

УДК 615.07:54.068:543.422

О. Л. ЛЕВАШОВА, С. М. КОВАЛЕНКО

*Національний фармацевтичний університет*

## ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛІЗА У ВІТАМІННО-МІНЕРАЛЬНОМУ КОМПЛЕКСІ. ПОВІДОМЛЕННЯ 1

*Наведено процес валідації аналітичної методики кількісного визначення заліза у вітамінно-мінеральному комплексі Gesticare для вагітних. Дано визначення валідації аналітичної методики, описано валідаційні характеристики та критерії процесу валідації аналітичної методики.*

**Ключові слова:** валідація, валідаційні характеристики, критерії валідації

### ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Якість препаратів забезпечується комплексом аналітичних методів, які дозволяють підтвердити їх достовірність, визначити чистоту та кількісний вміст діючих речовин. Посилені вимоги до безпеки, ефективності та якості лікарських засобів обумовлюють необхідність розробляти нові й удосконалювати наявні методи їхнього аналізу.

Вибір інструментального методу аналізу для визначення складу багатокомпонентного вітамінно-мінерального комплексу (ВМК) Gesticare обумовлений рядом загальних вимог, наприклад: межами виявлення методу, багатокомпонентністю, похибкою, що припускається, часом та вартістю аналізу. Безумовно, перевага віддається методам, які є достатньо специфічними та чутливими, точні по відношенню до стандартних нормативів, виконуються в короткі терміни часу з використанням мінімальної кількості випробуваних лікарських препаратів і реактивів. Тому розробка та валідація селективної методики кількісного визначення заліза фумарату в препараті є актуальним завданням.

### АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Валідація – це невід’ємна частина забезпечення якості продукції.

Міжнародна документальна база з валідації аналітичних методик добре розвинена. У США опубліковані: Директиви з основних принципів валідації [1], Директиви для передачі

зразків і затвердження аналітичних методів [2]. Міжнародна конференція з гармонізації (Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації фармацевтичної продукції для людей – МКГ (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use – ICH)) розробила узагальнені рекомендації з валідації методів аналізу [3, 4]. Центр з оцінки та дослідження ліків (CDER) FDA опублікував керівництво з валідації хроматографічних методів аналізу [5].

Ці документи містять чітке визначення – мети валідації аналітичних методик, об’єкту застосування процедури, методів випробувань, що використовуються для оцінки відповідності фармацевтичних продуктів певним технічним вимогам (специфікаціям). Визначається коло методик, які необхідно валідувати (нові, або змінені, такі, що подаються на затвердження), додаткова інформація, що повинна наводитися спільно з методикою при її затвердженні [3–5].

Історично склалося так, що поняття «валідація» зародилося в галузевому стандарті виробництва лікарських препаратів GMP (Good Manufacturing Practice – Належна виробнича практика), яка включає в себе GLP (Good Laboratory Practice – Належна лабораторна практика). Відповідно до вимог GMP/GLP термін «валідація» трактується як процес перевірки достовірності тверджень, специфікацій, правил тощо в широкому розумінні і значенні [6]. Посилання на неї є і в ISO/IEC 17025:2005 у п. 4.2.2: «Заява про політику у сфері якості повинна містити зобов’язання керівництва лабораторії

© О. Л. Левашова, С. М. Коваленко, 2011

дотримуватися належної професійної практики» [7]. У ISO 9000–2005 поняття валідації представлено так: «Затвердження (validation) – підтвердження наданням об'єктивних доказів, що вимоги щодо конкретного передбаченого використання або застосування виконано» [8].

*Валідація аналітичної методики* – це експериментальний доказ того, що методика придатна для розв'язання поставлених завдань [10].

Вимоги USP (Фармакопея США) та ДФУ (Державної Фармакопеї України) вимагають обов'язкове проведення валідації аналітичних методик з метою забезпечення якості та безпечності лікарських препаратів [9, 10].

### ВИДІЛЕННЯ НЕ ВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Для практики валідації аналітичних методик все ж таки недостатньо тільки описів параметрів, методології їх визначень, способів виразу (те, що дають фармакопейні документи). Необхідна також інформація про те, як організувати процес, оптимізувати дослідження і вибирати числові критерії, на якому етапі розробки методики проводити валідацію і т. ін. У цьому істотну допомогу надають додаткові офіційні документи і публікації різних авторів та організацій [11–13].

### ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою роботи було визначення валідаційних параметрів методики кількісного визначення заліза фумарату в лікарській формі – таблетках ВМК Gesticare та валідація цієї методики.

### ВИКЛАД ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для кількісного визначення заліза в таблетках ВМК був обраний метод атомно-абсорбційної спектроскопії (ААС). Використання даного методу з достатньою точністю дозволило визнати кількісний вміст заліза в багатоконпонентному препараті Gesticare для вагітних, до складу якого входять вітаміни та мікроелементи.

Визначення проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі Varian 220 FS Double Beam AA (USA) при довжині хвилі 248,3 нм в полум'ї повітря/ацетилен.

Для роботи використовували мірний посуд класу А, реактиви, стандарти, що відповідають вимогам USP.

#### *Методика*

Побрібноють не менше, ніж 20 таблеток ВМК до дрібнодисперсного порошку. Зважують точну наважку (близько 5 г) зразка в тигель. Нагрівають на плиті до обуглювання. Переносять тигель у муфельну піч і спалюють зразок

при  $550 \pm 5$  °С протягом 1 години, потім остиджують.

Переносять кількісно в лабораторний стакан місткістю 200 мл. Додають по краплях 10 мл концентрованої хлористоводневої кислоти.

Додають 10 мл концентрованої HCl в тигель, доводять до кипіння, охолоджують і переносять кислоту в стакан. Промивають тигель водою і додають в стакан. Вміст стакана кип'ятять 30 хв., потім охолоджують, переносять у мірну колбу місткістю 200 мл. Промивають стакан розчином 6 N HCl, додають у мірну колбу. Розбавляють і доводять до мітки дистильованою водою. Перемішують, відфільтровують, відкидаючи перші 10 мл.

Розбавляють 10.0 мл отриманого розчину в мірній колбі місткістю 100 мл до мітки за допомогою 0.1N HCl.

Одна таблетка препарату містить від 25.2 до 32.2 мг заліза.

#### *Валідація аналітичної методики*

У процесі валідації аналітичної методики були визначені такі валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, точність і правильність, внутрішньолабораторна точність, робастність, придатність аналітичної системи.

#### *Лінійність*

Для перевірки можливості використання методу стандарту готують модельні розчини в діапазоні концентрації не менше, ніж + 20% від номінального вмісту Fe. Готують не менше 9 розчинів із концентраціями, рівномірно розташованими в зазначеному діапазоні.

Для перевірки можливості використання методу стандарту модельні розчини аналізують по розчинам для градування (що не містять компоненти плацебо, які вводяться в модельні розчини).

#### *Точність і правильність*

Вивчають для 9 концентрацій модельних розчинів, які рівномірно охоплюють діапазон + 20% від номінальної концентрації. Точність та правильність оцінюють за даними для лінійності.

#### *Специфічність*

У розчині плацебо препарату не повинен визначитися Fe. У разі наявності аналітичного сигналу, розрахована відповідно концентрація повинна бути незначущою в порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу.

#### *Внутрішньолабораторна точність*

Аналізують модельний розчин препарату в різних днях і оцінюють різницю знайденого вмісту Fe.

#### *Робастність*

Аналізують стабільність розчинів та відтворюваність результатів при використанні іншого обладнання.

*Придатність аналітичної системи*

Для всіх одержаних у процесі валідації результатів повинні виконуватися вимоги до RSD.

*Моделі розчинів та розрахунки*

Відповідно до вимог USP діапазон досліджуваних концентрацій для методики кількісного визначення та розчинності складає від 50% до 150%. Для визначення лінійності нами було досліджено 9 модельних розчинів із вмістом заліза: 50.0%, 62.5%, 75.0%, 87.5%, 100.0%, 112.5%, 125.0% та 150.0% від номінального вмісту (28.7 мг/таб). Для побудови калібрувального графіку готували 5 стандартних розчинів заліза із вмістом 50.0%, 75.0%, 100.0%, 125.0%, 150.0% від номіналу, що відповідає концентрації 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 та 6 ppm у фінальному розчині.

*Критерії валідації*

Були розроблені статистичні критерії валідації.

Вміст заліза складає 25.2–32.2 мг, що відповідає ( $28 \pm 3.5$  мг) або 87.8% – 112.2% ( $100 \pm 12.2$ )% від номінального вмісту.

Повна невизначеність:

$$\max \Delta_{as} = 0.32 \cdot 12.2 = 3.90\%$$

Системна невизначеність:

$$\max \delta = 0.32 \cdot \max \Delta_{as} = 0.32 \cdot 3.90 = 1.25\%$$

Значення невизначеності калібрування  $\Delta_{cal}$  повинно бути незначущим порівняно до гранично допустимої повної невизначеності аналізу  $\Delta_{as}$ :

$$\Delta_{cal} \leq 0.32 \cdot \max \Delta_{as} = 0.32 \cdot 3.9 = 1.25\%$$

У цьому випадку невизначеність калібрування  $\Delta_{cal}$  не перевищує максимально припустимую системну похибку.

Виходячи з цього, отримуємо значення для  $SD_{rest} = 0.53\%$  від номіналу (4 ppm), що відповідає  $SD_{rest} = 0.021$  ppm:

$$SD_{rest} \leq \Delta_{cal} / 2.35 = 1.25 / 2.35 = 0.53\%$$

Це співвідношення дозволяє одержати вимоги до коефіцієнту кореляції  $R_c$  та його квадрату калібрувальної прямої:

$$R_c \leq 1 - (SD_{rest} / SD_{co})^2 = 1 - (0.53 / 39.53)^2 = 0.99982$$

$$R_c \leq 0.99991$$

Визначення валідаційних характеристик методики кількісного визначення заліза у вітамінно-мінеральному комплексі методом ААС та обчислювання отриманих валідаційних даних буде розглянуто в наступних статтях даного циклу.

### ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

У статті розглянуто основи поняття та мету валідації аналітичної методики виконання вимірювання в лабораторії.

Визначено валідаційні характеристики та статистичні критерії валідації для аналітичної методики кількісного визначення заліза у вітамінно-мінеральному комплексі Gesticare.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. US FDA. General principles of validation. // Center for Drug Evaluation and Research (CDER). – May 1987.
2. USFDA. Guidelines for submitting samples and analytical data for methods validation // Center for Drugs and Biologies Department of Health and Human Services. – Rockville, MD. – February 1987.
3. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of analytical procedures: Methodology, ICH-Q2B, Geneva, 1996.
4. Руководство ICH «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2 (R1): Междунар. конф. по гармонизации технических требований к регистрации медицинских лекарственных средств. Гармонизированное трехстороннее руководство ICH // ФАРМАЦИЯ. – 2008. – № 4. – С. 3-10.
5. US FDA. Guidance for Industry Process Validation: General Principles and Practices // U.S. Department of Health and Human Services FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), Center for Veterinary Medicine (CVM) – 2011. – 22 p.
6. Настанова з якості «Лікарські засоби. Валідація процесів» (Настанова 42-3.5:2004) – К.: МОРИОН. – 2004. – 11 с.
7. ДСТУ ISO/IEC 17025-2006. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій. – К.: Держспоживстандарт. – 2007. – 40 с.
8. ISO 9000:2005 Quality management systems – Fundamentals and vocabulary. – 2005. – 30 p.
9. United States Pharmacopoeia 30. / National Formulary 25 (2007) United States Pharmacopoeia Convention. Rockville. – 2007.
10. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – С. 58–67.
11. Гризодуб А. И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии

- с требованиями ГФУ / Александр Иванович Гризодуб // ФАРМАКОМ. – 2002. – № 3. – С. 42-50.
12. Гризодуб А. И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / Александр Иванович Гризодуб // ФАРМАКОМ. – 2006. – № 1-2. – С. 35-44.
13. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / В. Л. Багиров, А. И. Гризодуб, Т. Х. Чибилев и др. – М., 2007. – 48 с.

**УДК 615.12:615.072**

**О. Л. Левашова, С. Н. Коваленко**

**ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА В ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОМ КОМПЛЕКСЕ. СООБЩЕНИЕ 1**

Приведен процесс валидации аналитической методики количественного определения железа в витаминно-минеральном комплексе Gesticare для беременных. Дано определение валидации аналитической методики, определены валидационные характеристики и критерии процесса валидации аналитической методики.

**Ключевые слова:** валидация, валидационные характеристики, критерии валидации.

**УДК 615.12:615.072**

**O. L. Levashova, S. N. Kovalenko**

**VALIDATION OF METHOD OF DETERMINATION OF IRON IN VITAMIN-MINERAL COMPLEX. REPORT 1**

The process of validation of an analytical method of quantitative determination of iron is resulted in a vitamin mineral complex Gesticare for pregnant. Definition of analytical method validation is given, validation characteristics and criteria of a validation process of analytical method are defined.

**Key words:** validation, validation characteristics, validation criteria.

*Адреса для листування:*  
61058 м. Харків,  
вул. Данилевського, буд. 19, кв. 15.  
Тел.: +38 0992856760.  
E-mail: lev-26@list.ru

Надійшла до редакції:  
21.02.2011 р.