

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУБСТАНЦИИ ПРЕДНИЗОЛОНА МЕТОДОМ ПОКАЗАТЕЛЯ ПОГЛОЩЕНИЯ

Гризодуб А.И., Евтифеева О.А., Проскурина К.И.

**ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»,
г. Харьков, Украина**

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

Метрологические аспекты применения абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра в количественном фармацевтическом анализе достаточно подробно освещены в научной литературе. Такой анализ может проводиться методом показателя поглощения (МПП) и методом стандарта (МС). До недавнего времени при выборе метода анализа при контроле качества лекарственных средств предпочтение отдавали МС. Однако в последнее время ситуация изменилась. В Государственную Фармакопею Украины (ГФУ), гармонизированную с Европейской Фармакопеей (ЕФ), внесены требования к контролю правильности оптической плотности по раствору бихромата калия, шкалы длин волн, рассеянного света и стандартности кювет. В лабораторной практике обязательными стали наличие систем обеспечения качества результатов анализа, проведение квалификации оборудования и мерной посуды. Что позволило в значительной степени стандартизировать значения показателей поглощения в разных лабораториях и ввести спектрофотометрические методики количественного определения, основанные на МПП, в фармакопеи. В настоящее время в ГФУ МПП описан для количественного определения 10 субстанций. Допуски содержания основного вещества в этих субстанциях расширены, например, для преднизолон, гидрокортизон ацетата, рибофлавина до 97-103%, что делает использование МПП для их количественного определения приемлемым. Задача нашего исследования – попытка найти ответ на вопрос: насколько метрологически корректным является применение МПП для субстанции преднизолон. С этой целью нами были проведены валидационные исследования методики количественного определения субстанции преднизолон в варианте МПП по стандартизированной процедуре рекомендованной ГФУ.

Для эксперимента использовали субстанцию преднизолон, которая отвечает требованиям ВР2007/USP32, аналитическое оборудование: спектрофотометры (Specord-200 и Specol-1500), аналитические весы AB 204 S/A METTLER TOLEDO, рН-метр РВ-11, фирмы «SartoriusAG» (Германия), реактивы и мерную посуду класса А, которые отвечают фармакопейным требованиям. Критерии приемлемости метрологических характеристик для методики составляют: полная неопределенность анализа $\max \Delta_{As} \leq 3.0\%$; практическая незначимость систематической погрешности $\max \delta \leq 0.96\%$; остаточное стандартное отклонение $RSD_0 \leq 1.12$; коэффициент корреляции $\min R^2_c \geq 0.9933$; статистическая незначимость свободного члена $\max a \leq 4.39$, номинальная оптическая плотность $A_{nom} \leq 0.67$.

Прогнозируемая неопределенность пробоподготовки аналитической методики составляет $\Delta_{SP} = 0.32\%$, полная неопределенность результатов анализа не превышает максимально допустимое значение $\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)} = 0.64 \leq 3.0\%$. Перед проведением эксперимента проводили проверку метрологических характеристик спектрофотометров на соответствие требованиям ГФУ. Оптическая плотность 96% спирта Р (компенсационный раствор), измеренная против воздуха при аналитической длине волны (АДВ) соответствует требованиям к растворителям ($A_{blank} = 0.1891 \leq 0.2000$). Граничный уровень рассеянного света соответствует требованиям ГФУ. Прецизионность оптической плотности для

спектрофотометров без вынимания кюветы и с рандомизацией положения кювет соответствует соотношениям: $S_{A,r}\% = 0.08 \leq 0.10$; $S_{Ac,r}\% = 0.25 \leq 0.25$. Исследование робастности методики показало, что колебания рН конечных растворов в диапазоне $\pm 10\%$ значимо не влияет на воспроизводимость величины оптической плотности $\Delta_{pH}\% = 0.31 \leq 0.96$. Кюветная разность для комплекта кювет А:В не превышает 0.5% от минимальной рекомендуемой оптической плотности и соответствует соотношению $\delta_{dif} = 0.001 \leq 0.002$.

Результаты изучения линейности приведены на рис. 1 и 2.

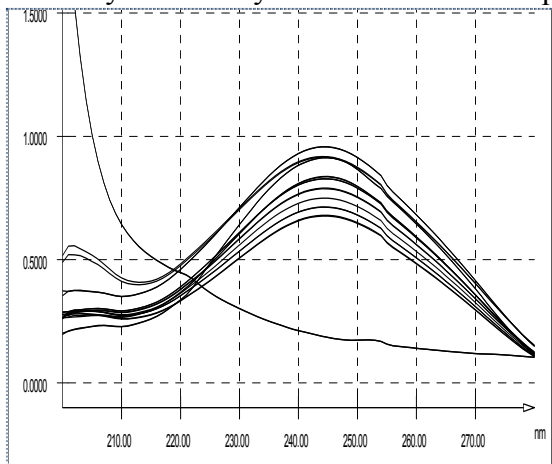


Рис. 1. График зависимости оптической плотности от длины волны для 9 концентраций

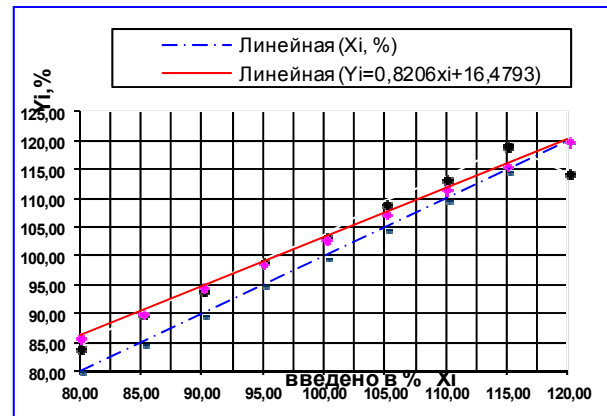


Рис.2. График зависимости оптической плотности от концентрации преднизолона в нормализованных координатах

Отметим, что с увеличением концентрации модельных растворов (начиная с концентрации 110%, 115% и 120%) меняется характер поглощения оптической плотности. Результаты оценки линейной зависимости для 9 точек концентраций, полученные в двух различных лабораториях, показали, что методика не характеризуется линейностью на диапазоне использования методики 80-120% (*Specord-200*: $Y_i = 0.8374x_i + 19.0937$, $r^2 = 0.9448$, $RSD_0 = 2,96$, $\delta = 3.14$, $\Delta_{As} = 6.46$; *Specol-1500*: $Y_i = 0.8917x_i + 18.7997$, $r^2 = 0.9493$, $RSD_0 = 3,02$, $\delta = -8.27$, $\Delta_{As} = 6.42$). Однородными можно охарактеризовать данные для диапазона 80-115%, для которого линейность соблюдается. Далее статистическую оценку экспериментальных данных проводили согласно рекомендациям ГФУ для 8 точек концентрации (*Specord-200*: $Y_i = 1.0296x_i + 0.8848$, $r^2 = 0.9803$, $RSD_0 = 2,09$; *Specol-1500*: $Y_i = 1.0822x_i + 0.7976$, $r^2 = 0.9851$, $RSD_0 = 1,92$). Прецизионность методики составила $\Delta_{As} = 3.12\%$ для *Specord-200* и $\Delta_{As} = 3,50\%$ для *Specol-1500*, при этом систематическая погрешность (правильность методики) составила $\delta = -4,11$ и $\delta = -9,26$ соответственно. Разницу между систематической погрешностью на разных приборах можно объяснить межприборной погрешностью, кюветной разностью, колебаниями температуры, метрологическими характеристиками посуды и др. Проведение пробоподготовки с пипеткой Мора для 100% концентрации с последующим измерением оптической плотности не менее 3-х раз позволило оценить правильность пробоподготовки. Относительное различие между удельными показателями поглощения в обоих экспериментах составило. Оценка воспроизводимости удельного показателя поглощения на разных приборах показала, что межприборная разница составляет 5.14% ($\Delta_{100} = 3.53\%$ для *Specord-200* и для *Specol-1500*). Оценка результатов валидации методики количественного определения субстанции преднизолона в варианте МПП для субстанции преднизолона по стандартизированной процедуре ГФУ позволяет сделать вывод, что для метрологически корректного проведения анализа рекомендуется либо сузить диапазон применения методики, либо уменьшить навеску определяемого вещества.

Учитывая разницу воспроизводимости удельного показателя поглощения на разных приборах, целесообразно увеличить допуски до $\pm 5\%$.