпечує

потреби в офіційних СЗ для КЯ ЛЗ при їх обігу. Передбачуване застосування ФСЗ ДФУ контролюється при отриманні кожної заявки від Замовника й указується в супровідній документації. У разі потреби проводиться доатестація ФСЗ ДФУ для нового застосування. Як для Certified Reference Material відповідно до вимог ISO, для ФСЗ ДФУ надається сертифікат, в якому повідомляються деталі атестації, максимально припустиме значення невизначеності і спосіб її оцінки, критерії коректного використання ФСЗ ДФУ, термін придатності. Тобто ФСЗ ДФУ поєднують для користувача переваги офіційних для фармації СЗ (ФСЗ) і переваги Certified Reference Material.

Розроблені й упроваджені система якості для атестації, уведення в дію і розповсюдження ФСЗ ДФУ. Процедури атестації і КЯ ФСЗ ДФУ базуються на теоретичній базі, розробка якої описана в розд. 2-5.

Реалізація системи ФСЗ ДФУ продемонстрована на прикладі атестації ФСЗ ДФУ аміодарону домішки D і ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату.

Атестація ФСЗ ДФУ аміодарону домішки D ((2-бутилбензофуран-3-іл) (4-гідрокси-3,5-дийодофеніл) метанон).

Підтвердження структури синтезованої домішки та випробування на чистоту. Ідентичність зразка домішки D субстанції аміодарону гідрохлориду встановлювали на основі наявності у спектрах ^{1}H та ^{13}C сигналів, характерних для цієї сполуки. Структурна інтерпретація спектрів ^{13}C та ^{1}H, проведена з урахуванням значень хімічних зсувів сигналів, їх мультиплетності і даних 2D експериментів (^{1}H-^{1}H COSY, HSQC, HMBC), наведена в табл. 10 (нумерація структурних фрагментів відповідає нумерації на рис. 4). Результати випробувань методом ЯМР-спектроскопії наведені в табл. 10 і на рис. 5, 6.

Таблиця 10

Спектральні характеристики аміодарону домішки D (ДМСО, калібрування під розчинник (δ = 2,5 м.д. (^{1}H) та 39,52 (^{13}C)), c = 26,6 мг/мл, t = 27 ^{0}C)

№ атома	Хімічний зсув		№ атома	Хімічний зсув	
	^{1}H	^{13}C		^{1}H	^{13}C
2		164,38	9	1,70 т.т. (J = 7,6; 7.6)	29,98
3		115,66	10	1,28 т.к. (J = 7,6; 7.6)	22,44
3a		126,36	11	0,85 т. (J = 7,6)	13,45
4	7,44 д. (J = 7,6)	120,75	3-C=O		186,92
5	7,28 т. (J = 7,6)	123,77	1’		133,94
6	7,35 д.д. (J = 8,2; 7,6)	124,74	2’, 6’	8,20 с	140,06
7	7,64 д. (J = 8,2)	111,16	3’, 5’		86,11
7a		153,05	4’		159,68
8	2,77 т. (J = 7,6)	27,39			

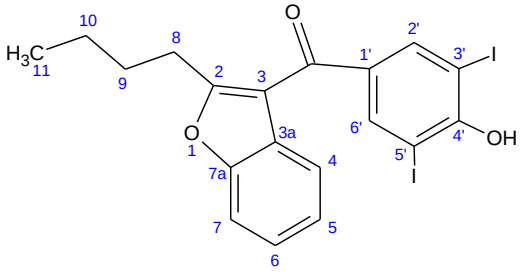

Рис. 4. Нумерація атомів у молекулі аміодарону домішки D.

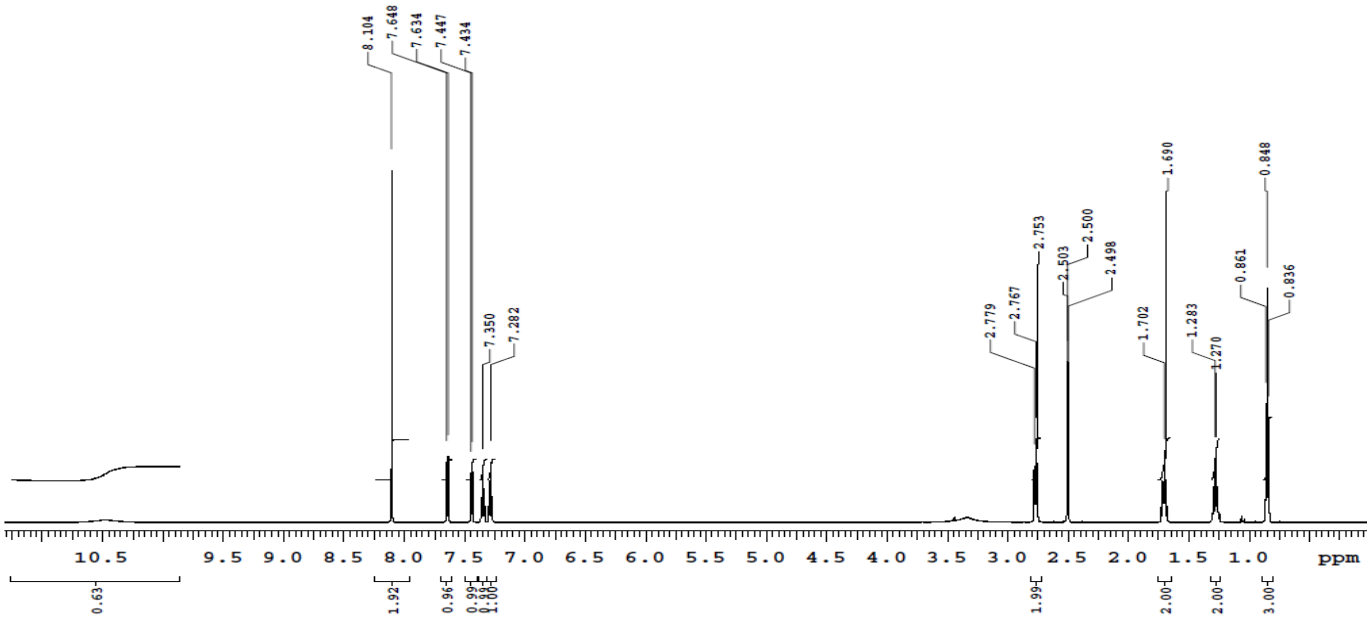

Рис. 5. ЯМР спектр ^{1}H матеріалу для атестації аміодарону домішки D.

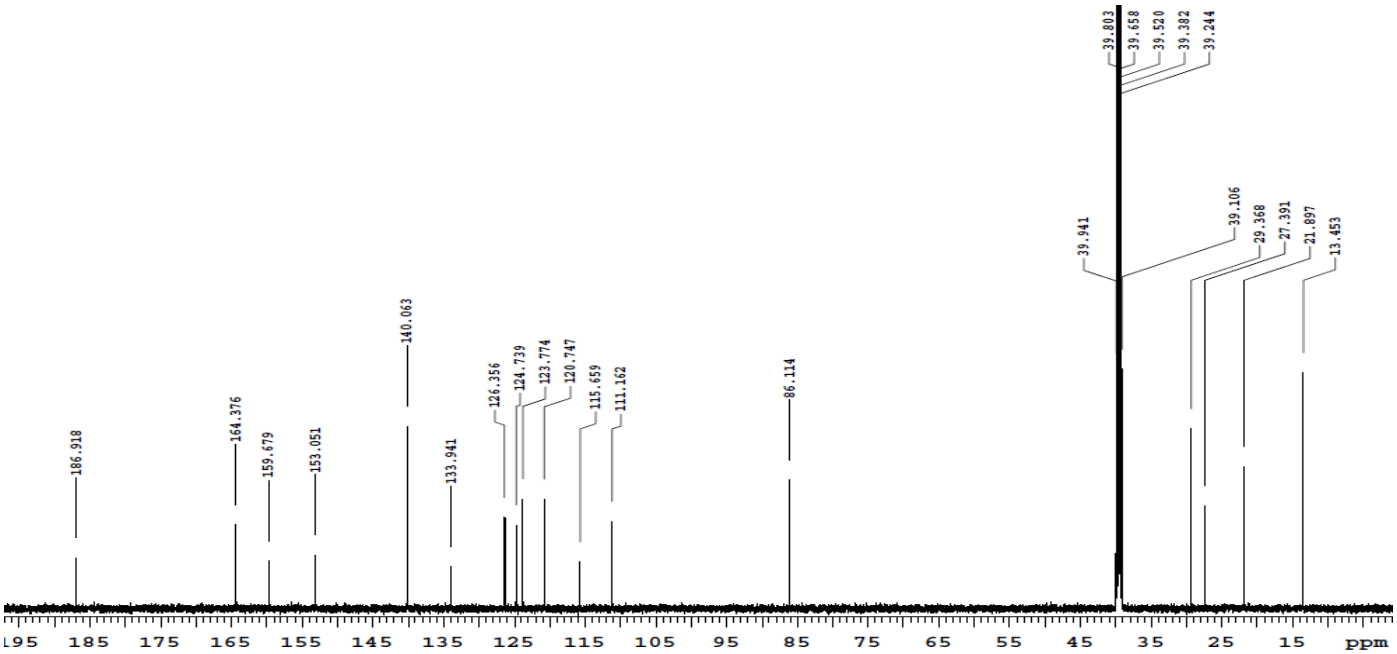

Рис. 6. ЯМР спектр ^{13}C матеріалу для атестації аміодарону домішки D.

У спектрі ЯМР ^{1}H присутні додаткові сигнали:

– етанолу (δ = 1,06 м.д., т, CH_3, S' = 2,15.10^{-2}; δ = 3,44 м.д., к, CH_2.);

– аміодарону гідрохлориду (δ = 3,77 м.д., т, CH_2; δ = 4,33 м.д., т, CH_2 S' = 0,8.10-3; 8,20 м.д., с, 2CH).

Зразок був досліджений на рідинному хромато-мас-спектрометрі Agilent 1260/6130, іонне джерело ESI. Мас-спектр основної речовини підтверджує хімічну структуру домішки D. У мас-спектрі домішки (Rt = 5,63 хв) спостерігається квазімолекулярний іон $[M+H]^+$ m/z = 646. Час утримування та молекулярна маса відповідають Аміодарону.

Проведення атестації ФСЗ ДФУ аміодарону домішки D. ФСЗ ДФУ аміодарону домішка D призначений для використання у випробуванні «Супутні домішки» методом РХ. Для атестації ФСЗ необхідно проведення випробувань «Підтвердження ідентичності» та «Хроматографічна чистота».

Підтвердження хроматографічної чистоти було проведено за монографією ЄФ 7.8 01/2008:0803 на субстанцію аміодарону гідрохлорид. Знайдена сума домішок методом РХ 0,04%.

У зведеній табл. 11 наведені висновки за результатами випробувань на чистоту аміодарону домішки D.

Висновок: Відповідно до розробленої концепції ФСЗ ДФУ аміодарону домішка D атестований для використаннях у випробовуванні на кількісний вміст домішок (вміст основної речовини ФСЗ перевищує 98%). Реальний вміст діючої речовини не вказують, при розрахунках він вважається рівним 100%. Невизначеність X_{Att} не перевищує 2%.

Таблиця 11

Результати аналізу аміодарону домішки D

Показники якості	Результати випробування
Ідентифікація	Підтвердження методами ЯМР/РХ-МС
Супровідні домішки, % до осн. речовини Аміодарону гідрохлорид	0,0998 %
Залишкові органічні розчинники, ppm – етанол	1812 ppm

Атестація ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату.

ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату призначений для використання у випробуваннях «Ідентифікація» методами абсорбційної СФ в ІЧ області, ТШХ і РХ; «Супровідні домішки» методом ТШХ; «Кількісне визначення» методом РХ. Як матеріал для атестації використовують зареєстровану в Україні субстанцію. ІЧ–спектр матеріалу для атестації наведений на рис. 7.

Вимоги до невизначеності атестованого значення. Найбільш жорсткі вимоги до $\max\Delta_{RS}$ пов'язані з випробовуванням на кількісне визначення для ГЛЗ із допусками вмісту ±5%. Відповідно до доказового підходу:

$$\max\Delta_{RS} = 0{,}32 \bullet 0{,}32 \bullet B = 0{,}1024 \bullet 5\% = 0{,}5\%.$$

Нижче наведений результат випробувань, які використовують для встановлення вмісту еконазолу нітрату у ФСЗ ДФУ методом віднімання вмісту домішок (табл. 12).

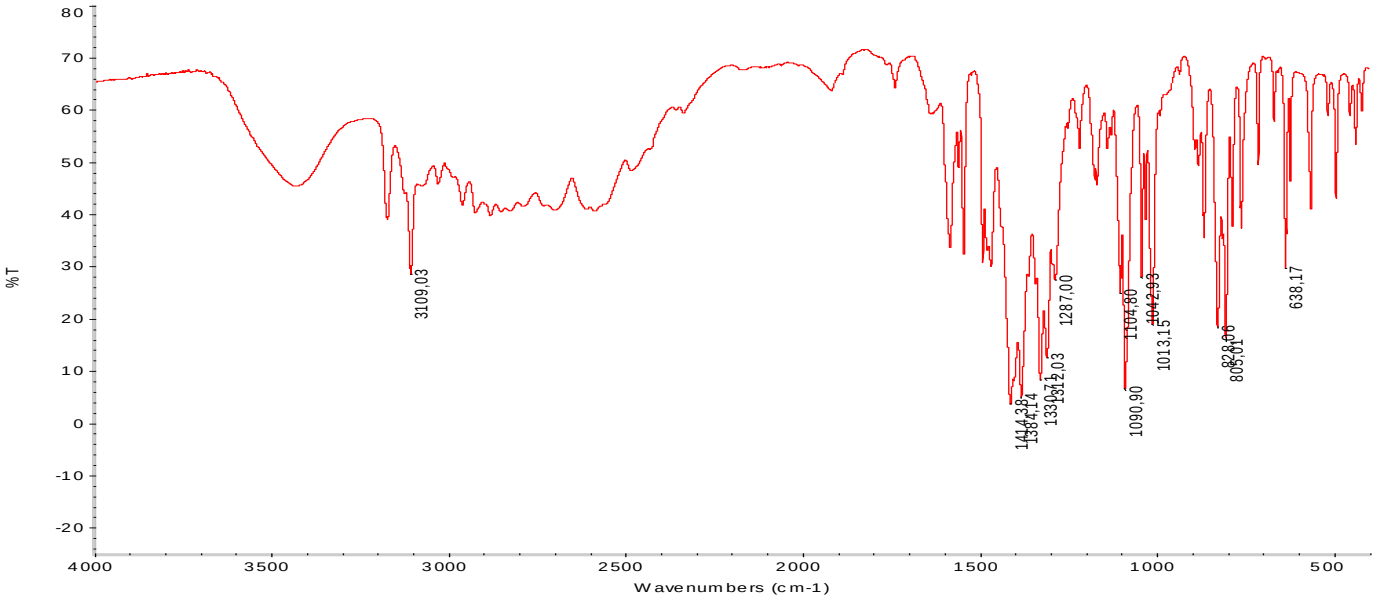

Рис. 7. ІЧ-спектр матеріалу для атестації ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату.

Таблиця 12

Результати визначення летких і супровідних домішок у ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату

Назва випробування	**Результат, %**
VOL	0,21±0,09
$\Sigma X_{imp,i}$ (методом РХ)	Нижче межі визначення
ROI	Незначуща

$$X_{Att} = 100\% - VOL - \sum X_{imp,i} - ROI\,;\; X_{Att} = 100\% - 0{,}21\% - 0 = 99{,}79\%\,;\; \Delta_{Att} = 0{,}1\%.$$

Кількісний вміст еконазолу нітрату підтверджували методом потенціометричного титрування. Результати титрування «як є» (без перерахунку на суху речовину): $X_{Att} = 99{,}86\% \pm 0{,}49\%$. Різниця між методами складає 0,09 %.

Висновок: Відповідно до розробленої концепції ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату атестований для використаннях у випробуваннях на кількісне визначення методом РХ. X_{Att} підтверджено прямим методом (потенціометричне титрування). X_{Att} = 99.8% (як для більш об'єктивного методу віднімання знайденого вмісту домішок зі 100%). Невизначеність для результатів обох методів, а також різниця в X_{Att} не перевищує $\max\Delta_{RS}$ = 0,5%. ФСЗ ДФУ еконазолу нітрату придатний для використання в кількісному визначенні для ГЛЗ із допусками вмісту ±5%.

Короткі підсумки створення системи ФСЗ ДФУ. Розвинуті напрямки атестації ФСЗ ДФУ відповідають усім основним потребам сучасної фармації як у сфері КЯ ЛЗ, так і у сфері забезпечення якості результатів аналізу, а саме:

– для ідентифікації в субстанціях та ГЛЗ (для хімічних, мікробіологічних і біологічних методів аналізу), для кількісного визначення та ін. показників якості;

– для інших кількісних показників (наприклад, визначення молекулярно-масового розподілу декстранів);

– як домішки діючих речовин (в основному спеціально синтезовані) (понад 100 найменувань);

– як рослинні маркери, напрацьовані з рослинної сировини;

– як стандартизовані рослинні екстракти (дозволяють використовувати один сумарний ФСЗ замість декількох індивідуальних рослинних маркерів);

– для заміщення ФСЗ, які використовувалися в СРСР (в основному рослинні);

– для перевірки придатності аналітичної системи;

– для іншого застосування, не описаного в ДФУ (наприклад, стандарт каламутності, використовуваний для візуальної оцінки каламутності бактерійних суспензій);

– для кваліфікації аналітичного устаткування (фармацевтичні випробування/тести);

– для внутрішньолабораторного КЯ результатів вимірювання;

– для валідації аналітичних методик – методів аналізу, які не передбачають використання СЗ у рутинному аналізі.

Нижче наведена узагальнена інформація про атестацію деяких ФСЗ ДФУ, призначених для застосування в різних випробуваннях із використанням різних методів аналізу (табл. 13).

Таблиця 13

Узагальнена інформація про атестацію деяких ФСЗ ДФУ, призначених для застосування в різних випробуваннях різними методами аналізу

Назва ФСЗ ДФУ, призначення, maxΔ_{RS} %, Δ_{RS}% факт	**Випробування та результати**
1	2
Мепіраміну малеат **maxΔ_{RS} = 0,5 %,** **Δ_{RS} факт = 0,15 %** «Ідентифікація» методами ІЧ, СФ, ТШХ; «Розчинення» методом РХ; «Однорідність» методом РХ; «Кількісне визначення» методом РХ	Гігроскопічність Ідентифікація методом СФ ІЧ – позитивний Оптичне поглинання – позитивно Супровідні домішки методом ТШХ – не виявлено ROI, VOL – незначуще Кількісне визначення методом потенціометричного титрування – 100,2%
Гексетидин **max ΔRS = 0,5 %,** **ΔRS факт = 0,10 %** «Ідентифікація» методами ІЧ, РХ, ТШХ; «Супутні домішки» методами ТШХ, РХ; «Кількісне визначення» методом РХ	Гігроскопічність Ідентифікація методом ЯМР-спектрометрії – позитивний Визначення води напівмікрометодом – 4,3% Супровідні домішки РХ – 0,2% ЗОР методом ГХ – незначуще Оцтова кислота – менше 25ppm ROI – незначуще Кількісне визначення методом?– 95,9%

Продовж. табл. 13

1	2
Німесулід **MaxΔ_{RS} = 0,50%** **Факт Δ_{RS} = 0,05%** «Ідентифікація» методами абсорбційної СФ в ІЧ області, абсорбційної спектрофотометрії в УФ та видимій області, ТШХ та РХ; «Супровідні домішки» методом РХ; «Перевірка придатності хроматографічної системи» методом РХ; «Розчинення» методом однохвильової абсорбційної СФ в УФ та видимій області; «Кількісне визначення» методами РХ та однохвильової абсорбційної СФ в УФ та видимій області	Гігроскопічність Ідентифікація методом СФ ІЧ – відповідає Втрата в масі при висушуванні – 0,062% Супровідні домішки методом РХ – 0,11% ROI, ЗОР - незначуще Кількісне визначення, методом потенціометричного титрування – 99,9%
Метамізолу натрієва сіль **MaxΔ_{RS} = 0,50%** **Факт Δ_{RS} = 0,03%** «Ідентифікація» методами абсорбційної СФ в ІЧ області та в УФ області, ТШХ; «Супровідні домішки» методами ТШХ та РХ; «Розчинення» методом однохвильової абсорбційної СФ в УФ області; «Перевірка придатності системи» методом РХ; «Кількісне визначення» методом однохвильової абсорбційної СФ в УФ області	Гігроскопічність Ідентифікація методом СФ ІЧ – відповідає Втрата в масі при висушуванні – 5,2% Супровідні домішки, методом РХ – 0,15% ROI, VOL – незначуще Кількісне визначення методом кислотно-основного титрування – 99,4%
Метронідазолу бензоат **MaxΔ_{RS} = 0,50%** **Факт Δ_{RS} = 0,10%** «Ідентифікація» методами абсорбційної СФ в ІЧ, ТШХ та РХ; «Органічні домішки» методом ТШХ; «2-метил-5-нітроімідазол» методом ТШХ; «Кількісне визначення» методом РХ	Гігроскопічність Ідентифікація: методом СФ ІЧ – відповідає Втрата в масі при висушуванні – 0,063% Органічні домішки, методом ТШХ – не виявлено ROI, ЗОР – незначуще Кількісне визначення методом потенціометричного титрування – 100,1%

Розроблена теоретична база була успішно застосована для атестації ТЗ для ППТ лабораторій КЯ ЛЗ «Фарматест», починаючи з 2003 р. Раунди ППТ проводяться щорічно, зазвичай беруть учать понад 50 лабораторій України, ближнього і дальнього зарубіжжя. Під керівництвом автора були атестовані тестові зразки для 3-7 раундів ППТ для використання у більш ніж 10 різних методах аналізу/показниках якості ЛЗ (табл. 14).

Із використанням розроблених принципів було атестовано понад 10 ФСЗ, призначених для валідації методик, зокрема таких, що не потребують використання СЗ у рутинних аналізах (титрування, рефрактометрія, поляриметрія).

Узагальнена інформація щодо атестації деяких ФСЗ ДФУ, призначених для проведення валідації методик і випробовувань, наведена в табл. 15.

Також розроблена теоретична база була успішно застосована для атестації СЗ, призначених для внутрішньолабораторного КЯ роботи аналітичної системи

загалом (стан аналітичного обладнання та мірного посуду, кваліфікація персоналу, якість реактивів та ін.) – для методів СФ, ТШХ, титрування.

На цей час номенклатура ФСЗ ДФУ складає більше 600 найменувань. Номенклатура ФСЗ максимально відповідає завданням КЯ ЛЗ, які знаходяться в обігу в Україні і країнах ближнього зарубіжжя. ФСЗ ДФУ зараз, крім України, використовуються в багатьох країнах ближнього зарубіжжя виробниками ЛЗ, контрольними лабораторіями, а також у передреєстраційних дослідженнях.

Таблиця 14

Узагальнена інформація про атестацію деяких ТЗ, призначених для застосування в різних раундах ППТ «Фарматест»

Завдання	Метод аналізу
2003 р. РАУНД 3 (кількість лабораторій-учасників 56)	
Визначення саліцилової кислоти в спиртовому розчині	СФ
Визначення вмісту лінкоміцину в субстанції	РХ
Визначення вмісту кальцію глюконату в таблетках (два ТЗ)	Титрування
2004 р. РАУНД 4 (кількість лабораторій-учасників 59)	
Визначення вмісту глюкози в розчині (два ТЗ)	Рефрактометрія
Визначення pH розчину глюкози (два ТЗ)	Потенціометричне визначення pH
Тест «Розчинення» для таблеток парацетамолу	Тест «Розчинення»
Визначення вмісту парацетамолу та розпадання таблеток парацетамолу	Розпадання таблеток та капсул
2005 р. РАУНД 5 (кількість лабораторій-учасників 57)	
Визначення pH субстанції цефалексину	Потенціометричне визначення pH
Визначення питомого оптичного обертання цефалексину	Поляриметрія
Визначення оптичної густини і питомого показника поглинання цефалексину	СФ
Визначення води в субстанції цефалексину	Напівмікрометод визначення води
2006 р. РАУНД 6 (кількість лабораторій-учасників 59)	
Визначення вмісту натрію ацетату	Титрування в неводних розчинниках
Визначення втрати в масі при висушуванні в Na ацетаті	Втрата в масі при висушуванні
Визначення вмісту супровідні домішки в ТЗ декспантенолу	ТШХ
2008-2009 рр. РАУНД 7 (кількість лабораторій-учасників 59)	
Визначення вмісту парацетамолу в субстанції	СФ
Визначення домішок малеїнової кислоти	ТШХ
Визначення температури плавлення субстанції	Капілярний метод

Створена система ФСЗ ДФУ забезпечує сучасний рівень КЯ ЛЗ в Україні. Україна є на сьогодні єдиною з країн ближнього зарубіжжя, в якій всі види фармацевтичних СЗ представлені національними СЗ.

Таблиця 15

Узагальнена інформація про атестацію деяких ФСЗ ДФУ, призначених для проведення валідації різних методик та випробовувань

Назва ФСЗ ДФУ, MaxΔ_{RS}%, Δ_{RS}% факт	Призначення ФСЗ ДФУ	Випробовування та результати
L – яблучна кислота maxΔ_{RS} = 0,5 %, Δ_{RS} факт = 0,10 %	Валідація методик «Ідентифікація» та «Кількісне визначення» методом РХ	Втрата в масі при висушуванні – 0,3 % Однорідність методом визначення води Δ_{Unif} = 0,07 % Питоме оптичне обертання – 2,06 Супровідні домішки методом РХ – 0,03% Кількісне визначення методом потенціометричного титрування – 100,5%
Натрію ацетат тригідрат maxΔ_{RS} = 0,5% Δ_{RS} факт = 0,04%	Валідація методики «Кількісне визначення» методом титрування	Втрата в масі при висушуванні – 39,74% Супровідні домішки РХ – 0,15% Кількісне визначення, методом індикаторного титрування – 60,33%
Гідроксиетилкрохмаль 130/0,4 maxΔ_{RS} = 0,5 %, Δ_{RS} факт = 0,14 %	Валідація методики «Кількісне визначення» методом поляриметрії	Ідентифікація методом СФ ІЧ – позитивний Втрата в масі при висушувані – 4,6% Однорідність методом втрата в масі при висушуванні Δ_{Unif} = 0,03 % Натрію хлорид – 0,03 % Кількісне визначення методом поляриметрії – 100,1 %
Кислота амінокапронова maxΔ_{RS} = 0,31 %, Δ_{RS} факт = 0,10 %	Валідація методики «Кількісне визначення» методом рефрактометрії та алкаліметричного титрування	Втрата в масі при висушуванні – 0,1 % Речовини, виявлювані нінгідрином методом ТШХ – не виявлені ROI, ЗОР – незначуще Кількісне визначення методом титрування – 99,9 %
Магнію хлориду гексагідрату розчин maxΔ_{RS} = 0,5 %, Δ_{RS} факт = 0,16 %	Валідація методики «Кількісне визначення» методом атомно-абсорбційної спектрометрії	Кількісне визначення методом комплексонометричного титрування – 100,3 % від номінального значення концентрації розчину

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне та експериментальне вирішення наукової проблеми створення теоретично обґрунтованої системи фармацевтичних СЗ в Україні, насамперед ФСЗ ДФУ і РСЗ фармацевтичних підприємств.

1. Обґрунтовано, що система фармацевтичних СЗ має бути дворівневою. Визначено статус ФСЗ і РСЗ як СЗ галузевих та СЗ підприємства відповідно.

2. Розроблена теоретична база атестації фармацевтичних СЗ, яка спирається на концепцію невизначеності, використовує лінійну модель її оцінки і характеризується систематичним використанням сформульованого і теоретично обґрунтованого принципу незначущості. Це дозволило вирішити всі основні теоретичні проблеми атестації та метрологічного забезпечення якості СЗ.

3. Уперше розроблена уніфікована процедура атестації фармацевтичних СЗ, що застосовна до фармацевтичних СЗ, які використовуються для КЯ ЛЗ (ФСЗ і РСЗ) і забезпечення якості результатів аналізу (при валідації методик і проведенні ППТ).

4. Уперше обґрунтована метрологічна модель вимог до невизначеності, що базується на використанні принципу незначущості, для первинних і вторинних СЗ, а також для складових невизначеності, пов'язаних з присвоєнням атестованого значення СЗ, однорідністю СЗ і встановленням терміну придатності.

5. Уперше розроблено процедуру та критерії атестації СЗ, призначених для використання в методиках СФ аналізу для фармацевтичних випробувань.

6. Уперше створена національна система ФСЗ ДФУ. Розроблені та уведені в дію процедури атестації ФСЗ ДФУ, система документації, КЯ результатів аналізу та інші елементи, необхідні для здійснення атестації, уведення в дію та розповсюдження ФСЗ ДФУ.

7. Базуючись на розроблених підходах, під керівництвом автора атестовано понад 600 різних найменувань ФСЗ ДФУ. Сфера застосування різних ФСЗ ДФУ охоплює всі головні завдання фармацевтичного аналізу – для КЯ ЛЗ і КЯ результатів аналізу (ФСЗ для валідації методик і ТЗ для ППТ). ФСЗ ДФУ широко використовуються в Україні й у країнах ближнього зарубіжжя виробниками ЛЗ, контрольними лабораторіями, а також у передреєстраційних дослідженнях.

8. Уперше розроблено й упроваджено на 14 фармацевтичних підприємствах України систему РСЗ, яка спирається на розроблену теоретичну базу та повністю відповідає вимогам GMP.

9. Розроблена теоретична база дозволила вперше обґрунтувати й увести до ДФУ вимоги до максимально припустимої невизначеності всіх основних фармакопейних випробувань і методів аналізу: кількісне визначення, «Однорідність», «Розчинення»; супровідні домішки, ЗОР.

10. Розроблена і запроваджена дворівнева система СЗ в Україні повністю відповідає вимогам GMP і практиці провідних фармакопей, а також максимально відповідає потребам України. Вона забезпечує сучасний рівень КЯ ЛЗ в Україні і його незалежність від зовнішньоекономічних і політичних факторів.

11. Розроблено й уведено в дію комплекс загальних статей ДФУ (7) та монографій (4), зокрема: «Валідація аналітичних методик і випробувань», «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту», «5.12. Стандартні зразки^{N}» та ін.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Леонтьев, Д. А. Фармацевтические стандартные образцы // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества ЛС / под ред. чл.-корр. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Х. : Изд-во НТМТ, 2012. – Т. 3. – С. 1064–1118.

2. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / разраб. : В. Л. Багирова, А. И. Гризодуб, Т. Х. Чибиляев, Д. А. Леонтьев, Н. А. Ляпунов, И. С. Терно, И. А. Касакин; под ред. Н. В. Юргеля, А. Л. Младенцева, А. В. Бурдейна [и др.]; рекомендовано к использованию Федеральной службой по надзору в сфере

здравоохранения и социального развития. – М.: 2007. – 57 с. *(Особистий внесок: проаналізована проблема, участь у написанні розділів)*.

3. Аттестация тестовых образцов раствора глюкозы 5 % для инфузий для количественного определения глюкозы методом рефрактометрии / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Н. Н. Архипова, Н. Н. Зволинская, Т. И. Овчинникова, Н. В. Денисенко // Фармаком. – 2005. – № 1. – С. 28-38. *(Особистий внесок: розроблено теоретичні підходи до атестації ТЗ і здійснено керівництво атестацією)*.

4. Аттестация промышленных таблеток в качестве тестовых образцов для профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств: учет факторов неоднородности / А. И. Гризодуб, Н. Н. Архипова, Г. И. Кожушко, Н. Н. Зволинская, Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2003. – № 3. – С. 5-19 *(Особистий внесок: розроблено теоретичні підходи до атестації ТЗ і здійснено керівництво атестацією)*.

5. Створення національної системи професійного тестування лабораторій контролю якості лікарських засобів: Атестація зразків для кількісного спектрофотометричного аналізу / Н. М. Зволінська, Н. М. Архіпова, Д. А. Леонтьєв, О. І. Гризодуб // Фармац. журн. – 2003. – № 6. – С. 7-21 *(Особистий внесок: розроблено теоретичні підходи до атестації ТЗ і здійснено керівництво атестацією)*.

6. Леонтьев, Д. А. Система фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины: концепция создания и текущее состояние / Д. А. Леонтьев, Н. В. Воловик, А. И. Гризодуб // Фармацевтический журнал (Узбекистан). – 2015. – № 2 – С. 29-37 *(Особистий внесок: проведено аналіз проблеми, формулювання висновків, написана стаття)*.

7. Аттестация стандартных образцов. Сообщение 1. Аттестация вторичных стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств / А. И. Гризодуб, М. Г. Левин, Д. А. Леонтьев, Е. В. Вырова, Т. Н. Доценко, В. П. Георгиевский // Фармаком. – 1999. – № 2. – С. 46-51 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему, сплановано експеримент, одержано експериментальні результати, брав участь в аналізі та узагальненні експериментальних даних)*.

8. Леонтьев, Д. А. К созданию Государственной фармакопеи Украины. К вопросу о валидации аналитических методик / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 1999. – № 6. – С. 56-58.

9. Аттестация стандартных образцов для спектрофотометрического анализа лекарственных средств / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, М. Г. Левин, Т. Н. Доценко // Фізіологічно активні речовини. – 2000. – № 2 (30). – С. 38-44 *(Особистий внесок: одержано експериментальні результати; брав участь в обговоренні результатів та висновків, підготовці статті до друку)*.

10. Гризодуб, А. И. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, М. Г. Левин // Фізіологічно активні речовини. – 2001. – № 1 (31). – С. 32-44 *(Особистий внесок: проведено аналіз проблеми; брав участь в обговоренні результатів та висновків, підготовці статті до друку)*.

11. Гризодуб, А. И. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 3. Выполнение теста «Количественное определение» при одновременном контроле качества нескольких образцов лекарственных средств хроматографическими методами / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2002. – № 4. – С. 6-14 *(Особистий внесок: проведено аналіз проблеми; брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків, підготовці статті до друку)*.
12. Леонтьєв, Д. А. До питання створення системи фармацевтичних стандартних зразків в України / Д. А. Леонтьєв // Фармац. журн. – 2001. – № 5. – С. 28-37.
13. Леонтьев, Д. А. Валидация аналитических методик и испытаний. Система Фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2002. – № 1. – С. 36-43.
14. Аттестация фармацевтических стандартных образцов: изучение однородности / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб, М. Г. Левин, Т. Н. Доценко // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 104-116 *(Особистий внесок: проведено аналіз проблеми, одержано експериментальні результати; брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків, підготовці статті до друку)*.
15. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» при серийном контроле качества лекарственных средств. 1. Общая схема эксперимента / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, М. Г. Левин, Н. Н. Асмолова, Е. В. Вырова // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2004. – Том 2, випуск 1 (5). – С. 24-34 *(Особистий внесок: проаналізована проблема; брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків, підготовці статті до друку)*.
16. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» при серийном контроле качества лекарственных средств. 2. Анализ таблеток типа баралгин / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, М. Г. Левин, Н. Н. Асмолова, Е. В. Вырова // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2005. – Том 3, випуск 1 (9). – С. 60-64 *(Особистий внесок: проаналізована проблема; брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків, підготовці статті до друку)*.
17. Леонтьев, Д. А. Проблемы гармонизации системы фармакопейных стандартных образцов в Украине с Европейским сообществом / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Фармация Казахстана. – 2003. – № 4. – С. 27-34 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему; сформульовано висновки, написана стаття)*.
18. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Н. В. Денисенко, Ю. В. Подпружников // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3-17 *(Особистий внесок: сплановано експеримент; брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків, підготовці статті до друку)*.
19. Стандартизованная процедура валидации методик контроля содержания примесей в готовых лекарственных средствах методом жидкостной хроматографи / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Т. Н. Доценко, В. А. Загорий // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 78-94 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему, брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків, підготовці статті до друку)*.

20. Стандартизованная процедура валидации методик контроля остаточных растворителей в лекарственных средствах методом газовой хроматографии / А. И. Гризодуб, И. Г. Губаревич, Т. А. Карпова, Л. Е. Никишина, Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2005. – № 4. – С. 5-21 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему; брав участь в обговоренні результатів та формулюванні висновків)*.
21. Леонтьев, Д. А. Теоретические основы аттестации фармацевтических стандартных образцов в Украине / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 44-51.
22. Леонтьев, Д. А. Метрологический контроль качества результатов измерений / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 16-25 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему; сформульовано загальні висновки та рекомендації, написано статтю)*.
23. К вопросу о валидации аналитических методик и испытаний в Дополнении 2 к Государственной Фармакопее Украины / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб, И. С. Терно, М. В. Дмитриева, Н. Н. Зволинская // Фармаком. – 2007, № 3. – С. 5-8 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему; сформульовано загальні висновки, написано статтю)*.
24. Леонтьев, Д. А. Метрологический контроль результатов анализа: специфика применения концепции неопределенности в фармацевтическом анализе / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2013. – № 4 (5). – С. 68-75 *(Особистий внесок: проаналізована проблема, участь в обговоренні результатів та сформульовано висновки, написано статтю)*.
25. Леонтьев, Д. А. Национальная система фармацевтических стандартных образцов лекарственных средств в Украине / Д. А. Леонтьев // Науковий журн. МОЗ України. – 2013. – № 2 (3). – С. 108-113.
26. Леонтьев, Д. А. Создание национальной системы стандартных образцов лекарственных средств в Украине / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2012. – № 1 / 2. – С. 25-32.
27. Леонтьев, Д. А. Валидация аналитических методик и испытаний и система фармакопейных стандартных образцов в Дополнении 1 к Государственной Фармакопее Украины / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 73-77.
28. Леонтьев, Д. А. Метрологический контроль результатов анализа: требования к максимально допустимой неопределенности для количественного определения и гарантия качества продукции / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2014. – № 3 (8). – С. 10-17 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему; брав участь в обговоренні результатів; сформульовані висновки; написано статтю)*
29. Леонтьев, Д. А. Система фармацевтических стандартных образцов в Украине в условиях GMP / Д. А. Леонтьев // Фармация Казахстана. – 2014. – № 2. – С. 25-29.
30. Леонтьєв, Д. А. Уніфікована процедура атестації фармацевтичних стандартних зразків / Д. А. Леонтьєв, О. І. Гризодуб // Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров’я – К. : Укрмедпатентоінформ МОЗ України. – № 21. – 2014. – С. 7 *(Особистий внесок: проаналізовано проблему; обговоренні результати та сформульовані висновки, написано лист)*.

31. Леонтьев, Д. А. Вопросы создания системы фармацевтических стандартных образцов в Украине / Д. А. Леонтьєв // Вісник фармації. – 2001. – № 3 (27). – С. 75. – (Спецвипуск. Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармацевтичної науки і практики»).
32. Стандартизованная процедура валидации методик контроля содержания примесей в готовых лекарственных средствах методом жидкостной хроматографии / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, В. А. Загорий, Т. Н. Доценко // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України : матеріали VI з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 28-30 вересня 2005. – Х. : Вид-во НФаУ, 2005. – С. 157-158.
33. Леонтьєв, Д. А. Фармацевтичні стандартні взірці в Україні // Міжнародна наук. конф., присвячена 100-річчю створення фармацевтичного факультету Запорізького державного медичного університету «Історія та перспективи розвитку фармацевтичної науки і освіти», м. Запоріжжя, 10-11 березня 2004 р. : тез. доп. – Запоріжжя, 2004. – С. 30-33.
34. Забезпечення якості при атестації фармакопейних стандартних зразків / Д. А. Леонтьєв, Н. В. Денисенко, О. І. Гризодуб, В. В. Долейко // Управління якістю в фармації : матеріали V наук.-практ. конф., м. Харків, 27 трав. 2011 р. / М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т. – Х., 2011. – С. 19.
35. Leontiev D. Development of the National System of Medicine Reference Substances in Ukraine. [Electronic resource] // Pharmaceutical Reference Standards. 11th International Symposium organised by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), 3-4 September 2012. – Strasbourg, France : EDQM, 2012 – P. 47.
36. Развитие системы фармакопейных стандартных образцов – итоги и перспективы / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб, Н. В. Денисенко, Т. Н. Доценко // Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія : тези доп. III Міжнар. наук.-практ. конф. – Х. : Вид-во НФаУ, 2003. – Ч. І. – С. 183.
37. Леонтьев, Д. А. Опыт создания национальной системы фармацевтических стандартных образцов лекарственных средств в Украине // Сесія наукової ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія». – Дніпропетровськ, 2004. – С. 34-35.
38. Леонтьев, Д. А. Проблемы аттестации фармацевтических стандартных образцов лекарственных средств в Украине // Перспективы создания новых лекарственных средств в Украине : материалы IV науч.-практ. семинара, Гурзуф, 2-4 июня 2004. – Гурзуф, 2004. – С. 27-29.
39. Використання фармацевтичних стандартних зразків відповідно до вимог GMP / Д. А. Леонтьєв, О. І. Гризодуб, С. О. Чікалова, Ю. В. Підпружников // II Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес «Ліки та життя» : тези доп., м. Київ, 15-18 лют. 2005 р., м. Київ. – К., 2005. – С. 140.
40. Леонтьєв, Д. А. Створення національної системи стандартних зразків лікарських засобів в Україні: підсумки і перспективи // Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес «Ліки та життя» : тези доп., м. Київ, 16-19 лют. 2004 р. – К., 2005. – С. 52-53.

41. Леонтьев, Д. А. Создание национальной системы стандартных образцов лекарственных средств в Украине / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Річна сесія Наукової ради з проблеми «Аналітична хімія» НАН України, м. Гурзуф, 3-10 черв. 2012 р. – С. 27-29.
42. Валидация непарофазных газохроматических методик определения остаточных растворителей в лекарственных средствах / И. Г. Губаревич, А. И. Гризодуб, Т. А. Карпова, Л. Е. Никишина, Д. А. Леонтьев // Управління якістю в фармації : матеріали V наук.-практ. конф., м. Харків, 27 трав. 2011 р. / М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т. – Х., 2011. – С. 13.
43. Воловик, Н. В. Разработка и внедрение системы менеджмента качества аттестации фармакопейных стандартных образцов / Н. В. Воловик, Е. В. Лимарева, Д. А. Леонтьев // Управління якістю в фармації : матеріали IX наук.-практ. конф., Харків, 22 трав. 2015 р. / М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т. – Х., 2015. – С. 29-30.
44. Леонтьев, Д. Д. Аттестация стандартных образцов с использованием стандартизации свойств хроматографическими методами / Д. Д. Леонтьев, Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Аналітична хімія у фармації : матеріали Міжнародної наук.-практ. конф., м. Харків, 19-20 берез. 2015 р. / М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т. – Х., 2015. – С. 45-47.

АНОТАЦІЯ

Леонтьєв Д. А. Створення системи фармацевтичних стандартних зразків в Україні. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2016.

Дисертація присвячена розробці й уведенню в дію системи стандартних зразків (СЗ) у фармацевтичній галузі України.

Для оцінки сумарної невизначеності (Δ_2) запропонована лінійна модель, що ґрунтується на складанні квадратів довірчих інтервалів часткових складових невизначеності (Δ_1). Сформульований принцип незначущості: для 95% надійності $\Delta_2 \leq 0{,}32 \bullet \Delta_1$. Обґрунтовані вимоги до максимально допустимої невизначеності результатів аналізу ($\max\Delta_{As}$) для основних фармацевтичних випробувань.

Обґрунтовано, що максимально допустима невизначеність атестованого значення СЗ ($\max\Delta_{RS}$) не має перевищувати $0{,}32 \bullet \Delta_{As}$. Запропоновано для усіх часткових складових Δ_{RS} (встановлення атестованого значення, однорідність СЗ, його стабільність) ставити вимогу $\Delta_i \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$ для первинних і вторинних СЗ.

Розроблена й упроваджена на 14 підприємствах України система робочих СЗ.

Розроблені принципи застосовані для атестації тестових зразків для програм професійного тестування.

Створена система фармакопейних СЗ (ФСЗ) Державної Фармакопеї України (ДФУ). Номенклатура ФСЗ ДФУ перевищує 600 найменувань.

***Ключові слова**: невизначеність результатів, фармацевтичні випробовування, стандартні зразки, процедури атестації; система фармакопейних стандартних зразків Державної Фармакопеї України, система робочих стандартних зразків.*

АННОТАЦИЯ

Леонтьев Д. А. Создание системы фармацевтических стандартных образцов в Украине. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.03 – стандартизация и организация производства лекарственных средств. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2016.

Диссертация посвящена разработке и ведению в действие в Украине системы стандартных образцов (СО) в фармацевтической отрасли, отвечающей современным требованиям. На современном уровне качество СО может быть обеспечено только путем внедрения концепции неопределенности. В фармацевтической отрасли теоретическая база аттестации фармацевтических СО отсутствовала.

Определена иерархия для фармацевтических СО в Украине. Фармакопейные СО (ФСО) соответствуют статусу «отраслевые СО» (но не «Государственные СО»). Рабочие СО (РСО) фармацевтических предприятий соответствуют статусу «СО предприятия». Обоснована необходимость перехода от «одноуровневой» системы фармацевтических СО, принятой в бывшем СССР, к «двухуровневой» системе в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (GMP).

Для оценки суммарной неопределенности предложена линейная модель, основывающаяся на сложении квадратов доверительных интервалов (Δ) частных составляющих неопределенностей вместо сложения их дисперсий. Для задач фармацевтического анализа линейная модель дает более корректную оценку неопределенности, и проще в использовании. Сформулирован принцип незначимости для частной составляющей неопределенности, который оперирует интервалами и имеет прозрачную связь с используемым уровнем надежности: для 95% надежности $\Delta_2 \leq 0{,}32 \bullet \Delta_1$, где Δ_1 – суммарная составляющая и Δ_2 – ее частная составляющая.

На основе линейной модели и принципе незначимости сформулированы требования к максимально допустимой неопределенности результатов анализа ($\max\Delta_{As}$). Для количественного определения (КО) в готовых лекарственных средствах (ГЛС) с симметричными допусками содержания $\max\Delta_{As} = 0{,}32 \bullet (\pm B)$ ($\pm B$ – полуразность допусков содержания); для тестов «Растворение» и «Однородность содержания» $\max\Delta_{As} = 3\%$; для предельного определения содержания родственных примесей и остаточных органических растворителей $\max\Delta_{As} = 16\%$; для КО примесей $\max\Delta_{As} = 5\%$.

Обосновано, что максимально допустимая неопределенность аттестованного значения СО ($\max\Delta_{RS}$) не должна превышать $0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$, что обеспечивает незначимость вклада Δ_{RS} в $\max\Delta_{As}$. Это гарантирует сопоставимость результатов

анализа при переходе к другой серии СО или при использовании ФСО различных фармакопей.

Показано, что допуски содержания для ГЛС жестче чем ±5% метрологически некорректны с точки зрения аттестации СО. Для субстанций сравнительные методы анализа, требующие использования СО, корректно использовать для ±В ≥ 1,5%. Для КО с нормированием «не менее» и для КО примесей возможно использовать субстанцию/реактив с чистотой ≥ 98%, принимая значение содержания за 100%.

Показано, что последовательное применение принципа незначимости возможно только на первых 2-3 звеньях метрологической цепочки (Спецификации$\Leftarrow\Delta_{As}\Leftarrow\Delta_{RS}$). Предложено для всех частных составляющих Δ_{RS} (присвоение аттестованного значения; однородность СО; стабильность) предъявлять требование $\Delta_i \leq 0{,}32 \bullet \max\Delta_{As}$, как для первичных, так и для РСО.

Предложено устанавливать X_{Att} ФСО вычитанием найденного содержания примесей из 100% и прямым методом. Неопределенность для каждого X_{Att} и различие в результатах между методами не должны превышать $\max\Delta_{RS}$. При аттестации РСО предложено контролировать различие в приведенных значениях аналитический сигнал/концентрация ($R_i = r_i / C_i$) для параллельных растворов (2 ФСО и 2 РСО). Оно не должно превышать прогнозируемую неопределенность. Для присвоения срока годности предложено использовать априорную информацию: СО присваивают срок годности как для субстанции (материала для аттестации), если вклад в Δ_{Att} от максимально допустимого содержания примесей $\leq 0{,}32 \bullet \Delta_{As}$.

При изучении однородности СО предложено не выделять данное варьирование, а оценивать доверительный интервал для индивидуальных результатов анализов СО, в которые входят все компоненты неопределенности (связанные с неоднородностью СО и с результатами анализа).

Предложена процедура аттестации СО для спектрофотометрии. Сформулированы условия применения СО для вариантов «внешний СО» (вещество иной природы, чем аналит), «вещество сравнения без аттестованного значения» (для которого формально X_{Att} = 100%) и «СО с присвоенным X_{Att}».

Разработана унифицированная процедура аттестации, применимая к: ФСО и РСО; Тестовым образцам для проведении Программ профессионального тестирования лабораторий; СО для обеспечения качества результатов анализа; образцам для валидации методик.

Разработанные подходы использованы в монографиях Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) (4) и общих статьях (7): «Валидация аналитических методик и испытаний», «Статистический анализ результатов химического эксперимента», «5.12. Стандартные образцы» и др.

Разработана система РСО, опирающаяся на разработанную теоретическую базу и соответствующая требованиям GMP. Разработаны различные схемы аттестации РСО: установление X_{Att}; изучение однородности; одновременное установление X_{Att} и изучение однородности. Разработаны процедуры метрологического контроля качества (КК) результатов. Предложены метрологически обоснованные решения для аттестации РСО с широкой сферой

применения. Система РСО внедрена на 14 фармацевтических предприятиях Украины.

Разработана концепция ФСО ГФУ. ФСО ГФУ аттестуют для анализа субстанций/ГЛС, которые не описаны в ГФУ. В Сертификате указывают область применения, детали аттестации, $\max\Delta_{RS}$ и способ ее оценки, срок годности. ФСО ГФУ аттестованы для всех основных направлений фармацевтического анализа. Номенклатура ФСО ГФУ превышает 600 наименований. ФСО ГФУ аттестуют по заявкам пользователей, номенклатура ФСО ГФУ максимально отвечает задачам КК ЛС. ФСО ГФУ широко используются в Украине и во многих странах ближнего зарубежья производителями ЛС, контролирующими лабораториями, в предрегистрационных исследованиях.

***Ключевые слова**: неопределенность результатов, фармацевтические испытания, стандартные образцы, процедуры аттестации; система фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины, система рабочих стандартных образцов.*

SUMMARY

Leontiev D. A. Development of a system of pharmaceutical reference standards in Ukraine. – Manuscript.

Dissertation for the scientific degree of doctor of pharmaceutical sciences, specialty 15.00.03 – standardization and organization of pharmaceutical preparation manufacturing. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2016.

The dissertation is devoted to developing and implementing a system of reference standards (RS) into the Ukrainian pharmaceutical industry.

To evaluate the total uncertainty (Δ_2), a linear model based on the summarizing of squares of confidence intervals of partial components of the uncertainty (Δ_1) has been proposed. The principle of insignificance was formulated: for reliability 95 % $\Delta_2 \leq 0{,}32 \times \Delta_1$. Requirements for the maximum acceptable uncertainty of results of the analysis ($\max\Delta_{As}$) for major pharmaceuticals tests have been substantiated.

It is proven that the maximum acceptable uncertainty of the RS certified value ($\max\Delta_{RS}$) should not exceed $0{,}32 \times \Delta_{As}$. The requirement $\Delta_i \leq 0{,}32 \times \max\Delta_{As}$ for primary and secondary RS was suggested to an all partial components Δ_{RS} (the establishment of the certified value, homogeneity, stability).

A system of working RS was developed and implemented at 14 laboratories of Ukrainian drug manufacturers.

The proposed principles were applied to test samples for the proficiency testing program.

A system of pharmacopoeial reference standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine (PhRS SPhU) was established. The nomenclature of the PhRS SPhU exceeds 600 titles.

***Key words:** uncertainty of results, pharmaceutical tests, reference standards, certification procedures, a system of pharmacopoeial reference standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine, a system of working reference standards.*