Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фірою
УДК 543.422.3:547.857
DOI 10.11603/2312-0967.2016.2.6647

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ РИБОКСИНУ НА ПОВЕРХНІ ОБЛАДНАННЯ

© М. В. Росада, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгіянц

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: запропоновано УФ-спектрофотометричну методику визначення слідових кількостей рибоксину на поверхні обладнання для валідації процесу очистки фармацевтичного обладнання. Розроблена методика була вивчена за такими валідаційними характеристиками: специфічність, лінійність, точність, визначена повна невизначеність методики. Лінійність спостерігається в інтервалі концентрацій 0,5-10,0 ppm, повна невизначеність методики складає 1,55%.

Ключові слова: валідація очистки, залишкові кількості, УФ-спектрофотометрія, рибоксин.

Вступ. При промисловому виготовленні активних фармацевтичних інгредієнтів та готових лікарських засобів на їх основі для запобігання контамінації одного засобу попереднього виготовленим важливим етапом підготовки виробництва є очистка обладнання, яка включає низку процедур, серед яких і відбір зразків (метод мазків або змивів), і валідовані випробування на залишкові кількості активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) на поверхнях обладнання [1–4].

Зазвичай допустимі межі залишкових кількостей АФІ на поверхнях обладнання розраховують, з огляду на критерії ризику, пов'язаного з залишками даних інгредієнтів [5, 6]. Згідно з рекомендаціями PIC / S (система співробітництва всіх фармацевтичних інспекцій – Pharmaceutical inspection cooperation scheme) допустима кількість залишків препарату має відповідати таким критеріям:

– після очистки обладнання не повинно бути видимих слідів;

– у максимальній добовій дозі препарату допускається не більше 0,1% середньої терапевтичної дози будь-якого попередньо виготовленого препарату;

– препарат не повинен містити більше 10 частин на мільйон (10 ppm) будь-якого іншого препарату.

Для визначення залишкових кількостей АФІ використовують методи, які мають високу селективність стосовно аналіта і домішок – продуктів деградації, які виникають у процесі відмивання, а також високу чутливість. До таких методів, як правило, відносять високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) [1–5], флуориметрію [7, 11] і УФ-спектроскопію [13, 14].

Мета роботи – розробка та валідація простої і селективної методики визначення залишкових кількостей АФІ рибоксину в мазках із поверхонь очищеного обладнання після виробництва таблеток рибоксину.

Методи дослідження. Аналітичні дослідження проводили методом спектрофотометрії з використанням спектрофотометра Specord 205 фірми «Analytik Jena AG» (Німеччина), з використанням ваг лабораторних електронних OHAUS AP 250D фірми «Ohaus Corporation» (США) та мірного посуду класу А.

Мазки з поверхні обладнання відбирали ватними тампонами, змоченими у воді. Визначення залишкових кількостей рибоксину проводили вимірюючи оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння з наступним порівнянням отриманих результатів. Як стандартний зразок використовували 9-β-D-рибофуранозил гіпоксантин (рибоксин (інозин), серія 1 від 20.04.2012 (ФСЗ ДФУ).

Результати й обговорення. Останнім часом багато уваги приділяють очистці технологічного обладнання від залишків АФІ при виробництві лікарських засобів. Відповідно до настанови «Лікарські засоби. Належна виробнича практика 2015. 42-4.0:2015» [12] процес очищення технологічного обладнання повинен забезпечувати таку чистоту, яка необхідна для виробництва лікарських засобів. Для виконання цих умов необхідно мати чутливі, специфічні, валідовані методи контролю залишкових кількостей АФІ на технологічному обладнанні.

Згідно з вимогами Китайської фармакопеї [8,9] та фармакопеї РФ [10] кількісне визначення рибоксину в субстанції визначають методом рідинної хроматографії, який є тривалим в часі і не може задовольняти технологічний процес. Використовуваний аналітичний метод повинен бути селективним, чутливим і експресним. Тому нами здійснено спробу розробити таку методику.

Проведені спектральні дослідження свідчать, що УФ-спектр поглинання 10 ppm водного розчину рибоксину в області від 220 до 300 нм характеризується максимумом поглинання при довжині хвилі (249

± 2) нм. Підтверджено відсутність впливу плацебо (мазки із чистої пластини обладнання) на визначення рибоксину (рис. 1).

Методика визначення залишкових кількостей рибоксину на поверхні обладнання при виробництві таблеток рибоксину.

Випробовуваний розчин. Після промивки обладнання ватним тампоном протирають площу 10 х 10 см, поміщають тампон в центрифужну пробірку з 5 мл води Р.

Центрифугують і, декантуючи, переносять розчин у мірну колбу місткістю 20 мл. До залишку додають 15 води Р і знову центрифугують, після чого розчин долучають до попереднього у мірну колбу. Розчин у мірній колбі доводять до позначки водою Р.

Вихідний розчин. 0,1 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ рибоксину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл і розчиняють у воді Р, доводячи об'єм розчину тим же розчинником до позначки. 1,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу місткістю 100 мл і доводять об'єм розчину водою Р до позначки.

Розчин порівняння. 1,0 мл *вихідного розчину* поміщають у мірну колбу місткістю 20 мл і доводять об'єм розчину водою Р до позначки.

Оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 249 нм.

Вміст рибоксину (X, у мікрограмах) на досліджувану площу поверхні розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_0 \cdot A \cdot 1000}{A_0},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

m_0 – маса наважки ФСЗ ДФУ рибоксину, у г.

Атестаційний критерій залишкової кількості – не більше 10 ppm.

У таблиці 1 наведено результати аналізу модельних розчинів та їх статистичну обробку для оцінки прецизійності, правильності та лінійності. Дані таблиці 1 свідчать, що методика визначення залишкових кількостей рибоксину характеризується належною прецизійністю (збіжністю). Знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z (99,98) менше критичного значення для збіжності результатів (1,6 %).

Виконується критерій незначущості систематичної похибки методики – систематична похибка методики (0,02) є статистично і практично незначущою, тобто методика аналізу характеризується достатньою правильністю в усьому діапазоні концентрацій від 0,5 до 10,0 ppm (табл. 1).

Таким чином, підтверджена лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність методики визначення залишкових кількостей рибоксину методом спектрофотометрії в діапазоні використання від 0,5 до 10,0 ppm.

Розрахунок параметрів лінійної залежності $Y_i = b \cdot X_i + a$ (за даними табл. 1) був проведений методом найменших квадратів. Результати наведено в таблиці 2 та на рисунку 2, свідчать про виконання вимог до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується в усьому діапазоні концентрацій від 0,5 до 10,0 ppm.

Прогнозована повна невизначеність результатів 1,55 % не перевищує критичного значення (1,60 %), тобто методика буде давати коректні результати в інших лабораторіях.

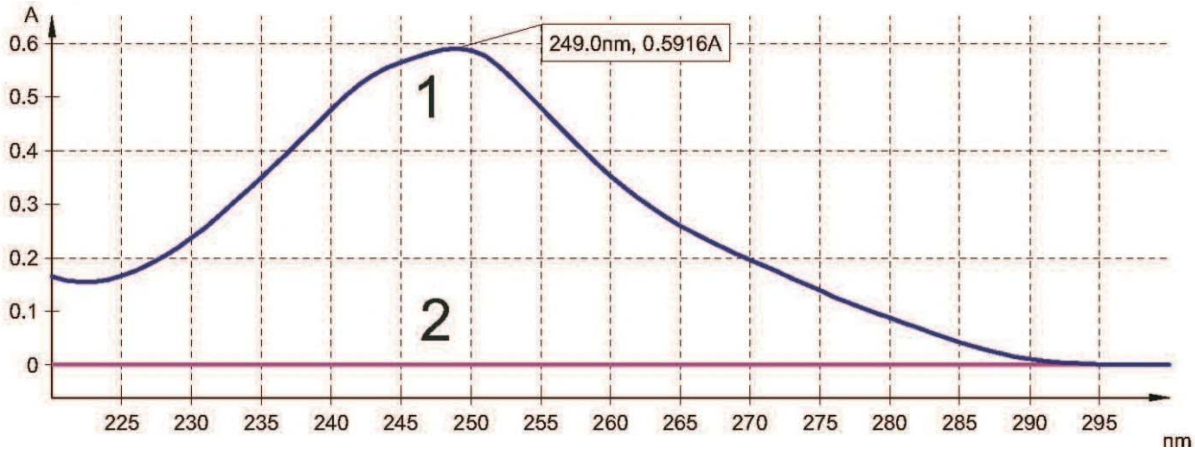

Рис. 1. УФ-спектр поглинання: 1 – водного розчину рибоксину; 2– змиву чистої пластини обладнання.

Таблиця 1. Результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка для методики визначення залишкових кількостей рибоксину

№ модельного розчину	Наважка рибоксину, C_{st} = 5,0 ppm	Введено, у % до концентрації розчину порівняння (X_i= C_i/C_{st}, %)	Середні значення оптичної густини (A_i) (A_{st} = 0,2836)	Знайдено, в % до концентрації розчину порівняння (Y_i= A_i/A_{st} , %)	Знайдено (у %) до введеного Z_i = 100(Y_i/ X_i)
1	0,50	10,00	0,0283	9,98	99,79
2	0,50	10,00	0,0283	9,98	99,79
3	2,50	50,00	0,1410	49,72	99,44
4	2,50	50,00	0,1400	49,37	98,73
5	5,10	102,00	0,2951	104,06	102,01
6	7,50	150,00	0,4253	149,96	99,98
7	7,50	150,00	0,4257	150,11	100,07
8	9,91	198,20	0,5619	198,13	99,97
9	9,90	198,00	0,5618	198,10	100,05
середнє, $\overline{Z}$ %					99,88
Відносне стандартне відхилення, RSD_z,% $RSD_Z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$					0,87
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_Z(\%) = t(95, n-1) \times RSD_Z = 1{,}860 \times RSD_Z, \%$					1,62
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As}, % (гранична невизначеність)1,6					1,60
Систематична похибка $\delta = \lvert\bar{Z} - 100\rvert$					0,02
Критерій незначущості систематичної похибки $\delta\% = \frac{\Delta_Z}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_Z}{3} = \frac{1{,}622}{3} = 0{,}54$(0,54≤0,17) якщо не виконується 1, то δ ≤ 0,32×1,6=0,512 % (0,02≤1,54)					Не виконується Виконується
Загальний висновок про точність методики					Коректна

Таблиця 2. Метрологічні характеристики, отримані при дослідженні лінійності методики визначення залишкових кількостей рибоксину

Величина	Значення	Критерій (для допусків 95 – 105 %, g=9)	Висновок
b	1,0013	-	-
S_b	0,0038	-	-
a	0,0034	1. ≤ 1,8946 · S_a = 0,8863, 2. Якщо не виконується 1), то ≤ 1,60	Відповідає
S_a	0,4678	-	-
S_r	0,8019	≥ 0,84	-
r	0,9999	≥ 0,9981	Відповідає

Висновки. Розроблено спектрофотометричну методику визначення залишкових кількостей рибоксину, яка може бути використана при контролі якості очистки технологічного обладнання.

Список літератури

1. PIC/S document PI006-2. Recommendations on Validation Master Plan, Installation und Operational Qualfication. Non Sterile Process Validation, Cleaning Validation; July 2004.
2. U.S. Food and Drug Administration. Guide to inspections validation of cleaning processes; July 1993.
3. Проблемы перекрестного загрязнения в химико-фармацевтическом производстве: стандартизация и унификация требований / С. Ю. Гармонов, Г. Р. Нурисламова, Р. Р. Фатхуллин и др. // Вестник Казанского технологического университета. – 2006. – Vol. 6. – С. 294–305.

4. Nassani M. Cleaning validation in the pharmaceutical industry / M. Nassani // J. Validation Technol. – 2005. – P. 11–14.
5. Fourman G. L. Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations / G. L. Fourman, M. V. Mullen // Pharm. Technol. – 1993. – Vol. 17. – P. 54–60.
6. McCormick P. Y. «Cleaning Validation» in Pharmaceutical Process Validation / P. Y. McCormick, L. F. Cullen ; edited by R. I. Berry and R. A.Nash, 2nd edition. – New York : Marcel Dekker, Inc., 1993. – P. 319–341.
7. Shabir G. A. Equipment Cleaning Valiation: Developing an HPLC Method to Determine Contamination Residues on Equipment Surfaces / G. A. Shabir // Am. Pharm. Rev. – 2008. – Vol. 11. – P. 16–22.
8. Китайська фармакопея Том 2 / People's Medical Publishing House, 2005. – P. 438 – 440.
9. Drug master file (for Inosine) / “Starlake Bioscieence Co.”. – China, 2007. – P. 68.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации Часть. 1 / Научный центр экспертизы средств медицинского применения // РИБОКСИН (ФС 42-0275-07) – 2007 – 624 – 627с.
11. Schmidt A. H. UPLC-MS/MS in support of cleaning validation studies in an cephalosporin antibiotics production facility / A. H. Schmidt, M. Stanic // G.I.T. Laboratory J.Europe. – 2012. – Vol. 5–6. – P. 28.
12. СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2015 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика».
13. Валидация методики ВЭЖХ определения остаточных количеств клофелина гидрохлорида с поверхностей фармоборудования / А. В. Егорова, А. А. Федосенко, Е. О. Витюкова и др. // Вісник ОНУ. Хімія. – 2014. – Т. 19, Вип. № 3 – 51. – С. 40–51.
14. Кондратьева М. Л. Разработка аналитических методик для валидации очистки оборудования, используемого в производстве лекарственных средств / М. Л. Кондратьева, Е. Н. Наприенко, О. В. Шкуратова // Сибирский медицинский журнал – 2011. — Т. 26, Вып. № 2-2. – С. 84–97.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ РИБОКСИНА НА ПОВЕРХНОСТИ ОБОРУДОВАНИЯ

Н. В. Росада, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгиянц

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: предложено УФ-спектрофотометрическую методику определения остаточных количеств рибоксина на поверхности оборудования для валидации процесса очистки фармацевтического оборудования. Разработанная методика была изучена по следующим валидационным характеристикам: специфичность, линейность, точность, определена полная неопределенность методики. Линейность наблюдается в интервале концентраций 0,5 – 10,0 ppm, полная неопределенность методики составляет 1,55 %.

Ключевые слова: валидация очистки, остаточное количество, УФ-спектрофотометрия, рибоксин.

VALIDATION OF METHODS FOR DETERMINING RESIDUAL AMOUNTS OF RIBOXIN ON THE SURFACE EQUIPMENT

N. V. Rosada, N. Yu. Bevz, V. A. Heorhiyants

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: UV-spectrophotometry method of determination residual amounts of riboxin for validation cleaning process of the pharmaceutical equipment has been proposed. The developed method has been studied on to validated parameters: specificity, linearity, precision, determined total uncertainty methods. The linearity observed in the concentration range of 0.5 – 10.0 ppm, the total uncertainty methods 1.55 %.

Key words: validation of cleaning, residual amounts, UV-spectrophotometry, riboxine.

Отримано 19.04.2016