

<sup>1</sup>И.М. Кейтлин, <sup>2</sup>А.В. Мазулин, <sup>3</sup>Е.В. Гречаная

**ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК. СООБЩЕНИЕ 6  
ПРОЧНОСТЬ И НАДЕЖНОСТЬ АНАЛИТИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ;  
СТАБИЛЬНОСТЬ (УСТОЙЧИВОСТЬ ВО ВРЕМЕНИ) ОБРАЗЦА И СТАНДАРТНЫХ РАСТВОРОВ**

<sup>1</sup>Запорожская областная государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств,

<sup>2</sup>Запорожский государственный медицинский университет

**Ключові слова:** валидація, міцність, надійність, стійкість у часі, критерії оцінки.

**Ключевые слова:** валидация, прочность, надежность, устойчивость во времени, критерий оценки.

**Key words:** validation, robustness, ruggedness, stability, acceptance criteria.

Розглянуто деякі характеристики процесу валидації аналітичних методик – міцність, надійність, стійкість у часі зразка і стандартних розчинів, методики визначення та рекомендовані критерії оцінки.

Рассмотрены некоторые характеристики процесса валидации аналитических методик – прочность и надежность аналитической методики, а также стабильность (устойчивость во времени) образца и стандартных растворов.

Some characteristics of validation analytical methods were considered. They are: robustness, ruggedness and sample and standard stability. As well, recommended acceptance criteria and methods of determination were considered.

Как уже описано в сообщениях 1, 2, 3, 4 и 5 по теме «Валидация аналитических методик» (№6, 2008; №2, 2009; №3, 2009, №4, 2009, №5, 2009), валидация аналитической методики состоит в определении точности, воспроизводимости, чувствительности, межлабораторной воспроизводимости, линейности, специфичности или селективности, надежности (устойчивости) аналитической методики и стабильности (устойчивости во времени) образца и стандартных растворов [1].

Данная статья посвящена рассмотрению особенностей определения надежности (устойчивости) аналитической методики и стабильности (устойчивости во времени) образца и стандартных растворов при проведении валидации аналитического метода.

Устойчивость (Robustness) является показателем надежности методики при ее использовании в указанных условиях [2].

Этот параметр проверяется изменением критических параметров метода (ВЭЖХ) свыше эффективного диапазона и демонстрируется эффект, оказываемый этими изменениями на специфичность (избирательность) метода.

А) Критическими параметрами метода, подверженными проверке, могут являться:

- рН буферного раствора подвижной фазы (только в тех редких случаях, когда в состав подвижной фазы входит смесь воды и органического растворителя, параметром, подверженным проверке, является рН всей подвижной фазы);

- ионная сила буферного раствора;
- состав подвижной фазы (в частности, соотношение компонентов, в том числе водной и органической фазы);
- хроматографические колонки (разные серии и/или производители);
- скорость потока подвижной фазы ;

Все эти параметры (кроме параметра «хроматографические колонки») варьируются в пределах  $\pm 10\%$  и, используя в качестве теста раствор системы соответствия (system suitability solution), вычисляются следующие значения:

- время удерживания главного пика (retention time);
- фактор асимметрии главного пика;
- относительные времена удерживания для примесей и/или продуктов разложения (relative retention time);
- разрешение между главным пиком и пиками примесей и/или продуктами разложения (resolution);

Б) Полнота экстракции должна быть валидирована, т.е. продемонстрировано, что нет существенных различий между анализом, выполненным с отклонениями от параметров, указанных в методе, таких как время ультразвуковой обработки (sonication) и время встряхивания.

Полнота экстракции демонстрируется приготовлением растворов образцов, как указано в методе, и параметры экстракции варьируются (время ультразвуковой обработки и время встряхивания).

Каждый тест выполняется на 3-х отдельно приготовленных образцах, и сравниваются средние результаты. Если разность между средними результатами каждого из тестов  $<4.0\%$ , это доказывает полную, воспроизводимую экстракцию действующего вещества в данных условиях.

Примечание: если в методе есть этап центрифугирования, то он тоже валидируется варьированием времени центрифугирования.

В) Также всегда валидируется влияние различных видов фильтров, применяемых для приготовления раствора образца т.е. демонстрируется, что нет существенных различий между анализом, выполненным с использованием вида фильтров, указанных в методе, с другим близким видом фильтров.

Сравнение средних результатов показывает, что фильтрация с использованием обоих видов фильтров дает эквивалентные результаты, если разность результатов между несколькими видами фильтров не превышает  $2.0\%$  [3], [4].

Надежность метода (Ruggedness) определяется степенью воспроизводимости результатов, полученных в различных лабораториях и выражается в % RSD (стандартное отклонение воспроизводимости). Эти условия включают требо-



вания к различным специалистам, приборам, лабораториям, реактивам и дням анализа. ICH рассматривает надежность как часть раздела «Прецизионность(Precision)»[5],[6].

#### **Стабильность (устойчивость во времени) растворов образцов и стандартных растворов**

Растворы образцов и стандартные растворы должны быть протестированы более, чем через 48 часов после приготовления при нормальных лабораторных условиях, и количественное определение компонентов должно быть выполнено в сравнении со свежеприготовленными растворами стандартных образцов.

Эти данные также необходимы, чтобы установить срок годности и условия хранения растворов стандартных образцов.

**Рекомендуемый критерий оценки для растворов образцов:** разность между количественным содержанием действующего вещества в день приготовления и после не менее 48 часов хранения (измеренная по отношению к свежеприготовленному раствору стандартного образца) не должна превышать 2%.

#### **Критерий оценки для растворов стандартных образцов:**

рассчитываются т.н. нормализованные сигналы (Normalized responses) для растворов стандартных образцов.

Нормализованный сигнал = средняя площадь пика для концентрации 1 мг/мл, деленная на 10000.

В случае УФ-спектроскопии также необходимо сравнивать нормализованный сигнал, то есть оптическую плотность раствора, приведённую к единичной концентрации.

Это может быть мг/мл или 1 моль/литр или любая другая. Даже постоянство оптической плотности, делённой на навеску и без учёта разведений (если они одинаковы во всех случаях) может свидетельствовать о стабильности раствора (или эквивалентности растворов, приготовленных в разное время и даже измеренных на разных спектрофотометрах.

Отношение нормализованных сигналов свежеприготовленных растворов стандартных образцов к нормализованным сигналам растворов стандартных образцов после не менее 48 часов хранения не должна превышать 2% [7], [8].

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. The United States Pharmacopoeia /The National Formulary XXVII./19. — 2004. — P. 2622—2625.
2. Производство лекарственных средств. Валидация. Основные положения: Методические указания. — М., 2001.
3. Validation of Analytical Procedures: Methodology. Recommended for Adoption at Step 4 of the ICN Process on 6 November 1996 by the ICN Steering Committee.
4. Guidelines for submitting samples and analytical data for method validation / US FDA. — Rockville, MD, Center for Drugs and Biologics Department of Health and Human Services, Feb. 1987.
5. Guidance for Industry. Analytical Procedure and Methods Validation // Draft Guidance. FDA, CDER, CBER. — August 2000.
6. ICH Q2A: Validation of Analytical Methods: Definitions and Terminology // Dir. 75/318/EEC. — 1994. — Nov.
7. Validation of compendial methods. General Chapter <1225>: United States Pharmacopoeia XXIII. — National Formulary, XVIII, Rockville, MD — The United States Pharmacopoeial Convention. — 1995. — P. 1710 — 1712.
8. Validation of compendial methods. General Chapter <1225>: United States Pharmacopoeia XXV. — National Formulary, XXV. — Rockville, MD. — The United States Pharmacopoeial Convention — 2002. — P. 2256-2259.

#### **Сведения об авторах:**

Кейтлин И.М., канд. фарм. наук, зав. лабораторией Запорожской областной государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств.

Мазулин А.В., д. фарм. наук, профессор, зав. каф. фармацевтической химии, технологии лекарственных форм, фармакогнозии ФПО Запорожского государственного медицинского университета.

Гречана Е. В., к.фарм.н., ассистент каф. фармакогнозии с курсом ботаники, Запорожского государственного медицинского университета.

**Адрес для переписки:** Кейтлин Илья Михайлович. 69050, г. Запорожье, ул. Складская, 4, Запорожская областная государственная инспекция по контролю качества лекарственных средств.

Тел. (061)-289-00-33. E-mail: Keytlin@list.ru