

ОБЕСПЕЧЕНИЕ  КАЧЕСТВА

ОК


ВАЛИДАЦИЯ

аналитических методик
для производителей лекарств

ВЭЖХ, ТСХ, титрование и ГЖХ
Обоснование референтных стандартов

Тесты пригодности системы,
перенос методов, ревалидация

Типовое руководство
предприятия по производству
лекарственных средств, подготовленное
Федеральным союзом фармпроизводителей Германии (ВАН)

 Litterra

Валидация аналитических методик для производителей лекарств

ВЭЖХ, ТСХ, титрование и ГЖХ
Обоснование референтных стандартов

Тесты пригодности системы,
перенос методов, ревалидация

Типовое руководство предприятия
по производству лекарственных средств, подготовленное
Федеральным союзом фармпроизводителей Германии (ВАН)

Перевод выполнен Ж.И. Аладышевой, О.Р. Спицким
Научная редакция В.В. Береговых



Москва

Издательство «Литтерра»

2008

Перевод с английского Ж.И. Аладышевой, О.Р. Спицкого

- Валидация аналитических методик для производителей лекарств:**
В15 Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / Под редакцией В.В. Береговых — М.: Литтерра, 2008. — 132 с.; 5 с. цвет. вкл.: ил. — (Обеспечение качества).

ISBN 978-5-98216-120-8

В системе обеспечения качества фармацевтической продукции важную роль играет аналитический контроль сырья, полупродуктов и продуктов. Аналитические методы начинают применяться на стадии разработки и испытания препаратов, технологий производства и продолжают использоваться при серийном выпуске фармацевтической продукции.

Процесс валидации является обязательным в практике качественного производства медицинской продукции и является важной частью системы обеспечения и контроля качества.

В руководстве представлен подробный план и критерии оценки параметров валидации, образцы рациональной документации, форма отчета о валидации. Дана информация о том, как организовать процесс и оптимизировать исследования, исходя из практического опыта и разумных соображений. Использование валидированных методик — это уверенность в достоверности результатов.

Настоящий справочник является аутентичным переводом книги «Validierung analytischer Verfahren der fiktiven Firma «Muster» für die Arzneimittel-Herstellung» (der Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller (BAH)), 2004.

УДК 615.07
ББК 52.8

ISBN 978-5-98216-120-8

© Der Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller (BAH), 2004
© Издание на русском языке, оформление, оригинал-макет.
ЗАО «Издательство «Литтерра», 2008

В серии брошюр ВАН «Обеспечение качества» вышли следующие 10 руководств или брошюр (в хронологическом порядке выхода в свет их первого издания):

- Das **Qualitätsmanagementhandbuch** der fiktiven Firma «Muster»
(*Типовое руководство по менеджменту качества*)
 - Первое издание, 1995;
 - Второе, переработанное издание, 1997;
 - Третье, просмотренное издание, 1998;
 - Четвертое, актуализированное издание, 2004.
- Standardverfahrensanweisungen (**SOPs**) der fiktiven Firma «Muster» für die Arzneimittel-Herstellung (**GMR-Bereich**)
(*Типовые стандартные операционные методики (СОП) для производителей лекарственных средств (область Правил GMP)*)
 - Первое издание, 1996.
- Handbuch **Computervalidierung** der fiktiven Firma «Muster»
(*Типовое руководство по валидации компьютерных систем*)
 - Первое издание, 1997.
- Handbuch **Qualifizierung und Prozessvalidierung** der fiktiven Firma «Muster»
(*Типовое руководство по квалификации и валидации процессов*)
 - Первое издание, 1998.
- Schema für eine **retrospektive Qualifizierung** einer Altanlage am Beispiel einer Blisterlinie
(*Схема ретроспективной квалификации старого оборудования на примере блистерной линии*)
 - Первое издание, 1999.
- SOP «Erstellung von **Prüfplänen für klinische Prüfungen**»
(*СОП «Составление планов контроля для клинических исследований»*)
 - Первое издание, 1998.
- SOP «**Monitoring klinischer Prüfungen**»
(*СОП «Мониторинг клинических исследований»*)
 - Первое издание, 1999.
- **Verträgehandbuch** der fiktiven Firma «Muster» (Lohnherstellungsvertrag für Arzneimittel, Medizinprodukte und für Lebensmittel; Lohnprüfungsvertrag für Arzneimittel; Qualitäts sicherungsvereinbarung Ausgangsstoffe)
(*Типовое руководство по составлению договоров (Договор о контрактном производстве лекарственных средств, медицинских продуктов и продуктов питания; Договор о контроле лекарственных средств по контракту; Соглашение об обеспечении качества исходных материалов)*)
 - Первое издание, 1999.
- Handbuch **Validierung analytischer Verfahren** der fiktiven Firma «Muster»
(*Типовое руководство «Валидация аналитических методик»*)
 - Первое издание, 2001.
- SOP «**Ablagesystem für Dokumente aus klinischen Prüfungen** und deren Archivierung»
(*СОП «Система хранения для документации по клиническим исследованиям и их архивации»*)
 - Первое издание, 2001.

Авторы

Dr. Jörg Amborn Engelhard Arzneimittel; Niederdorfelden	Dr. Michael Klein BioChem; Karlsruhe
Dr. Jens Andersch Apogepha Arzneimittel; Dresden	Dr. Ulrike Lotze Rhone-Poulenc Rorer; Koln
Dr. Ehrhard Anhalt Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller (BAH); Bonn	Dr. Sabine Lorenzen Queisser Pharma, Flensburg
Ulrich Braun-Neubrand <i>Anton Hübner; Ehrenkirchen</i>	Dr. Dirk Pamperin Apogepha Arzneimittel; Dresden
Dr. Ingmar Glöckl Bayer; Leverkusen	Uwe Schiemann Steiner Arzneimittel; Berlin
Gabriele Mühner Bayer; Bitterfeld	Dr. Udo Söker Schaper & Brimmer, Salzgitter
Dr. Peter von Hagel Temmler Pharma; Marburg	Carola Hovener Rottendorf Pharma; Ennigerloh
Dr. Petra Hermening Merck Produkte-Vertriebs-gesellschaft; Darmstadt	Priv.-Doz. Dr. Markus Veit LAT Dr. Tittel; Munchen
Dr. Guido Holzkamp Pharma-Zentrale; Herdecke	Dr. Corinna Volkmann-Jäger Merz Pharma, Frankfurt/Main

Содержание

Предисловие редактора русского издания	8
Предисловие	9
Введение	10
Термины и определения	12
Часть 1. Интерпретация руководств CPMР/ICH Q2A и Q2B по валидации аналитических методик	18
А. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)	18
1. Подлинность	18
1.1. Исходные материалы	19
1.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом	19
1.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья	19
1.2. Внутрипроизводственный контроль	21
1.3. Лекарственный препарат	21
1.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом	21
1.3.2. Из субстанции растительного происхождения	21
2. Количественное определение	28
2.1. Исходные материалы	29
2.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом	29
2.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья	32
2.2. Внутрипроизводственный контроль	33
2.3. Лекарственный препарат	33
2.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом	33
2.3.2. Из субстанции растительного происхождения	42
3. Примеси	51
3.1. Исходные материалы	51
3.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом	51
3.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья	52
3.2. Лекарственный препарат	52
3.2.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом	53
Б. Тонкослойная хроматография (ТСХ)	59
1. Подлинность	59
1.1. Исходные материалы	60
1.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом	60
1.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья	60
1.2. Внутрипроизводственный контроль	61
1.3. Лекарственный препарат	61
1.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом	61
1.3.2. Из субстанции растительного происхождения	62
2. Количественное определение	63
3. Примеси	63

4. Методики для работ по оценке стабильности	63
4.1. Исследование стабильности исследуемых веществ.....	64
4.1.1. Стабильность исследуемого вещества перед хроматографией (стабильность исходного раствора)	64
4.1.2. Стабильность анализируемого вещества во время хроматографии	64
4.2. ТСХ пластины.....	64
4.3. Температура и влажность.....	64
4.4. Подвижная фаза.....	65
4.5. Дериватизация	65
4.6. Другие факторы	65
В. Титрование	65
1. Количественное определение — исходные материалы	65
2. Количественное определение — лекарственный препарат	66
2.1. Специфичность	66
2.2. Линейность.....	66
2.3. Диапазон применения.....	70
2.4. Правильность.....	70
2.5. Прецизионность	72
2.5.1. Сходимость (повторяемость)	72
2.5.2. Промежуточная прецизионность	73
2.6. Робастность	74
2.7. Набор данных	74
Г. Газожидкостная хроматография (ГЖХ)	75
1. Подлинность	75
2. Количественное определение	75
2.1. Исходные вещества	75
2.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом	75
2.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья	75
2.2. Внутрипроизводственный контроль	75
2.3. Лекарственный препарат	76
2.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом	76
2.3.2. Из субстанции растительного происхождения.....	76
3. Остаточные растворители	85
3.1. Исходные материалы	86
3.2. Лекарственный препарат	86
3.2.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом	86
3.2.2. Из субстанции растительного происхождения.....	94
Часть 2. Использование и аттестация стандартных образцов при контроле качества лекарственных средств	95
1. Введение	95
2. Определения терминов / пояснения	96
2.1. Стандартный образец (референтный стандарт)	96

2.1.1. Первичный референтный стандарт	96
2.1.2. Фармакопейный стандартный образец	96
2.1.3. Рабочий стандартный образец	96
2.2. Стандартные материалы	96
2.3. Внутренний стандарт	97
3. Требования к стандартным образцам и их использованию	97
3.1. Первичные стандартные образцы	97
3.2. Фармакопейные стандартные образцы	99
3.3. Рабочие стандартные образцы	100
3.4. Стандартные образцы примесей	103
3.5. Стандартный образец лекарственного средства.....	104
3.6. Стандартный образец лекарственных препаратов	104
3.7. Стандартные образцы основных веществ в лекарственных средствах растительного происхождения	105
3.8. Стандартные образцы действующих веществ в лекарственных средствах растительного происхождения	105
3.9. Стандартные образцы примесей в лекарственных средствах растительного происхождения	105
3.10. Стандартные образцы, используемые для калибровки приборов ...	105
4. Подготовка или создание стандартных образцов	105
4.1. Первичные стандартные образцы и рабочие стандартные образцы	105
4.2. Хранение и повторное тестирование.....	106
Часть 3. Проверка пригодности аналитической системы, передача аналитических методик, ревалидация	107
1. Проверка пригодности системы	107
1.1. Общие положения	107
1.2. Порядок действий на примере ВЭЖХ и ГХ	107
1.2.1. Описание и возможности применения подходящих параметров	107
2. Передача (трансфер) аналитических методик	110
2.1. Общие положения	110
2.2. Проведение.....	110
2.2.1. Распределение ответственности.....	110
2.2.2. Подготовка	111
2.2.3. Проведение мероприятий, включенных в план передачи	112
2.2.4. Архивация.....	113
3. Ревалидация	113
Приложение	115

Предисловие редактора русского издания

В Руководстве ICH «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2 (R1) представлено описание характеристик, необходимость оценки которых следует рассмотреть при валидации аналитических методик, включаемых в регистрационное досье, подаваемое в ЕС, Японию и США. Целью этого документа не является описать все испытания, которые могут потребоваться для регистрации лекарственного средства или для его экспорта в другие регионы мира. Более того, настоящий документ представляет собой собрание терминов и определений и не предназначен для описания рекомендаций по проведению валидации. Включенные в руководство термины и определения должны исключить разницу понятий, часто присутствующих в различных рекомендациях регуляторных органов ЕС, Японии и США.

Целью валидации аналитической методики является демонстрация пригодности для конкретного назначения. В документ включены таблицы характеристик, которые могут быть использованы для оценки методик идентификации, количественного определения и испытаний примеси.

Нормативные и методические документы в сфере GMP увязывают валидацию с критическими стадиями фармацевтического производства. В индустриально развитых странах в соответствии с регистрационными требованиями результаты ограниченного объема валидационных исследований должны включаться в заявку на допуск нового продукта в оборот. Отсюда следует, что к выявлению критических стадий необходимо приступить не только до начала серийного производства, но еще раньше — до составления регистрационного досье.

Отчасти определение критичности факторов может базироваться на опубликованных данных и (или) опыте предыдущих работ с аналогичными продуктами. Однако основной массив данных этого плана получают в результате целенаправленных сравнительных исследований с несколькими экспериментальными прописями и вариантами технологических процессов. При этом критические характеристики прописи и параметры процесса выявляются через оценку степени влияния их изменений на качественные характеристики лекарственного продукта.

В современной практике критические стадии фармацевтического производства определяются на этапе создания нового лекарственного продукта, получившем название фармацевтическая разработка. Следует отметить, что на данном этапе выполняются и другие важные работы, не связанные непосредственно с валидацией, но имеющие прямое отношение к правилам GMP и к процедуре регистрации продуктов. Однако на эту тему крайне мало публикаций в отечественной печати. В связи с этим представляется целесообразным публикация на русском языке руководства «Валидация аналитических методик», подготовленного Федеральным союзом фармпроизводителей Германии

Член-корр. РАМН, профессор,
Зав. кафедрой организации производства
и реализации лекарственных средств
ММА им. И.М. Сеченова



В.В. Береговых

Предисловие

Требования законодательства в отношении валидации аналитических методик и соответствующие разделы нормативных документов были отражены в полной мере еще в первом оригинальном издании (2001).

В настоящее издание руководства включены следующие дополнительные темы и вопросы:

- газовая (газожидкостная) хроматография (ГЖХ);
- применение (аттестация и использование) стандартных образцов в контроле лекарственных средств;
- проверки (тесты) пригодности аналитической системы, передача аналитических методик, повторная валидация;
- примеры допустимых критериев (норм) при валидации методик с различными методами определения (в расширенном приложении).

Авторы тщательно переработали текст первого издания, включили дополнительные комментарии в соответствии со своими представлениями и накопленным опытом.

Авторы надеются, что данное руководство даст новые идеи и дополнительные представления о проведении на предприятии валидации аналитических методик, обосновании использования стандартов, а также при выполнении проверок пригодности аналитической системы или передаче аналитических методик.

Авторы надеются на получение предложений и комментариев, которые будут учтены соответствующим образом в будущих изданиях.

Особая благодарность г-же Катрин Колль за подготовку иллюстративного материала и за поддержку при переработке раздела «Тонкослойная хроматография», а также г-ну Йоргу Виттигу за его увлекательные дискуссии и поддержку при получении ВЭЖХ-хроматограмм лекарственных средств из лекарственного растительного сырья.

Федеральный союз фармпроизводителей Германии (ВАН),

Бонн

Введение

Руководства ICH или CPMP¹ — «Содержание валидации аналитических методик» (CPMP/ICH/381/95; Документ ICH Q2A) и «Валидация аналитических методик: методология» (CPMP/ICH/281/95; Документ ICH Q2B) — содержат рекомендации и требования, которые должны быть изучены и учтены при валидации аналитических методик (Примеч. переводчика. — В ноябре 2005 г. оба эти руководства ICH были объединены в один документ Q2(R1) «Валидация аналитических методик: содержание и методология»).

В данном руководстве описаны подходы по практическому выполнению этих требований с учетом различных методов контроля — ВЭЖХ, ТСХ, титрование и ГЖХ — на примере работы виртуальной фирмы «Производитель».

Также при описании методик контроля по различным показателям качества (типы аналитических методик), например подлинности, количественному определению или примеси, более подробно рассматриваются различные валидационные характеристики, такие как специфичность, правильность, диапазон применения и др. При этом, в основном, можно использовать одну и ту же схему валидации для различных классов действующих веществ (химико-синтетических, полученных из биологического или растительного сырья). Приведены конкретные примеры.

При сохранении схемы валидации для различных методик объем окончательной валидации аналитических методик², включая требования к формату отчета о валидации или документации, на фирме «Производитель» устанавливается в валидационном плане. Пример такого плана приведен в Приложении к данному руководству (с. 115).

Результаты проведенных работ по валидации фиксируются и/или обобщаются в форме отчета о валидации.

С учетом данной системы документации в настоящем руководстве представлена методологическая схема, в соответствии с которой фирмой «Производитель» выполняются требования таблицы из Руководства CPMP «Валидация аналитических методик» (т.е. общей таблицы с валидационными характеристиками методики. — Примеч. переводчика).

¹ Сокращения:

ICH — Международная конференция по гармонизации технических требований по регистрации лекарственных средств (International Conference on Harmonization). Гармонизация в рамках ICH включает ЕС, Японию и США.

CPMP — Комитет по патентованным медицинским средствам (Committee on Proprietary Medicinal Products). Специализированный совет с многочисленными рабочими группами, которые разрабатывают руководство по оценке качества, безопасности при применении (фармакотоксикологические испытания) и эффективности (клинические испытания) лекарственных средств.

EMA — Европейское агентство по оценке средств медицинского применения (European Medicines Evaluation Agency) — европейский контрольно-разрешительный орган со штаб-квартирой в Лондоне. Определенные лекарственные средства, которые производят, например, биотехнологическими методами или представляют собой оригинальные новые препараты, должны пройти регистрацию в рамках централизованной методики с участием EMA для продажи в государствах ЕС.

² В данном руководстве при валидации аналитических методик наряду с аналитической методикой требуется также провалидировать сопутствующие стадии, такие как пробоподготовка.

Официальные методы (например, фармакопейные) исключены фирмой «Производитель» из представленного порядка проведения валидации аналитических методик. Для таких методик порядок валидации устанавливается по усмотрению руководителя отдела контроля качества, при этом учитываются специфические для каждого случая условия.

Повторная валидация (ревалидация) проводится фирмой «Производитель» не через заданные интервалы времени. В представленном руководстве изложены основные принципы проведения работ по ревалидации аналитических методик на фирме «Производитель». В настоящее время авторы предусматривают разработку подробного описания этих работ.

Термины и определения

При валидации аналитических методик фирма «Производитель» использует определения терминов, приведенные в Руководстве ICH Q2A и Q2B¹, а также Q3A(R)² и Q3B(R)³. Не вошедшие в них термины и соответствующие определения приведены далее (*Примеч. переводчика*. — Для удобства читателя мы в этом разделе приводим словарь процитированных руководств ICH).

Аналитическая методика. Аналитические методики описывают наряду с используемым аналитическим методом сопутствующие стадии, такие как подготовка проб или приготовление реагентов.

Аналитический метод (ВЭЖХ, ГЖХ, ТСХ и т.д.) определяет сам принцип проведения испытания.

Рабочий стандартный образец. Определение различных типов стандартных образцов приведено в «Часть 2. Использование и аттестация стандартных образцов», раздел «2. Определение терминов/пояснения» (с. 96).

Готовый продукт (*Примеч. переводчика*. — Так как в руководстве ВАН определение готового продукта отсутствует, мы приводим определение Американской фармакопеи для термина «готовый продукт» (finished product, drug product, dosage form) — лекарственный препарат, содержащий одну или несколько фармацевтических субстанций, как правило, вместе со вспомогательными веществами).

Готовая лекарственная форма (*Примеч. переводчика*. — Так как в руководстве ВАН определение готового продукта отсутствует, мы приводим определение ОСТ 91.500.05.001-00 «Лекарственная форма — придаваемое лекарственному средству или лекарственному растительному сырью удобное для применения состояние, при котором достигается необходимый лечебный эффект» и руководства ICH M5 «Лекарственная форма — физический объект, содержащий активные и/или неактивные ингредиенты, который доставляет в организм дозу медицинского продукта»).

Стандартные материалы. Определение приведено в «Часть 2. Использование и аттестация стандартных образцов», раздел «2. Определение терминов/пояснения» (с. 96).

Стандартный образец. Определение различных типов стандартных образцов приведено в «Часть 2. Использование и аттестация стандартных образцов», раздел «2. Определение терминов/пояснения» (с. 96).

Специфичность. Фирма «Производитель» использует термин «специфичность» в соответствии с Руководством ICH Q2A, несмотря на то что, например, в IUPAC в настоящее время обсуждается вопрос о замене этого термина на термин «селективность». В предварительных рекомендациях IUPAC «Селективность в аналитической химии» (проект от 27. 02. 2001 г.) уточняется различие

между обоими терминами следующим образом: «Специфичность является предельным случаем селективности».

Определения, использующиеся в руководствах ICH¹

Термины руководства «Валидация аналитических методик: содержание и методология» Q2(R1) (ноябрь 2005 г.)

Аналитическая методика (analytical procedure). Этот термин означает порядок выполнения испытания. Она должна в деталях описывать все необходимые действия по выполнению испытания. Это может включать, но не ограничиваться описанием приготовления испытуемого образца, стандартного образца и реактивов, использования оборудования, получения калибровочной кривой, использования формул для расчета и т. д.

Специфичность (specificity) — это способность методики безусловно определять анализируемое вещество в присутствии компонентов, которые могут быть в пробе. Как правило, ими являются примеси, продукты распада, плацебо и т. д.

Отсутствие специфичности у отдельной аналитической методики может быть компенсировано использованием другой дополнительной аналитической методики.

Это определение имеет следующие приложения:

- проверка подлинности (обеспечить подлинность анализируемого вещества);
- испытания на чистоту (обеспечить, что выполненные аналитические методики позволяют правильно определить содержание примесей, т. е. родственных примесей, тяжелых металлов, остаточных растворителей и т. д.);
- количественное определение (обеспечить точность измерения при определении содержания/активности анализируемого вещества в пробе).

Правильность (accuracy). Правильность аналитической методики определяет степень близости между известным истинным значением или принятой справочной величиной и значением, полученным по данной методике. Иногда употребляется термин «истинность» (trueness).

Прецизионность (precision). Прецизионность аналитической методики выражает степень близости (степень дисперсии) между сериями измерений, полученных при параллельных измерениях одного однородного образца, в установленных условиях. Прецизионность может исследоваться на следующих уровнях: повторяемость, промежуточная прецизионность и воспроизводимость.

Прецизионность должна оцениваться на однородных аутентичных образцах. Однако если невозможно получить однородный образец, она может определяться с использованием специально приготовленных образцов или испытуемых растворов.

Прецизионность аналитической методики обычно выражается как дисперсия, стандартное отклонение или коэффициент вариабельности серий результатов измерений.

¹ Приведены переводчиком.

¹ Точное название этих руководств см. во Введении на с. 10.

² Руководство по оценке примесей: примеси в новых фармацевтических субстанциях (пересмотренное), выпущено СРМР/ICH/2737/99; утверждено СРМР в феврале 2002 г.

³ Руководство по оценке примесей в новых лекарственных препаратах (пересмотренное руководство), выпущено СРМР/ICH/2738/99; утверждено СРМР в феврале 2003 г.

Повторяемость (repeatability) выражает прецизионность методики при ее выполнении в одних и тех же условиях в течение короткого интервала времени. Повторяемость также называют внутренней прецизионностью (intra-assay precision).

Промежуточная прецизионность (intermediate precision) выражает внутрилабораторную изменчивость: разные дни, разные аналитики, разное оборудование и т. д.

Воспроизводимость (reproducibility) выражает межлабораторную прецизионность (межлабораторные испытания, часто используемые для стандартизации методологии испытания).

Предел обнаружения (detection limit). Предел обнаружения отдельной аналитической методики представляет собой наименьшее количество анализируемого вещества в пробе, которое может быть обнаружено, но не обязательно выражено точным значением.

Предел количественного обнаружения (quantitation limit). Предел количественного обнаружения отдельной аналитической методики представляет собой наименьшее количество анализируемого вещества в пробе, которое может быть оценено количественно с приемлемой правильностью и прецизионностью. Предел количественного обнаружения является параметром методик определения количественного содержания компонентов, присутствующих в образце плацебо (т. е. все вещества, кроме действующего вещества. — *Примеч. переводчика*) в низких концентрациях, и в частности, используется для характеристики методик определения примесей и/или продуктов деградации.

Линейность (linearity). Линейность аналитической методики — это способность методики (в пределах определенного диапазона) получать результаты, которые прямо пропорциональны концентрациям (количеству) вещества в пробе.

Диапазон применения (range). Диапазон применения аналитической методики — это интервал между верхним и нижним значениями концентрации (количества) анализируемого компонента в пробе (включая эти значения), в рамках которого доказана приемлемая прецизионность, правильность и линейность методики.

Робастность (robustness). Робастность аналитической методики — это измерение ее способности оставаться неизменной при небольших, намеренных изменениях условий проведения испытания и показывает надежность методики при обычном использовании.

Термины руководства «Примеси в новых фармацевтических субстанциях» Q3A(R2) (версия от 25 10 2006г.)

Исследования химической разработки (chemical development) — исследования, проведенные по масштабированию, оптимизации и валидации процесса производства новой фармацевтической субстанции

Энантиомерная примесь (enantiomeric impurity) — соединение с такой же молекулярной примесью, что и фармацевтическая субстанция, отличающееся пространственным расположением атомов в молекуле и представляющее собой несовпадающее зеркальное отражение молекулы субстанции.

Чужеродная примесь (extraneous contaminant) — примесь, возникающая из любого постороннего для процесса производства источника.

Препараты растительного происхождения (herbal products) — медицинские средства, содержащие в качестве активных компонентов исключительно растительное сырье или препараты из растительного сырья. В некоторых традиционных препаратах также могут присутствовать неорганические вещества или материалы животного происхождения.

Идентифицируемая примесь (identified impurity) — примесь, для которой была получена характеристика структуры.

Предел идентификации (identification threshold) — предел, выше (>) которого примесь должна быть идентифицирована.

Примесь (impurity) — любой компонент новой фармацевтической субстанции, который не является химической молекулой, определенной как новая фармацевтическая субстанция.

Профиль примесей (impurity profile) — описание идентифицируемых и неидентифицируемых примесей, присутствующих в новой фармацевтической субстанции.

Полупродукт (intermediate) — вещество, образующееся на стадиях синтеза новой фармацевтической субстанции, которое подвергается дальнейшим химическим трансформациям, прежде чем превратится в новую фармацевтическую субстанцию.

Лиганд (ligand) — вещество (агент) с сильным сродством к ионам металлов.

Новая фармацевтическая субстанция (new pharmaceutical substance) — терапевтически активная молекула, которая ранее не была зарегистрирована в регионе или государстве — члене организации. (Так же называется новое молекулярное соединение или новая химическая структура.) Она может быть сложным или простым эфиром или солью ранее зарегистрированной фармацевтической субстанции.

Полиморфные формы (polymorphic forms) — различные кристаллические формы одной субстанции. К ним относятся продукты сольватации или гидратации (так же называются псевдополиморфные формы) и аморфные формы.

Потенциальная (возможная) примесь (potential impurity) — примесь, которая теоретически может образоваться в процессе производства или хранения. Она может реально появиться или не появиться в новой фармацевтической субстанции.

Нормирование (qualification) — процесс получения и оценки данных, в котором устанавливают биологическую безопасность индивидуальной примеси или определенного профиля примесей на уровне(-ях), указанном(-ых) в спецификации.

Предел нормирования (qualification threshold) — предел, при содержании выше которого (>) примесь должна быть квалифицирована.

Реагент (reagent) — вещество, используемое в производстве новой фармацевтической субстанции, и отличное от исходных материалов, полупродуктов и растворителей.

Контролируемый предел (reporting threshold) — предел, при содержании выше (>) которого примесь должна контролироваться. Контролируемый предел означает то же самое, что и предел содержания (reporting level) в руководстве ICH Q2B.

Растворитель (solvent) — неорганическая или органическая жидкость, используемая в качестве среды для приготовления растворов или суспензий при синтезе новой фармацевтической субстанции.

Контролируемая примесь (specified impurity) — примесь, которая указана в спецификации на новую фармацевтическую субстанцию с установленными пределами содержания. Контролируемая примесь может быть идентифицируемой и неидентифицируемой.

Исходное сырье (starting material) — вещество, используемое в синтезе новой фармацевтической субстанции и встраиваемое в структуру полупродукта и/или новой фармацевтической субстанции. Исходное сырье, как правило, имеется в коммерческой продаже, структура, химические и физические характеристики описаны.

Неидентифицируемая примесь (unidentified impurity) — примесь с неустановленными характеристиками структуры, которая определяется исключительно по качественным аналитическим параметрам (например, время удерживания на хроматограмме).

Неконтролируемая примесь (unspecified impurity) — примесь, содержание которой ограничено общими критериями приемлемости, не указанная в спецификации на новую фармацевтическую субстанцию индивидуально с пределами содержания.

Термины Руководства «Примеси в новых лекарственных препаратах» Q3B(R2) (версия от 02.06.2006 г.)

Продукт деградации (degradation product) — примесь, образующаяся в результате химического изменения в фармацевтической субстанции, произошедшего в течение производства или хранения нового лекарственного препарата вследствие, например, воздействия света, температуры, влаги и/или при взаимодействии со вспомогательными веществами и/или первичной упаковки.

Профиль деградации (degradation profile) — описание продуктов деградации, найденных в фармацевтической субстанции или препарате.

Исследования по разработке (development studies) — исследования, проводимые для масштабирования, оптимизации и валидации процесса производства нового лекарственного препарата.

Предел идентификации (identification threshold) — предел, выше (>) которого продукт деградации должен быть идентифицирован.

Идентифицируемый продукт деградации (identified degradation product) — продукт деградации, для которого была установлена структурная характеристика.

Примесь (impurity) — любой компонент нового фармацевтического препарата, который не является фармацевтической субстанцией или вспомогательным веществом.

Профиль примесей (impurity profile) — описание идентифицируемых и неидентифицируемых примесей, присутствующих в лекарственном препарате.

Новая фармацевтическая субстанция (new pharmaceutical substance) — терапевтически активная молекула, которая ранее не была зарегистрирована в регионе или государстве — члене организации. (Так же называется новое молекулярное соединение или новая химическая структура.) Она может быть сложным или простым эфиром или солью ранее зарегистрированной фармацевтической субстанции.

Нормирование (qualification) — процесс получения и оценки данных, в котором устанавливаются биологическую безопасность индивидуальной примеси или определенного профиля примесей на уровне(-ях), указанном(-ых) в спецификации.

Предел нормирования (qualification threshold) — предел, при содержании выше (>) которого примесь должна быть квалифицирована.

Контролируемый предел (reporting threshold) — предел, при содержании выше (>) которого примесь должна контролироваться.

Контролируемый продукт деградации (specified degradation product) — продукт деградации, который указан в спецификации с установленными пределами содержания. Контролируемый продукт деградации может быть идентифицируемым и неидентифицируемым.

Неидентифицируемый продукт деградации (unidentified degradation product) — продукт деградации с неустановленными характеристиками структуры, который определяется исключительно по качественным аналитическим параметрам (например, по хроматографическому времени удерживания).

Неконтролируемый продукт деградации (unspecified degradation product) — продукт деградации, содержание которого ограничено общими критериями приемлемости, не указанный отдельно в спецификации на новый фармацевтический препарат.

Часть 1. Интерпретация руководств CPMP/ICH Q2A и Q2B по валидации аналитических методик

А. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

1. Подлинность

В упомянутом во введении Руководстве ICH Q2A приведена таблица, в которой перечислены важные валидационные характеристики для разных типов аналитических методик в зависимости от их назначения. Требования для методик проведению испытаний по показателю «Подлинность», приведены в таблице:

Характеристики	Тип аналитической методики. Подлинность
Правильность	—
Прецизионность: - повторяемость (сходимость) - внутрилабораторная	— —
Специфичность*	+
Предел обнаружения	—
Предел количественного обнаружения	—
Линейность	—
Диапазон применения	—

Примечание:

* Недостаточная специфичность аналитической методики может быть компенсирована другими вспомогательными аналитическими методиками.

«-» — указывает на то, что эта характеристика обычно не оценивается.

«+» — указывает на то, что эта характеристика обычно оценивается.

Критерии приемлемости для указанных валидационных характеристик устанавливаются в соответствующем валидационном плане фирмы «Производитель» (пример возможных критериев приемлемости см. в Приложении, с. 115).

1.1. Исходные материалы

1.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом

Специфичность аналитической методики подтверждается путем доказательства того, что:

- действующее вещество (фармацевтическая субстанция) достоверно выявляется в присутствии примесей;
- подлинность действующего вещества достоверно подтверждается с помощью стандартного образца с известной и установленной структурой путем сравнения времен удерживания, а также сравнения спектров на разных длинах волн.

Требуемые для оценки данного показателя хроматограммы, как правило, получают в рамках проведения испытаний на чистоту и/или количественного определения (см. раздел А. 2.3, с. 33—51).

1.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья¹

Примеч. переводчика. — В Европейском союзе (CPMP/QWP/2819/00Rev.1 (EMA/CVMP/814/00 Rev.1) от 30.03.2006 г. Руководство по качеству медицинских препаратов из растительного лекарственного сырья/традиционных препаратов из лекарственного растительного сырья все субстанции/препараты из лекарственного растительного сырья в зависимости от спецификаций и технологического процесса разделяют на три основных типа:

- стандартизированные субстанции/лекарственные препараты, характеризующиеся определенным (стандартным) содержанием веществ с установленным терапевтическим действием и приемлемой переносимостью; стандартизация проводится путем смешения субстанций/препаратов со вспомогательными веществами или смешением различных серий субстанций и/или препаратов. Нормы для количественного определения приводятся в виде диапазона, соответствующего определенному количеству действующих веществ, с установленной терапевтической активностью;
- количественно охарактеризованные субстанции/лекарственные препараты характеризуются определенным (стандартным) диапазоном содержащихся веществ (действующие маркеры); стандартизация достигается исключительно путем смешивания серий субстанций и/или препаратов. Нормы для количественного содержания указываются как четко определенное содержание выбранных для характеристики веществ;
- прочие субстанции/препараты представляют собой действующие вещества, для которых не установлена терапевтическая активность или не выбран маркер. Эти препараты не стандартизованы по отношению к

¹ На фирме «Производитель» в качестве исходных материалов растительного происхождения используются экстракты. Приведенные далее методы валидации могут быть также использованы и при оценке методик для других лекарственных веществ.

определенному содержанию аналитического маркера. Количество субстанции или оригинального препарата указывается как определяемое содержание.

Стандартизированный экстракт

Специфичность аналитической методики подтверждается наличием доказательств того, что:

- содержащееся в экстракте действующее вещество достоверно определяется в присутствии сопутствующих (родственных) и/или вспомогательных веществ;
- подлинность определяемого действующего вещества доказана при помощи соответствующего стандартного образца с известной и установленной структурой путем сравнения как времен удерживания, так и спектров в разных длинах волн.

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы экстракта с хроматограммой(-ами) стандартного образца и аутентичного экстракта или лекарственного материала, подлинность которых доказана, а также (при необходимости) используемых при производстве экстракта вспомогательных веществ. В качестве аутентичного экстракта может быть использована серия экстракта, которая в полном объеме соответствует установленной спецификации.

Количественно охарактеризованный экстракт

Специфичность методики подтверждается наличием доказательств того, что:

- содержащиеся в экстракте характеристические компоненты достоверно определяются в присутствии сопутствующих (родственных) и/или вспомогательных веществ;
- подлинность определяемого(-ых) характеристического(-их) компонента(-ов) доказана при помощи соответствующих референтных стандартов с известной и установленной структурой путем сравнения как времен удерживания, так и спектров в разных длинах волн.

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы экстракта с хроматограммой(-ами) стандартного(-ых) образца(-ов) и аутентичного экстракта¹ или лекарственного материала, подлинность которых доказана, а также (при необходимости) используемых при производстве экстракта вспомогательных веществ.

Прочие (альтернативные) экстракты

Специфичность аналитической методики подтверждается доказательством того, что характеризующие экстракт ингредиенты (совокупный отпечаток) достоверно определяются присутствием в экстракте дополнительных веществ

¹ В англоязычной версии см. Замечания СРМР/СМРР к Рекомендациям по качеству растительных лекарственных средств (СРМР/СМРР/2819/00); там, например, в Разделе А. (Примеч. переводчика. — В 2006 г. цитируемый документ заменен на Руководство СРМР/СМРР/2819/00Rev.1 (ЕМЕА/СМРР/814/00 Rev.1) от 30.03.2006 г. — см. ранее сделанное примечание).

и/или вспомогательных веществ. (Нет взаимного влияния отпечатка и добавок и/или вспомогательных веществ.)

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы экстракта с хроматограммами стандартного образца основного компонента и аутентичного экстракта или аутентичного лекарственного материала (профиль, время удерживания), а также (при необходимости) используемых при производстве экстракта вспомогательных веществ.

Хроматограммы, которые получают при проведении количественного определения, как правило, также могут быть использованы при проведении испытаний на подлинность (см. раздел 2).

Как показывает опыт, многокомпонентность хроматограммы исключает вероятность перепутывания испытуемой смеси с другими веществами при соблюдении установленных в методике специальных условий испытаний; следовательно, вышеприведенное сравнение будет являться достаточным критерием подлинности (см. также методы ТСХ и ГЖХ в фармакопейных статьях).

1.2. Внутрипроизводственный контроль

Фирма «Производитель» не использует высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) для анализа подлинности при проведении внутрипроизводственного контроля (ВПК).

1.3. Лекарственный препарат

1.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом

Специфичность аналитической методики подтверждается путем доказательства того, что подлинность действующего вещества определена с помощью стандартного образца с известной или доказанной структурой (первичный или рабочий стандарт) путем сравнения как времен удерживания, так и спектров на разных длинах волн.

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы лекарственного препарата с хроматограммой плацебо (смесь всех компонентов без активной субстанции) и/или стандартного образца действующего вещества или образца, в который добавлен стандартный образец действующего вещества. (Сравнение спектров на разных длинах волн в этом случае невозможно.)

1.3.2. Из субстанции растительного происхождения

Ср. также примечание в разделе 1.1.2 (с. 19).

1.3.2.1. Лекарственный препарат из стандартизированного экстракта¹

Специфичность аналитической методики подтверждается путем доказательства того, что:

- все вспомогательные вещества, используемые при изготовлении лекарственного препарата, при указанных условиях хроматографирования или

¹ Например, экстракт плодов сенны.

не дают никакого пика, или дают пики, отчетливо отличающиеся от пиков определяемого вещества;

- действующее вещество, содержащееся в экстракте, четко определяется в присутствии в экстракте других веществ;
- подлинность определяемого действующего вещества доказана с помощью какого-либо стандартного образца с известной или доказанной структурой, путем сравнения как времен удерживания, так и спектров на различных длинах волн.

Оценка специфичности методики определения наличия определенных компонентов экстракта в лекарственном препарате проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы с хроматограммой плацебо (смеси всех компонентов без экстракта) и/или аутентичного экстракта с доказанной подлинностью или смеси стандартных образцов. Примеры хроматограмм представлены на рис. 1—4.

1.3.2.2. Лекарственный препарат из количественно охарактеризованного экстракта¹

Специфичность методики подтверждается доказательством того, что:

- все вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственного препарата, при установленных условиях хроматографирования или не дают никакого пика, или дают пики, отчетливо отличающиеся от пиков определяемого характеристического компонента;

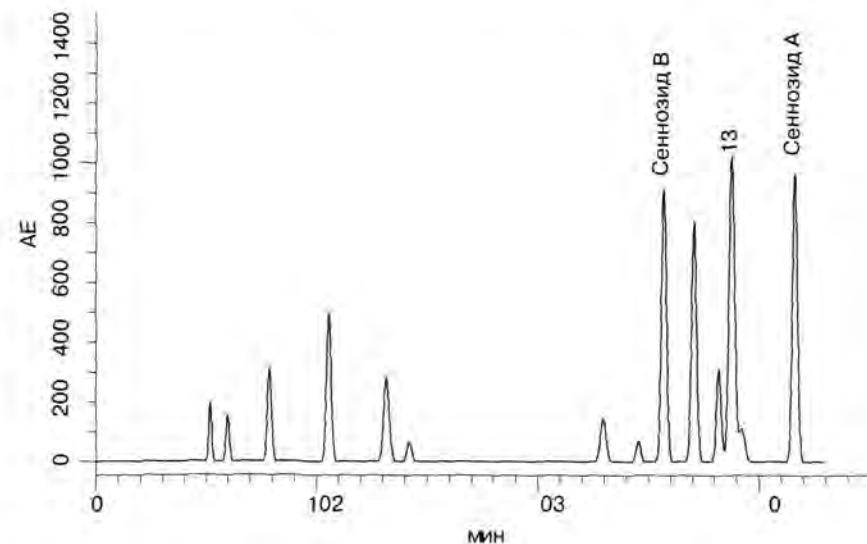


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма лекарственного препарата, содержащего в качестве действующего вещества экстракт из плодов сенны (длина волны детектирования 270 нм)

¹ Например, нафтодиантрон в зверобое.

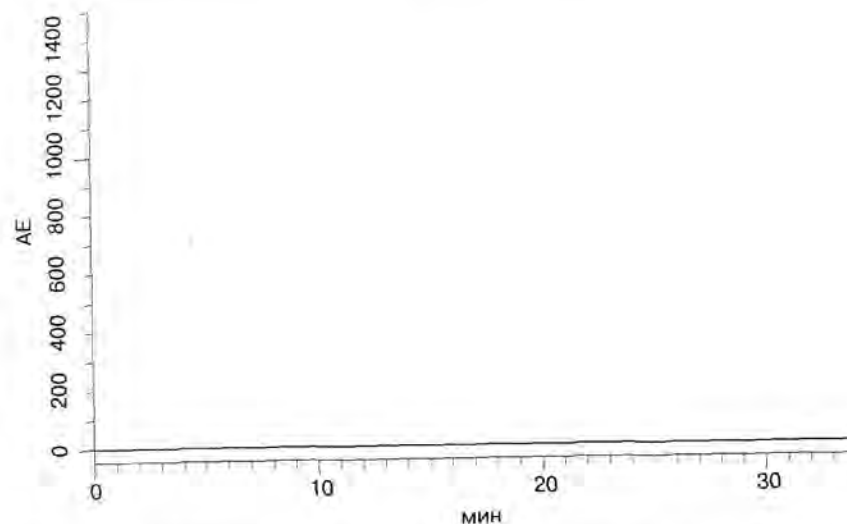


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограмма плацебо лекарственного препарата (длина волны детектирования 270 нм)

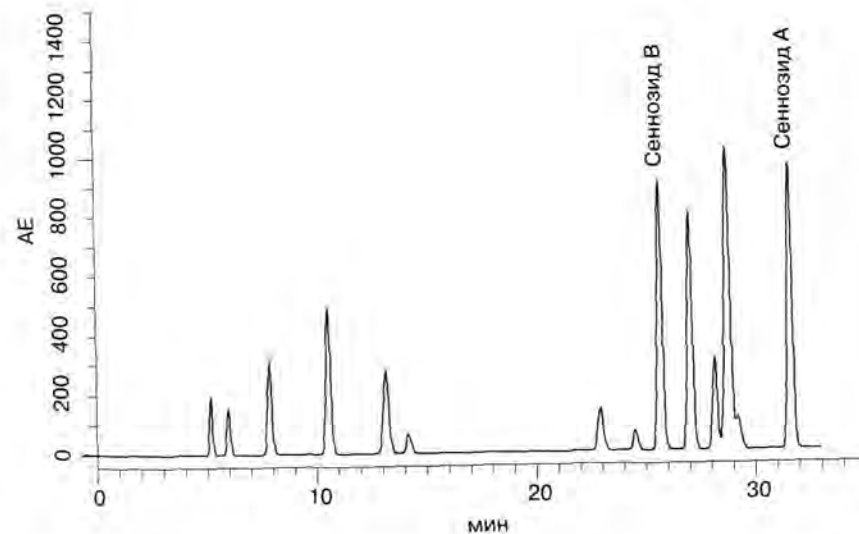


Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограмма экстракта с доказанной подлинностью (длина волны детектирования 270 нм)

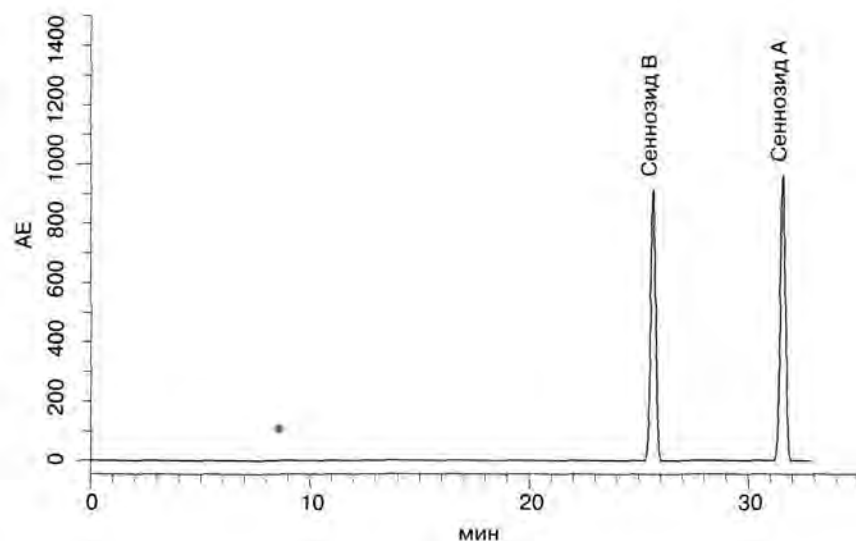


Рис. 4. ВЭЖХ-хроматограмма смеси стандартных образцов сеннозидов А и В (длина волны детектирования 270 нм)

- характеристический компонент, содержащийся в экстракте, четко определяется в присутствии имеющихся в экстракте веществ;
- подлинность определяемого характеристического компонента доказан при помощи какого-либо стандартного образца с известной или доказанной структурой путем сравнения времен удерживания и спектров на разных длинах волн. При отсутствии стандартных образцов подлинность определяемых характеристических компонентов может быть установлена по литературным данным.

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы лекарственного препарата с хроматограммой плацебо (смеси всех компонентов без экстракта) и экстракта с доказанной подлинностью или смеси стандартных образцов. При отсутствии стандартных образцов подлинность определяемых характеристических компонентов может быть установлена по литературным данным.

Примеры хроматограмм представлены на рис. 5 →

1.3.2.3. Лекарственный препарат из прочих (альтернативных) экстрактов¹

Специфичность методики подтверждается доказательством того, что:

- все вспомогательные вещества, использованные в производстве лекарственного препарата, при указанных условиях хроматографирования или

¹ Например, сухой экстракт листьев березы.

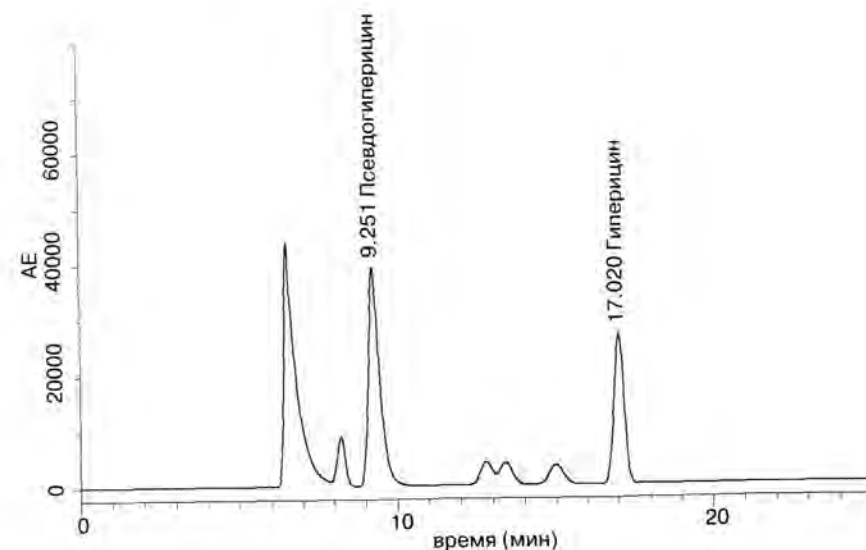


Рис. 5. ВЭЖХ-хроматограмма лекарственного препарата, содержащего экстракт зверобоя (длина волны детектирования 589 нм)

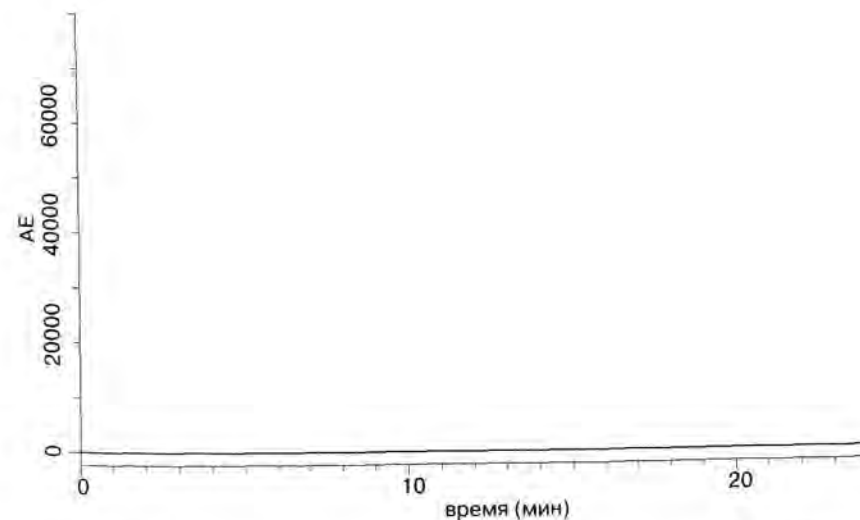


Рис. 6. ВЭЖХ-хроматограмма плацебо лекарственного препарата (длина волны детектирования 589 нм)

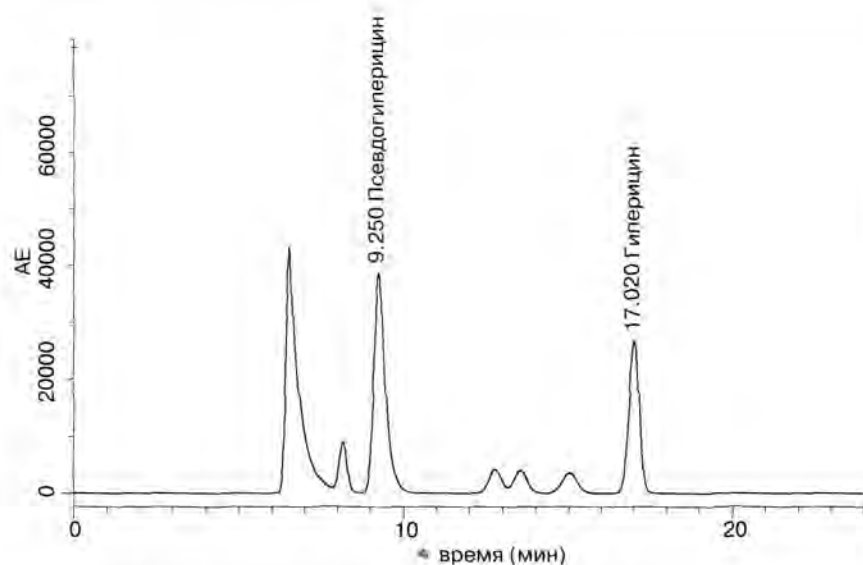


Рис. 7. ВЭЖХ-хроматограмма экстракта зверобоя (длина волны детектирования 589 нм)

не дают никакого пика, или дают пики, отчетливо отличающиеся от пиков экстракта;

- выбранное для целей идентификации вещество, содержащееся в экстракте, четко определяется в присутствии содержащихся в экстракте других веществ;
- подлинность выбранного для целей идентификации вещества доказана с использованием стандартного образца с известной или доказанной структурой путем сравнения времен удерживания и спектра в разных длинах волн. При отсутствии стандартных образцов подлинность определяемых выбранных компонентов может быть установлена по литературным данным.

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ВЭЖХ-хроматограммы лекарственного препарата с хроматограммой плацебо (смеси всех компонентов без экстракта) и/или экстракта с доказанной подлинностью или стандартного(-ых) образца(-ов)¹. При отсутствии стандартных образцов подлинность определяемых характеристических компонентов может быть установлена по литературным данным.

Примеры хроматограмм представлены на рис. 8—10.

Соответствующие хроматограммы получают, как правило, при валидации аналитических методик количественного определения. Если для методики количест-

¹ В случае многокомпонентности на типичной хроматограмме лекарственного препарата выбираются характеристические пики, на которые не оказывают влияние пики плацебо.

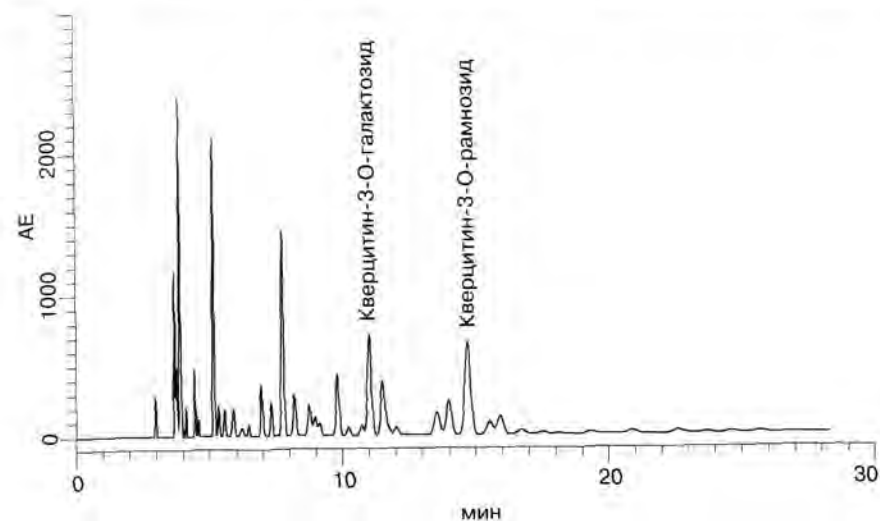


Рис. 8. ВЭЖХ-хроматограмма лекарственного препарата, содержащего сухой экстракт листьев березы (длина волны детектирования 260 нм)

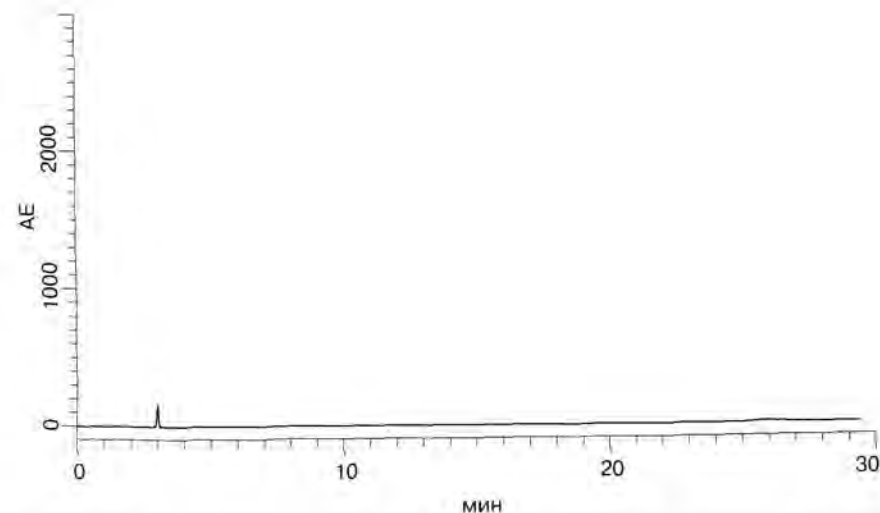


Рис. 9. ВЭЖХ-хроматограмма плацебо лекарственного препарата (на ней нет никаких пиков, кроме пика ввода) (длина волны детектирования 260 нм)

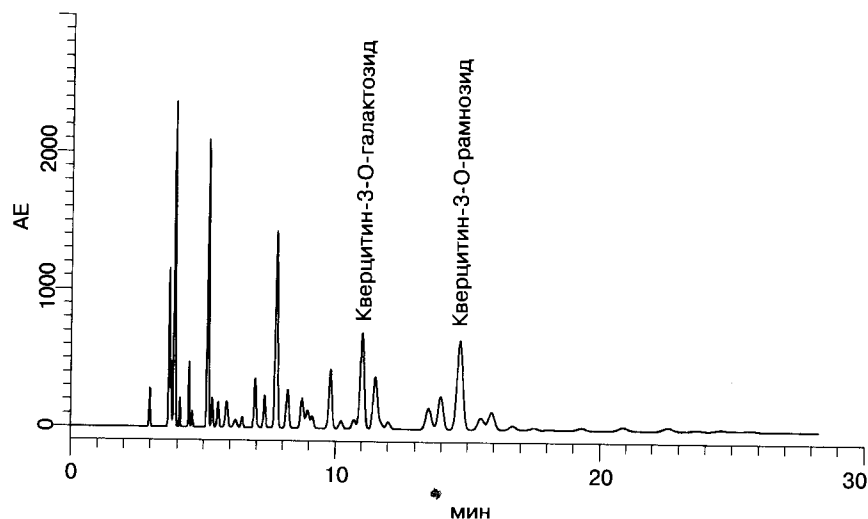


Рис. 10. ВЭЖХ-хроматограмма сухого экстракта листьев березы (длина волны детектирования 260 нм)

венного определения была доказана специфичность, то данная методика считается приемлемой для контроля подлинности как специфическая и наоборот.

2. Количественное определение

Для аналитической методики количественного определения, согласно сводной таблице СРМР или Руководству ICH Q2A, необходимо определить:

Характеристики	Тип аналитической методики: количественное определение
Правильность	+
Прецизионность:	
- повторяемость (сходимость)	+
- внутрилабораторная	+
Специфичность**	+
Предел обнаружения	-
Предел количественного определения	-
Линейность	+
Диапазон	+

Примечание:

- * В случаях подтверждения воспроизводимости методики оценка промежуточной прецизионности не требуется.
- ** Недостаточная специфичность аналитической методики может быть компенсирована другими вспомогательными аналитическими методиками.
- «-» — указывает на то, что эта характеристика обычно не оценивается.
- «+» — указывает на то, что эта характеристика обычно оценивается.

Критерии приемлемости для приведенных валидационных характеристик устанавливаются в соответствующем валидационном плане фирмы «Производитель»¹.

2.1. Исходные материалы

2.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом

а) Специфичность

Специфичность аналитической методики считается доказанной, если ни используемый растворитель, ни подвижная фаза, ни компоненты плацебо (например, растворитель для смеси витаминов или растворитель для масляных витаминных добавок), ни определенные примеси не искажают получаемый результат в пределах требуемой точности. Допускается неполное разрешение примесей, не оказывающих влияния на общую оценку качества исходного вещества. Если, например, побочный продукт синтеза определяется в количестве 0,1%, то он практически не будет влиять на результат количественного определения. Несмотря на это, в рамках общего контроля качества субстанции должен быть обеспечен требуемый уровень ее чистоты; другими словами, неотделяемые технологические примеси не должны превышать установленное предельное значение. Однако в случае отсутствия полного деления пиков примесей в условиях методики количественного определения для контроля чистоты субстанции требуется использование отдельной методики.

Специфичность методики доказывается путем получения хроматограммы субстанции, подвижной фазы, растворителя, плацебо, а также примесей. При отсутствии примесей могут использоваться хроматограммы из стрессовых экспериментов (т. е. из работ по оценке стабильности субстанции в стрессовых условиях. — Примеч. переводчика).

б) Линейность

Линейность аналитической методики доказана, если в выбранном диапазоне применения можно показать прямо пропорциональное соотношение между концентрацией исследуемого вещества в растворе и сигналом детектора (фактором отклика).

Линейность методики подтверждается в диапазоне концентраций от 80 до 120% действующего вещества в исследуемом растворе (на ряде разведений исходного раствора). При этом измеряется и анализируется как минимум 5 концентраций, причем значение для каждого анализа получается путем расчета среднего значения из нескольких инъекций (вколов).

Оценка проводится по наличию линейной зависимости между концентрацией вещества и сигналом с помощью подходящего регрессионного уравнения (например, полученного методом наименьших квадратов). Характеристики линейности методики выражаются в виде коэффициента корреляции, наклона прямых, а также величины отрезка на оси ординат. В качестве дополнительной информации для оценки линейности может быть приведено графическое представление и отклонение полученных значений от регрессионной прямой.

¹ Пример возможных критериев приемлемости см. в Приложении.

Если для рутинного контроля показателя «количественное определение» предусматривается калибровка по одной точке, то доверительный диапазон отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций от 10 до 120%. Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного контроля должно быть подобрано соответствующим образом.

в) Диапазон применения

Внутри заданного диапазона применения методики должны быть доказаны линейность, правильность и прецизионность. При количественном определении субстанции диапазон применения должен составлять 80—120% выбранной концентрации анализируемого вещества.

При наличии названных характеристик валидации дальнейшие исследования в рамках диапазона применения не требуются.

г) Правильность

Правильность аналитической методики количественного определения подтверждается на всем диапазоне применения. Для этого может быть использован один из описанных подходов:

- проводится не менее 9 измерений (независимые навески) как минимум 3 концентраций внутри определенного диапазона применения (например, 3 концентрации с соответствующим трехкратным повтором всей аналитической методики). Оценка проводится путем сравнения полученного результата с ожидаемым значением. Доверительный диапазон среднего значения должен включать 100% ожидаемого значения. Если при очень маленьком коэффициенте вариации (относительном стандартном отклонении) 100% значение не включается, фирма «Производитель» проводит оценку методики в рамках рассмотрения достоверности или путем сравнения результатов аналитической методики со вторым независимым и хорошо описанным методом (например, фармакопейные, ведомственные методы исследования по § 35 LMBG)¹. Оценка проводится с учетом статистических методов проверки гипотез (например F- и t- критерии);
- в соответствии с Руководством CPMP/ICH по валидации аналитических процедур Q2B (см. Введение, с. 10) правильность может быть так же определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны прецизионность, линейность и специфичность методики.

д) Прецизионность

Сходимость (повторяемость). Сходимость должна показать, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (как, например, один и тот же

ВЭЖХ-хроматограф, тот же самый лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи:

- анализа не менее 6 подготовленных проб при 100% концентрации фармацевтической субстанции в исследуемом растворе;
- анализа не менее 9 подготовленных проб в рамках диапазона применения этой методики (например, 3 концентрации, 3 повтора).

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного интервала. Критерий приемлемости для коэффициента вариации необходимо устанавливать в зависимости от предполагаемых возможных значений (например, границы нормы для содержания исходного вещества в спецификации). В зависимости от определенного коэффициента вариации и границ нормы в спецификации устанавливается число испытаний, необходимых для рутинного контроля каждой пробы.

Таблица 1. Отношение между количеством анализов и коэффициентом вариации для определения достоверного отклонения от заданного значения, $p = 95\%$ [по Гриму (1973)]

Число испытаний, n	Коэффициент вариации									
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	1,5	2	2,5	
1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	1,5	2	2,5	
2	0,9	1,80	2,70	3,60	4,5	9,0	13,5	18,0	22,5	
3	0,25	0,50	0,74	0,99	1,2	2,5	3,7	5,0	6,2	
4	0,16	0,32	0,48	0,64	0,8	1,6	2,4	3,2	4,0	
5	0,12	0,25	0,37	0,50	0,6	1,2	1,9	2,5	3,1	
6	0,10	0,21	0,31	0,42	0,5	1,0	1,6	2,1	2,6	
7	0,09	0,19	0,28	0,37	0,5	0,9	1,4	1,9	2,3	
8	0,08	0,17	0,25	0,34	0,4	0,8	1,3	1,7	2,1	
9	0,08	0,15	0,23	0,31	0,4	0,8	1,2	1,5	1,9	
10	0,07	0,14	0,21	0,29	0,4	0,7	1,1	1,4	1,8	

Пример: Если нормы количественного содержания действующего вещества в фармацевтической субстанции составляют $100 \pm 2\%$ и коэффициент вариации аналитической методики составляет 1,5%, то при количестве испытаний $n = 3$, не может быть принято статистически достоверное заключение о соответствии спецификации ($\pm 3,7\%$ статистически достоверное). Скорее всего, для этого должно быть проведено не менее $n = 5$ испытаний ($\pm 1,9\%$ статистической достоверности).

Литература:

Grimm W. Rationelle Stabilitätsprüfung von pharmazeutischen Zubereitungen. Pharm. Ind. 35, (2), 1973, S. 79—85.
Kromidas S. Validierung in der Analytik. Willey-VCH, 1999.

¹ В соответствии с п. 35 Закона о пищевых продуктах и других потребительских продуктах Германии (LMBG) ежегодно публикуется сборник официальных методик отбора проб и контроля пищевых продуктов, добавок табачных изделий, косметических средств и т. д. — Примеч. переводчика

Промежуточная прецизионность. С помощью промежуточной прецизионности должно быть показано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних обстоятельств при условии однородности исследуемой пробы.

При проведении валидации следует обеспечить учет всех обстоятельств для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, являются сотрудники, день проведения анализа и прибор ВЭЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, коэффициентов вариации и доверительных интервалов. Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики по результатам проверки достоверности данных. Наибольший коэффициент вариации (КВ) должен находиться в приемлемом диапазоне ($KB = 1—2\%$).

Составной частью проверки приемлемости данных могут быть также другие статистические оценки или проверки гипотез (например, F-критерий и t-критерий).

е) Робастность

Аналитическая методика считается робастной, если на достоверность получаемых результатов не влияют небольшие, специально внесенные в рамках проведения валидации изменения. Робастность методики проверяется фирмой «Производитель» в рамках фармацевтической разработки. При этом учитывают комплексность анализа и особенности анализируемого вещества. Специально измененными параметрами являются, например, температура термостата колонок, градиент, значение pH подвижной фазы, материал или серия колонки, тип прибора ВЭЖХ (например, другой детектор), хранение испытуемых и стандартных растворов (их стабильность), серия или поставщик фармацевтической субстанции. Эти данные включаются в валидационный отчет.

ж) Набор данных

На фирме «Производитель» валидационные характеристики (такие как линейность, правильность и прецизионность) могут определяться на одном и том же наборе данных и представляться отдельно.

При определении сходимости для корректного проведения F- и t-тестов необходимо отбирать пробы из однородного материала (совокупности).

2.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья

Методики ВЭЖХ для количественного определения в растительном сырье на фирме «Производитель» идентичны методикам для количественного определения в лекарственном препарате. Поэтому их валидация проводится в рамках валидации аналитических методик количественного определения для лекарственного препарата (см. подраздел 2.3.2, с. 42).

2.2. Внутрипроизводственный контроль

При необходимости проведения в рамках внутрипроизводственного контроля оценки показателя «количественное определение» для валидации данных методик применяют принципы валидации методики количественного определения в лекарственном препарате (см. раздел 2.3).

2.3. Лекарственный препарат

2.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом

а) Специфичность

Специфичность аналитической методики доказана, если ни используемый растворитель, ни подвижная фаза, ни компоненты матрикса (плацебо), ни примеси не искажают результат в пределах требуемой прецизионности (см. также подраздел 2.1.1, с. 29—32).

Специфичность методики доказывается путем получения хроматограммы действующего вещества, растворителя, плацебо и (при необходимости) подвижной фазы, а также отдельных примесей.

Должно быть показано, что на специфичность аналитической методики не влияет ни один из вышеназванных факторов.

Если, кроме того, эта методика также используется для исследований стабильности, необходимо проверить, не влияют ли на специфичность методики продукты деградации.

Пример: Нитрендипин с тремя известными примесями (рис. 11—17).

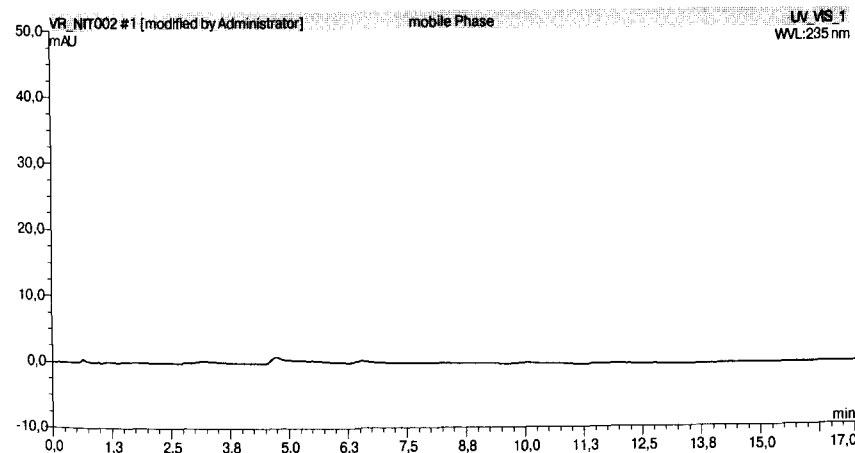


Рис. 11. ВЭЖХ-хроматограмма подвижной фазы

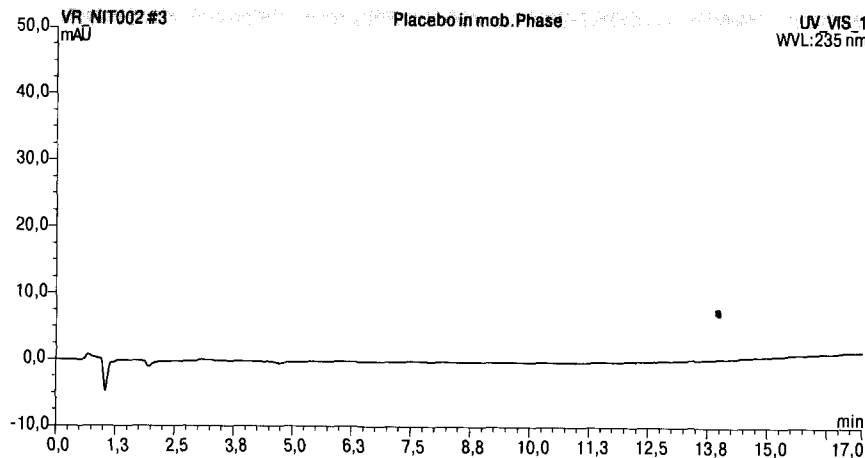


Рис. 12. ВЭЖХ-хроматограмма плацебо

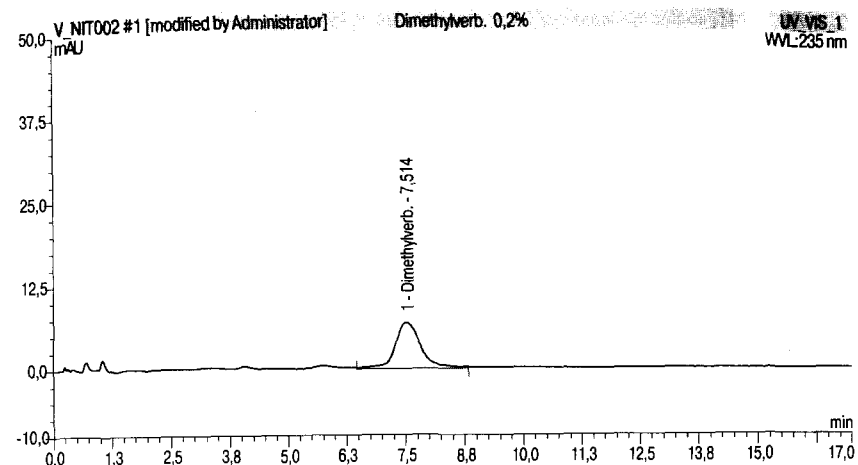


Рис. 14. ВЭЖХ-хроматограмма диметилпроизводного (примесь В: диметил-2,6-диметил-4-(3-нитрофенил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоксилат)

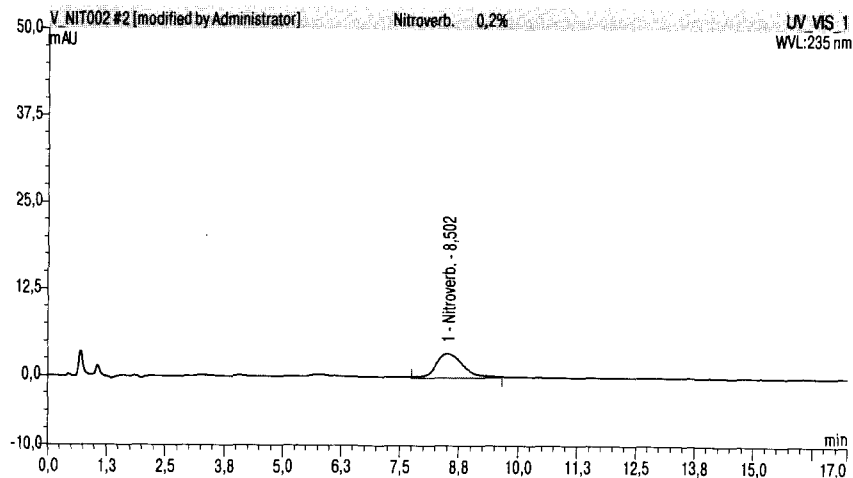


Рис. 13. ВЭЖХ-хроматограмма нитропроизводного (примесь А: этил-метил-2,6-диметил-4-(3-нитрофенил)-1,4-пиридин-3,5-дикарбоксилат)

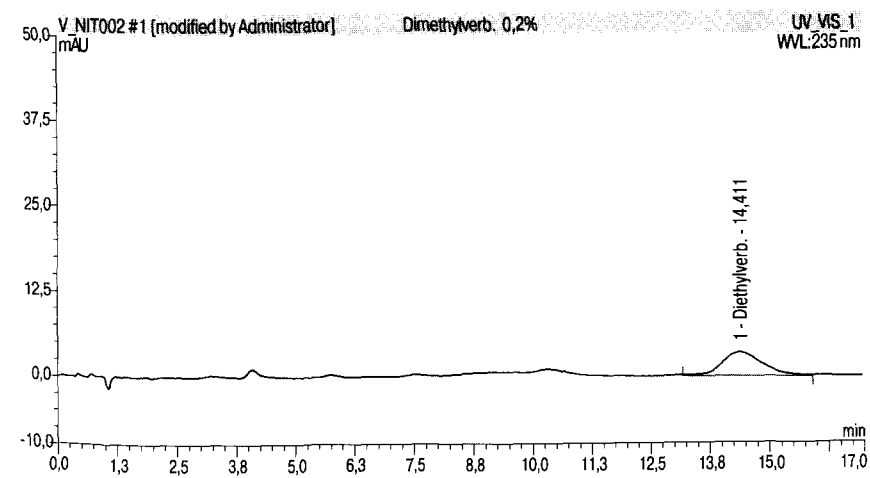


Рис. 15. ВЭЖХ-хроматограмма диэтилпроизводного (примесь С: диэтил-2,6-диметил-4-(3-нитрофенил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоксилат)

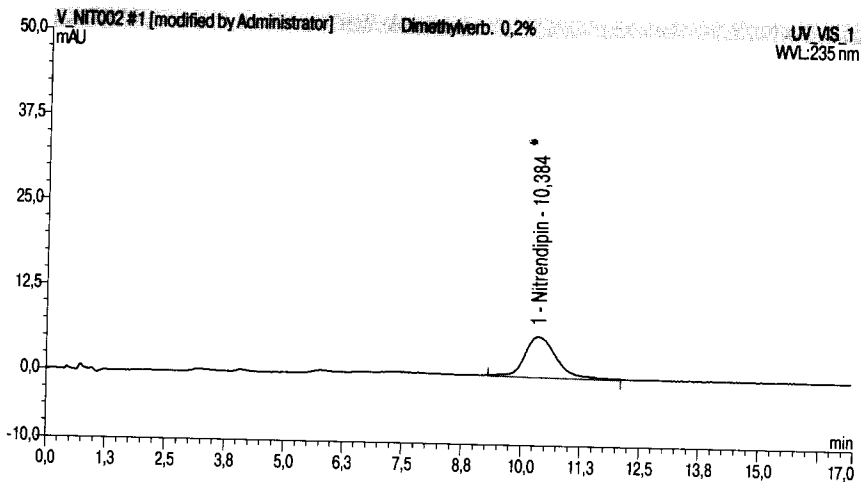


Рис. 16. ВЭЖХ-хроматограмма нитрендипина

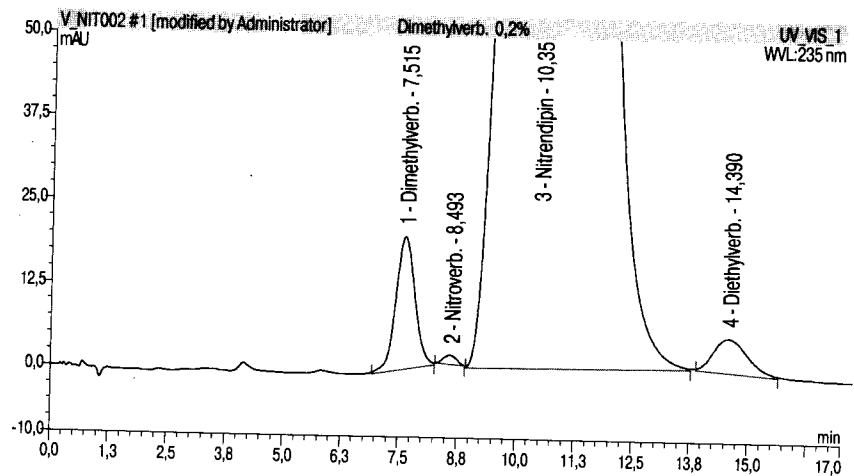


Рис. 17. ВЭЖХ-хроматограмма нитрендипина с примесями при их максимально допустимых концентрациях

б) Линейность

Линейность аналитической методики доказана, если в выбранном диапазоне применения может быть показано линейное соотношение между концентрацией действующего вещества (субстанции) в исследуемом растворе и величиной сигнала (отклика) детектирующей системы.

Линейность методики подтверждается по крайней мере в диапазоне от 80 до 120% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе. Валидация проводится с непосредственным использованием чистой субстанции (например, ряд разведений исходного раствора) или приготовлением модельных смесей (отдельные навески анализируемого вещества добавляются к плацебо) с последующим проведением пробоподготовки и определением. При этом измеряется и анализируется не менее 5 концентраций субстанции, причем значение при каждом анализе получается путем вычисления среднего значения из многократных инъекций (вколов).

Оценка проводится путем установления линейной зависимости между концентрацией и откликом (сигналом) при помощи подходящего уравнения регрессии (например, методом наименьших квадратов). Характеристики линейности включают коэффициент корреляции, наклон прямой, а также отрезок на оси ординат (табл. 2). В качестве дополнительной информации для расчета линейности может быть использовано графическое изображение регрессионной прямой (рис. 18).

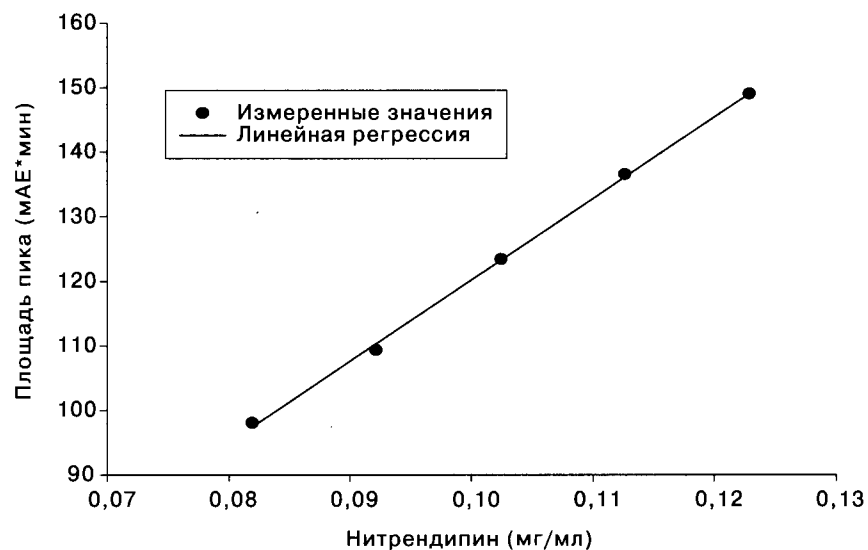


Рис. 18. Графическое представление линейности; представление площади пиков в зависимости от концентрации

Если при рутинном контроле предусматривается калибровка по одной точке, то доверительный интервал отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций действующего вещества от 10 до 120%.

Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного контроля должно быть подобрано соответствующим образом.

Пример: Линейность методики количественного определения нитрендипина путем ряда разведений исходного раствора (см. табл. 2 и рис. 18).

Таблица 2. Значения, измеренные при 235 нм, и статистические характеристики пиков в зависимости от концентрации

Концентрация, %	Нитрендипин, мг/мл	Среднее значение площади пика, мАЕ, мин	Регрессия, мАЕ, мин
80	0,08192	97,986	97,354
90	0,09216	109,260	110,299
100	0,10240	123,340	123,243
110	0,11264	136,570	136,188
120	0,12288	149,053	149,132

Статистические характеристики	Результаты
Наклон (a)	1264
Отрезок на оси ординат (b)	-6,056
Доверительный интервал (95%)	от -13,393 до 1,281
Коэффициент корреляции (r)	0,9995

в) Диапазон применения

Внутри заданного диапазона применения методики должны быть доказаны линейность, правильность и прецизионность. Для методики количественного определения субстанции диапазон применения должен составлять 80–120% концентрации анализируемого вещества в лекарственной форме.

При подтверждении вышеуказанных валидационных характеристик дальнейшие исследования в рамках диапазона применения не требуются.

г) Правильность

Правильность аналитической методики количественного определения доказывается на всем диапазоне применения (см. п. в). Для этого может быть использован один из представленных далее способов.

А. Определение ошибки фактора отклика

А.1. Метод с плацебо

В методе с плацебо определяется фактор отклика действующего вещества в модельной смеси компонентов плацебо. Концентрация компонентов плацебо составляет 100% навески, указанной в методике контроля. Действующее вещество добавляется в модельную смесь в соответствии с требуемым уровнем

концентрации (например, 80, 100 и 120% содержания субстанции в лекарственном препарате).

А.2. Метод добавок

В методе добавок фактор отклика определяется путем добавления действующего вещества к образцу с известной концентрацией субстанции. Например, навеска содержит 70% целевой концентрации в пробе; затем добавками содержание субстанции доводят до 80, 100, 120%.

Для определения правильности при обоих методах (метод с плацебо и метод добавок) проводится как минимум 9 испытаний с не менее 3 концентрациями в определенном диапазоне применения методики (например, 3 концентрации с 3-кратным определением для каждой концентрации, с выполнением всех стадий аналитической методики).

Оценка проводится путем расчета процента нахождения известного добавленного количества действующего вещества, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($P = 95\%$).

В. Метод сравнения

Сравнение результатов аналитической методики с результатами второй, независимой и провалидированной методики.

Расчет проводится с учетом статистических тестов (например, F - и t -критерии).

В соответствии с Руководством СРМР/ICH по валидации аналитических методик Q2B правильность может быть также определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны прецизионность, линейность и специфичность методики. Фирма «Производитель», несмотря на это, считает необходимым для контроля готовых продуктов проведение экспериментального определения правильности аналитической методики в рамках ее валидации, так как требуется учитывать эффекты плацебо.

Пример: Определение нитрендипина. Был использован метод с плацебо, пробоподготовка проведена в соответствии с условиями валидируемой аналитической методики.

Таблица 3. Результаты исследования правильности аналитической методики для определения содержания нитрендипина в таблетке «Образец А»

Уровень концентрации (%) и обозначение пробы	Нитрендипин, мг		Отклик, %
	Навеска	Найденное значение	
W-70-1	6,98	7,02	100,57
W-70-2	7,00	7,10	101,42
W-70-3	7,02	7,11	101,28
W-100-1	9,95	10,18	102,31
W-100-2	10,02	10,10	100,80
W-100-3	10,03	10,02	99,03
W-130-1	13,07	13,04	99,77
W-130-2	12,95	12,99	100,31
W-130-3	12,98	13,03	100,39

Окончание табл. 3

Статистические характеристики, %	Результаты
Наименьшее значение	99,03
Наибольшее значение	102,31
Среднее значение	100,65
Стандартное отклонение	0,959
Коэффициент вариации (КВ)	0,952
Доверительный интервал (P = 95%)	100,65 ± 0,74

д) Прецизионность

Сходимость (повторяемость)

Сходимость должна показать, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (как, например, тот же ВЭЖХ-хроматограф, тот же самый лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи:

- испытаний не менее 6 подготовленных проб при 100% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе или
- испытаний не менее 9 подготовленных проб внутри диапазона применения методики (см. п. в) (например, 3 концентрации, 3 повтора).

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного интервала. Приемлемое значение для коэффициента вариации необходимо устанавливать в зависимости от предполагаемых возможных значений (например, границы нормы для содержания действующего вещества в лекарственном препарате). В зависимости от уставленного коэффициента вариации (относительного стандартного отклонения) и границ нормы в спецификации устанавливается число испытаний, которые необходимо провести для одной пробы при рутинном анализе. Для определения требуемого количества испытаний см. табл. 1 на с. 31 данного руководства.

Пример: Проведение 6 испытаний, включая пробоподготовку (образец = смесь из 20 таблеток) при 100% концентрации действующего вещества в испытуемом растворе.

Таблица 4. Сходимость (повторяемость) аналитической методики количественного определения нитрендипина в таблетке «Препарат А»

Обозначение анализа (виалы) Нитрендипин м/таблетка	Результаты
Пр. 90634-110 06	
Пр. 90634-29 81	
Пр. 90634-3	9,88
Пр. 90634-4	9,83
Пр. 90634-5	9,99
Пр. 90634-6	9,93

Окончание табл. 4

Статистические характеристики	Результаты
Наименьшее значение, мг/таблетка	9,81
Наибольшее значение, мг/таблетка	10,6
Среднее значение, мг/таблетка	9,92
Стандартное отклонение, мг/таблетка	0,096
Коэффициент вариации (КВ), %	0,971
Доверительный интервал (P = 95%), мг/таблетка	9,92 ± 0,10

Промежуточная прецизионность

С помощью промежуточной прецизионности должно быть доказано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних обстоятельств при условии однородности исследуемой пробы.

При проведении валидации следует обратить внимание на то, чтобы были учтены все определенные ситуации для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, являются сотрудники, день проведения испытания и прибор ВЭЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, коэффициентов вариации и доверительных интервалов для среднего значения ($n \geq 6$; $P = 95\%$, соответствует $\alpha = 0,05$, или 5%). Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики на основании выполнения критериев приемлемости, установленных в валидационном плане, причем определяются критерии как для коэффициентов вариации, так и для отклонений отдельных средних значений. Другими статистическими оценками могут быть, например, F - и t -критерий достоверности гипотезы.

Пример: Два сотрудника в разные дни используют различные ВЭЖХ-хроматографы. Испытание проводится, как описано в предыдущем примере, с. 40.

Таблица 5. Результаты определения внутрилабораторной прецизионности

Обозначение анализа	Нитрендипин, мг/таблетка	
	Сотрудник 1	Сотрудник 2
VP-1	10,06	9,76
VP-2	9,81	9,82
VP-3	9,88	9,67
VP-4	9,83	9,90
VP-5	9,99	9,86
VP-6	9,93	9,87

Окончание табл. 5

Статистические характеристики	Результаты	
	Сотрудник 1	Сотрудник 2
Наименьшее значение, мг/таблетка	9,81	9,67
Наибольшее значение, мг/таблетка	10,06	9,90
Среднее значение, мг/таблетка	9,92	9,82
Стандартное отклонение, мг/таблетка	0,096	0,085
Коэффициент вариации (КВ), %	0,971	0,867
Доверительный интервал (P = 95%), мг/таблетка	9,92 ± 0,10	9,82 ± 0,09
F (5%; 5; 5) = 5,05*	Контрольное значение PG_{F-} : 1,28***	
t (5%; 10) = 2,228**	Контрольное значение PG_{t-} : 1,947***	

* $F(5\%; f_1; f_2): f_1 = n_1 - 1; f_2 = n_2 - 1.$

** $t(5\%; f): f = n_1 + n_2 - 2.$

*** $PG_i < F(5\%)$ или $PG_i < t(5\%).$ Различия между средними значениями и стандартными отклонениями результатов 1 и 2 сотрудников случайны.

е) Робастность

См. подраздел 2.1.1 (с. 29).

ж) Набор данных

См. подраздел 2.1.1 (с. 29).

2.3.2. Из субстанции растительного происхождения

На фирме «Производитель» в качестве растительных исходных веществ используются экстракты. Приведенные далее методы валидации могут быть использованы и при оценке методик для других лекарственных препаратов.

2.3.2.1. Лекарственный препарат из стандартизованного экстракта**а) Специфичность**

См. контроль подлинности лекарственного препарата (подраздел 1.3.2.1, с. 21).

б) Линейность

Линейность аналитической методики доказана, если в выбранном диапазоне применения показано прямо пропорциональное соотношение между концентрацией анализируемого вещества в исследуемом растворе и сигналом детектора (фактором отклика).

Линейность методики доказывается с использованием не менее 5 различных концентраций анализируемого вещества (5 разведений исходного раствора) в рамках диапазоне применения как минимум 80—120% концентрации анализируемого вещества (например, сеннозид В).

Определение линейности проводится:

- разведением стандартного образца/ экстракта (например, ряд разведений исходного раствора);
- добавлением стандартного образца / экстракта с известным содержанием

анализируемого вещества к плацебо (смеси всех остальных компонентов лекарственной формы).

Оценка проводится по наличию линейной зависимости между концентрацией вещества и сигналом с помощью подходящего регрессионного уравнения. Характеристики линейности выражаются в виде коэффициента корреляции, наклона прямых, а также отрезка на оси ординат. В качестве дополнительной информации для оценки линейности может быть приведено графическое представление регрессионной прямой.

Если при рутинном контроле для оценки показателя «количественное определение» предусматривается калибровка по одной точке, то доверительный диапазон отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций 10—120% (действующего вещества в препарате).

Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного анализа должно быть подобрано соответствующим образом.

в) Диапазон применения

В выбранном диапазоне применения (как минимум 80—120% концентрации вещества в пробе) должны быть доказаны линейность, правильность и прецизионность методики (см. пп. от б до д).

г) Правильность

Определение правильности аналитической методики для количественного определения проводится на всем диапазоне применения (см. п. в). Для этого может быть использован один из двух способов:

А. Определение ошибки фактора отклика

Если известны вещества, определяющие терапевтическую активность препарата из лекарственного растительного сырья (например, общие сеннозиды), то проводится определение отклика для компонента(ов) с известной структурой.

А.1. Метод с плацебо

К плацебо лекарственного препарата добавляется экстракт с определенным количеством компонента, определяющего терапевтическую активность, например 70, 100 и 30%, и выполняется полная методика анализа, включая пробоподготовку.

А.2. Метод добавок

В методе добавок фактор отклик определяется добавлением:

- экстракта с определенным количеством компонента, определяющего терапевтическую активность;
- стандартного образца к исследуемому образцу с известной концентрацией компонента, определяющего терапевтическую активность. Например, берется навеска, содержащая 60% целевой концентрации в пробе; затем в пробу добавляется действующее вещество до его содержания 80, 100, 120%.

Если для добавок используется стандартный образец, то подтверждается также правильность методики количественного определения компонента, определяющего терапевтическую активность в экстракте.

В обоих методах (метод плацебо и метод добавок) для определения правильности проводится как минимум 9 испытаний с не менее 3 концентрациями в определенном диапазоне применения (например, 3 концентрации с 3-кратным повторением для каждой всей аналитической методики).

Оценка проводится путем расчета процента нахождения известного добавленного количества действующего вещества, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($n = 9$; $P = 95\%$, соответствует $\alpha = 0,05$).

Б. Сравнение методов

Сравнение результатов аналитической методики с результатами второй, независимой и провалидированной методик.

Расчет проводится с учетом статистических тестов (например, F - и t -критерии).

В соответствии с Руководством СРМР/ICH по валидации аналитических процедур Q2B правильность может быть также определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны прецизионность, линейность и специфичность методики. Фирма «Производитель», несмотря на это, считает необходимым для методик контроля готовых продуктов проведение экспериментального определения правильности аналитической методики в рамках ее валидации, так как требуется учитывать эффекты плацебо.

д) Прецизионность

Сходимость (повторяемость)

Сходимость должна показать, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (один и тот же ВЭЖХ-хроматограф, тот же самый лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи:

- испытаний не менее 9 подготовленных проб внутри диапазона применения методики (см. п. в) (например, 3 концентрации, 3 пробоподготовки);
- не менее 6 испытаний (отдельно подготовленные пробы из идентичного материала) при 100% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе.

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного диапазона для среднего значения ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$).

Критерии приемлемости для коэффициента вариации необходимо устанавливать в зависимости от предполагаемых возможных значений (например, границы нормы для содержания действующего вещества в лекарственном препарате). При этом для определения требуемого числа испытаний одной пробы

при рутинном контроле можно ориентироваться, на значения, приведенные в табл. 1 на с. 31 данного руководства.

Справедливо следующее: чем выше относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации), тем больше должно быть число проводимых испытаний одной пробы.

Литература:

Grimm W. Pharm. Ind. 35, 1973, S. 79—85.

Промежуточная прецизионность

С помощью оценки промежуточной прецизионности должно быть доказано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних условий при условии однородности исследуемой пробы.

При проведении валидации следует обратить внимание на то, чтобы были учтены все возможные обстоятельства для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, являются сотрудники, день проведения анализа и прибор ВЭЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, коэффициентов вариации и доверительных интервалов ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$, или 5%).

Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики на основании выполнения критериев приемлемости, установленных в валидационном плане, причем оцениваются критерии как для коэффициентов вариации, так и для отклонений отдельных средних значений. Другими описательными статистическими оценками могут быть, например, F - и t -критерий достоверности гипотезы.

е) Робастность

См. подраздел 2.1.1 (с. 29).

ж) Набор данных

См. подраздел 2.1.1 (с. 29).

2.3.2.2. Лекарственный препарат из количественно охарактеризованного экстракта

а) Специфичность

См. Контроль подлинности лекарственного препарата (подраздел 1.3.2.2, с. 22).

б) Линейность

Линейность аналитической методики доказана, если в выбранном диапазоне применения может быть показано прямо пропорциональное соотношение

между концентрацией анализируемого вещества (например, основным веществом с известной структурой) в исследуемом растворе и сигналом детектора (фактором отклика).

Линейность методики доказывается на не менее 5 концентрациях исследуемого раствора в диапазоне применения как минимум 80—120% концентрации анализируемого аутентичного экстракта (в пересчете на выбранное вещество). При этом следует учитывать вариабельность содержания выбранного вещества (маркера) в экстракте.

Определение линейности проводится:

- разведением стандартного вещества или экстракта, выбранного в качестве характерного вещества (ряд разведений исходного раствора);
- добавлением экстракта с известным содержанием характерного вещества или стандартного образца вещества, выбранного в качестве маркера, к плацебо (смеси всех остальных компонентов).

При использовании для определения линейности методики экстракта также должна быть доказана линейность количественного определения основного характерного вещества в экстракте.

Оценка проводится по наличию линейной зависимости между концентрацией анализируемого вещества и сигналом детектора с помощью подходящего регрессионного уравнения. Характеристики линейности выражают коэффициент корреляции, наклон прямых, а также отрезок на оси ординат. В качестве дополнительной информации для оценки линейности может быть приведено графическое представление регрессионной прямой.

Если при рутинном контроле показателя «количественное определение» предусматривается калибровка по одной точке, то доверительный диапазон отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций от 10 до 120% (вещества, по которому стандартизируется экстракт).

Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного анализа должно быть подобрано соответствующим образом.

в) Диапазон применения

В выбранном диапазоне применения (как минимум 80—120% концентрации анализируемого вещества в пробе) должны быть доказаны линейность, правильность и прецизионность методики (см. пп. от б до д).

г) Правильность

Определение правильности аналитической методики количественного определения проводится на всем диапазоне применения (см. п. в). Правильность может быть показана двумя способами:

А. Определение ошибки фактора отклика

Определение фактора отклика аутентичного экстракта в лекарственном препарате проводится путем использования выбранного фирмой «Производитель» характерного вещества (маркера), по которому стандартизируется экстракт. Характерное вещество должно быть четко охарактеризовано, а его структура установлена.

А.1. Метод плацебо

К плацебо лекарственного препарата добавляется экстракт с известным содержанием компонента, по которому стандартизуется экстракт, например для 80, 100 и 120%, и выполняется полная методика анализа, включая пробоподготовку.

А.2. Метод добавок

В методе добавок отклик определяется добавлением:

- экстракта с определенным количеством вещества-маркера;
- вещества-маркера (стандартного образца) (например, валериановой кислоты к сухому экстракту корня валерианы или рутина к сухому экстракту зверобоя) к исследуемому образцу с известной концентрацией характерного вещества. Например, берется навеска с 60% выбранной концентрации анализируемого вещества в пробе; затем в пробу добавляется характерное вещество до его содержания 80, 100, 120%.

Если для добавок используется стандартный образец вещества-маркера, то подтверждается также правильность методики количественного определения характерного вещества в экстракте.

В обоих методах (плацебо и добавок) для определения правильности проводится как минимум 9 испытаний с не менее 3 концентрациями в определенном диапазоне применения (например, 3 концентрации с 3-кратным повторением для каждой всей аналитической методики).

Оценка проводится путем расчета процента нахождения известного добавленного количества определяемого вещества, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($n = 9$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$).

Б. Сравнение методов

Сравнение результатов аналитической методики с результатами второй, независимой и провалидированной методики.

Расчет проводится с учетом статистических тестов (например, F - и t -критерии).

В соответствии с Руководством CPMP/ICH по валидации аналитических процедур Q2B правильность может быть также определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны прецизионность, линейность и специфичность методики. Фирма «Производитель», несмотря на это, считает необходимым для контроля готовых продуктов проведение экспериментального определения правильности аналитической методики в рамках ее валидации, так как требуется учитывать эфффекты плацебо.

Пример (метод плацебо): Валидация методики количественного определения рутина, использующегося в качестве характерного вещества, по которому стандартизируется сухой экстракт зверобоя, в капсулах Препарата А.

Плацебо + сухой экстракт по 3 подготовленным пробы для каждой концентрации (n = 9).

Концентрации: 75, 100 и 125%.

Заданная навеска 100% сухого экстракта 388,9 мг/100 мл метанола.

Содержание рутина в сухом экстракте: 2, 692 мг рутина/100 мг экстракта.

Заданная навеска плацебо: 141,1 мг/100 мл метанола.

Таблица 6. Количественное определение — правильность. Определение фактора отклика при помощи метода плацебо

Задано, %	Навеска		Соотв. мг нативного экстракта	Рутин, мг		Отклик,% заданного
	%	мг		Задан.	Факт.	
75	74,78	290,8	261,7	7,828	7,968	101,8
75	75,78	294,7	265,2	7,933	8,095	102,0
75	75,28	292,8	263,5	7,881	7,849	99,6
100	100,67	391,5	352,4	10,539	10,606	100,6
100	98,30	382,3	344,1	10,291	10,406	101,6
100	99,49	386,9	348,2	10,415	10,508	100,9
125	123,14	478,9	431,0	12,891	13,112	101,7
125	127,26	494,9	445,4	13,322	13,258	99,5
125	125,20	486,9	438,2	13,107	13,034	99,4

Статистические характеристики, %	Результаты
Среднее значение	10,75
Стандартное отклонение	1,025
Коэффициент вариации 1 017	
Нижняя граница доверительного интервала 99 98	
Верхняя граница доверительного интервала 101 52	

д) Прецизионность

Сходимость (повторяемость)

Сходимость должна доказать, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (один и тот же ВЭЖХ-хроматограф, тот же самый лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи:

- испытаний не менее 9 подготовленных проб внутри диапазона применения методики; например, 3 концентрации, 3 пробоподготовки) (см. п. в);
- не менее 6 испытаниями (отдельно подготовленные пробы из однородно-

го материала) при 100% выбранной концентрации пробы экстракта (в пересчете на выбранное характерное вещество).

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного диапазона для среднего значения (n ≥ 6; P = 95%, что соответствует α = 0,05).

Критерии приемлемости для коэффициента вариации необходимо устанавливать в зависимости от предполагаемых возможных значений (например, границы нормы для содержания действующего вещества в лекарственном препарате). При этом для определения требуемого числа испытаний одной пробы при рутинном контроле можно ориентироваться, как правило, на значения, приведенные в табл. 1 на с. 31 настоящего руководства.

Справедливо следующее: чем выше относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации), тем больше должно быть число проводимых испытаний одной пробы.

Литература:

Grimm W. Pharm. Ind. 35, 1973. S. 79—85.

Промежуточная прецизионность

С помощью промежуточной прецизионности доказывается, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних обстоятельств при условии однородности испытуемой пробы.

При проведении валидации следует охватить по возможности всю широту определенных обстоятельств для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, являются сотрудники, день проведения анализа и прибор ВЭЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, коэффициентов вариации и доверительных диапазонов (n ≥ 6; P = 95%, что соответствует α = 0,05, или 5%).

Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики на основании выполнения критериев приемлемости, установленных в валидационном плане, причем определяются критерии как для коэффициентов вариации, так и для отклонений отдельных средних значений. Другими описательными статистическими оценками могут быть, например, F-критерий и t-критерий достоверности гипотезы.

Пример (метод плацебо): Валидация методики количественного определения рутина, использующегося в качестве характерного вещества, по которому стандартизируется сухой экстракта зверобоя, в капсулах препарата А.

Количественное определение — промежуточная прецизионность.

6 подготовленных проб из одного однородного смешанного образца лекарственного препарата (пример).

Концентрация: 100%.

Заданное количество сухого экстракта на капсулу (мг) 388,9 соответствует нативному сухому экстракту на капсулу (мг) 350,0.

Содержание рутина (мг/100 мг сухого экстракта) 2,675.

Заданное содержание рутина (мг/капсулу) 10,40.

Навеска соответствует содержащему примерно 1 капсулы (номинальное количество содержащего капсулы 530 мг).

Таблица 7. Определение количественного содержания — промежуточная прецизионность

Навеска, мг	Рутин, мг / 530 мг	Соответствует мг нативного экстракта
528,2	10,472	352,3
548,3	10,615	357,1
522,5	10,347	348,1
537,4	10,530	354,2
522,4	10,310	346,8
538,5	10,484	352,7

Статистические характеристики	Результат	Результат
Среднее значение, мг / 530 мг	10,46	351,88
Стандартное отклонение, мг	0,11	3,83
Коэффициент вариации, %	1,09	1,09
Нижняя граница доверительного интервала, мг	10,35	348,05
Верхняя граница доверительного интервала, мг	10,57	355,71

е) Робастность

См. подраздел 2.1.1 (с. 29.)

ж) Набор данных

См. подраздел 2.1.1 (с. 29.)

2.3.2.3. Лекарственный препарат, содержащий прочий (альтернативный) экстракт

См. подраздел 2.3.2.2 (с. 45).

2.3.2.4. Исследования стабильности

Если в рамках исследования стабильности растительных лекарственных средств на фирме «Производитель» используются типичные хроматограммы, то для валидации соответствующих методик применяются описанные выше параметры.

3. Примеси

Для аналитических методик оценки примесей руководство CPMP/ICH Q2A рекомендует определять следующие параметры:

Характеристики	Тип аналитической методики: Контроль примесей количеств. предел обнар.
Правильность	+ -
Прецизионность	
Повторяемость (сходимость)	+ -
Внутрилабораторная прецизионность	+* -
Специфичность**	+ +
Предел обнаружения	-*** +
Предел количественного определения	+ -
Линейность	+ -
Диапазон	+ -

Примечание:

- * В случаях, когда подтверждается воспроизводимость, определение внутрилабораторной прецизионности не требуется.
- ** Недостаточная специфичность аналитического метода может быть компенсирована другими вспомогательными аналитическими методиками.
- *** Может быть необходимо в некоторых случаях.
- «-» — указывает на то, что эта характеристика обычно не оценивается.
- «+» — указывает на то, что эта характеристика обычно оценивается.

Метод ВЭЖХ используется для оценки органических примесей, как они определены в разделе «2. Классификация примесей» руководства ICH «Примеси в новых фармацевтических субстанциях (пересмотр)» (документ ICH Q3A(R), CPMP/ICH/2737/99, утвержденные CPMP в феврале 2002 г.) а также руководства «Примеси в новых лекарственных препаратах» (документ ICH Q3B(R), CPMP/ICH/2737/99, выпущенные CPMP в феврале 2003 г.) (в 2006 г. оба руководства были актуализированы с присвоением индекса 2-го пересмотра: Q3A(R2) и Q3B(R2) соответственно. — Примеч. переводчика).

Критерии приемлемости для приведенных валидационных характеристик фирма «Производитель» указывает в соответствующих валидационных планах. (Пример возможных критериев приемлемости см. в Приложении, с. 115.)

3.1. Исходные материалы

3.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом

Для производства лекарственных форм фирма «Производитель» использует только исходные материалы, описанные в монографиях Европейской фарма-

копей или в Европейских регистрационных досье на субстанцию (драг-матер-файлах (EDMF)¹. Профиль примесей этих исходных веществ уже оценен соответствующим производителем исходных материалов.

Для контроля качества субстанций по показателю «примеси» применяются исключительно методики анализа, описанные в соответствующей монографии фармакопеи, которые считаются провалированными (или описанные в EDMF) только если они провалированы в соответствии с рекомендациями ICH. Применение этих методик обосновано соответствующим образом.

3.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья

Фирма «Производитель» проводит входной контроль исходных материалов из лекарственного растительного сырья на наличие особых примесей (например, пестицидов, афлатоксинов или определенных тяжелых металлов), анализ проводится по контракту². При этом согласовано, что организации, выполняющие анализы по контракту, используют только соответствующим образом провалированные методики или официальные стандартизированные методы для пищевых продуктов (например, ведомственные методы согласно § 35 Федерального Закона о пищевых продуктах и других потребительских продуктах ФРГ).

3.2. Лекарственный препарат

Таким образом, согласно подразделов 3.1.1 и 3.1.2 настоящего руководства фирма «Производитель» проводит валидацию аналитических методик определения примесей, которые образуются в ходе технологического процесса или выявлены при исследованиях стабильности лекарственного препарата (продукты деградации, продукты реакции) (см. также руководство ICH Q3B(R) «Примеси в новых лекарственных средствах» (пересмотренное)» (документ, выпущенный как СРМР/ICH/2737/99, утвержден СРМР в феврале 2003 г.), например, раздел «1.3. Область применения руководства» или раздел V «Включение примесей (продуктов деградации) в спецификацию»³.

Процесс проведения валидации аналитических методик описан далее.

3.2.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом

а) Специфичность

Специфичность аналитической методики считается доказанной, если:

- ни используемый растворитель,
- ни подвижная фаза,
- ни компоненты плацебо (смесь всех ингредиентов кроме действующего вещества),

¹ В 2005 г. EDMF был переименован в мастер-файл фармацевтической субстанции (ASMF). Процедура рассмотрения ASMF (в США – DMF II типа) регуляторным органом предназначена для обеспечения конфиденциальности данных производителей субстанций. Рекомендации по оформлению мастер-файлов на субстанции приведены в региональных рекомендациях по заполнению Общего технического документа (CTD) — *Примеч. переводчика.*

² Пример договора для анализа по контракту содержится в «Типовом руководстве по составлению договоров фирмы «Производитель» (договор о производстве по контракту лекарственных средств, медицинских продуктов, продуктов питания, договор о контроле качества лекарств по контракту, соглашение об обеспечении качества исходных материалов)», изданном ВАН.

³ В ICH Q3B(R) применяются эти руководства для оценки примесей как в новых, так и в известных фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах.

- ни фармацевтическая субстанция со своими технологическими примесями, образующимися при синтезе,

не искажают результат определения примесей (продуктов деградации) в лекарственном препарате.

Специфичность методики показывается путем представления соответствующей хроматограммы.

Все остальные валидационные параметры методики (линейность, диапазон применения и т. д.) определяются только с учетом продуктов деградации в соответствии с руководством ICH Q3B(R) «Примеси в новых лекарственных препаратах (пересмотр, СРМР/ICH/2737/99, февраль 2003 г.).

Для доказательства специфичности должны быть дополнительно проанализированы хроматограммы, полученные при исследовании образцов лекарственного препарата в «стрессовых условиях», т. е. при действии света, тепла, влажности, гидролиза кислотами/щелочами или окислении.

б) Линейность

Примечание: Нормы содержания идентифицируемых продуктов деградации устанавливаются производителем лекарственного препарата. Нормы содержания неидентифицируемых продуктах деградации должно соответствовать «пределу идентификации». (Определение этих пределов и принципы деления примесей на идентифицируемые, неидентифицируемые и учитываемые при контроле субстанции приведены в руководстве ICH Q3A. — *Примеч. переводчика.*)

Линейность аналитической методики (для оценки продуктов деградации) доказана, если в выбранном диапазоне применения может быть показано пропорциональное соотношение между концентрацией исследуемого вещества в растворе и фактором отклика детектора.

Линейность методики оценивается, по крайней мере, на диапазоне от контролируемого предела до 120% количества соответствующего продукта деградации, указанного в спецификации.

Для идентифицируемых продуктах деградации линейность методики доказывает при непосредственном использовании чистого вещества (ряд разведений исходного раствора продукта деградации) или при помощи отдельных навесок продукта деградации, добавленных к образцу лекарственного препарата с последующей пробоподготовкой и определением.

Фактор отклика неидентифицируемых продуктов деградации соотносится с фактором отклика фармацевтической субстанции. Определение проводится одинаковым способом детекции (эквивалентный ответ детектора) (см. Руководство СРМР/ICH/2737/99, февраль 2003, раздел «III. Аналитические методики» или Евр. фарм. 4.00/2.2.46). При этом доказывается линейность определения:

- действующего вещества в соответствующем диапазоне применения;
- неидентифицируемых продуктов деградации.

Для этого фирма «Производитель» использует ряд разведений исходного раствора образца, в котором после выдержки в «стрессовых условиях» содержатся неидентифицируемые продукты деградации.

В обоих случаях (идентифицируемые и неидентифицируемые продукты деградации) готовятся и анализируются как минимум 5 концентраций, причем значение для каждого испытания получают путем усреднения нескольких значений при многократном введении пробы в хроматограф.

Соответствующая оценка методики (идентифицируемые и неидентифицируемые продукты деградации) проводится по выявлению линейной взаимосвязи между концентрацией и сигналом при помощи подходящего регрессионного уравнения (например, метода наименьших квадратов). Характеристики линейности выражаются в виде коэффициента корреляции, наклона прямой, а также отрезка на оси ординат. В качестве дополнительной информации для оценки линейности может быть приведено графическое представление и отклонение полученных значений от регрессионной прямой.

Если при рутинном контроле по показателю «количественное определение» предусматривается калибровка по одной точке, то доверительный диапазон отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций примеси 10—120%.

Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного контроля должно быть подобрано соответствующим образом.

Пример: Оценка линейности методики количественного определения неидентифицированного продукта деградации (рис. 19—21).

Предположим, что суточная доза действующего вещества в лекарственном препарате составляет 500 мг. Исходя из этого, концентра-

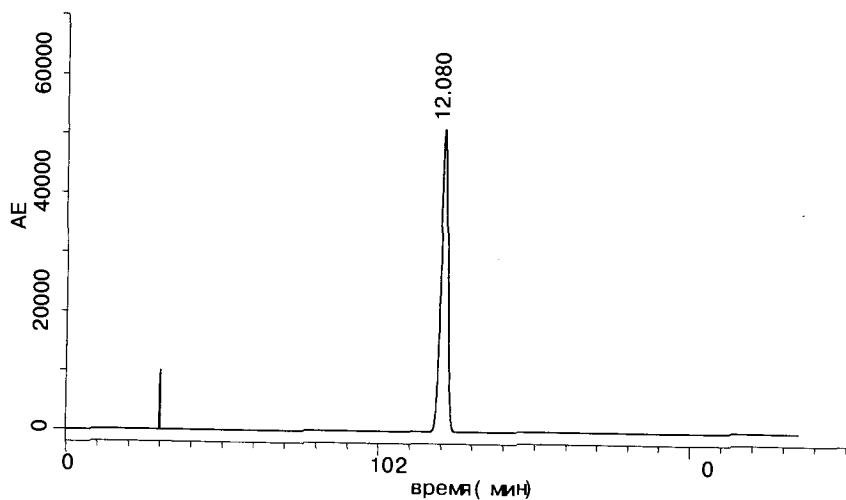


Рис. 19. Хроматограмма нестрессовой пробы

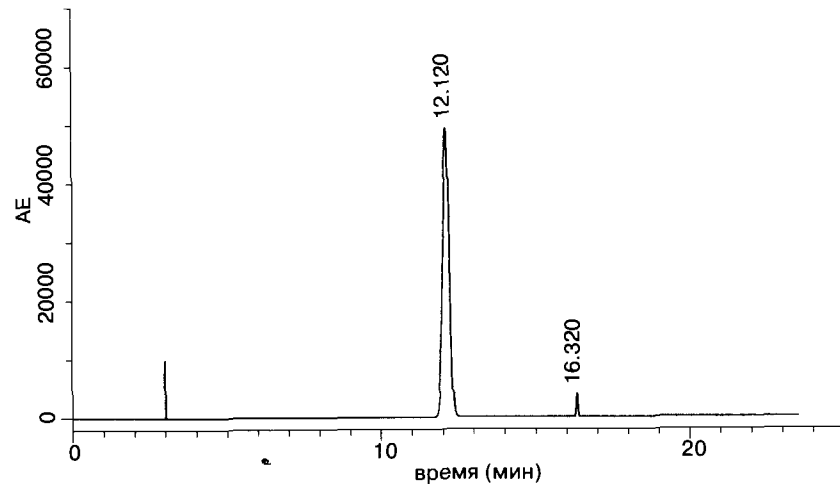


Рис. 20. Хроматограмма «стрессовой пробы». Можно увидеть пик действующего вещества (при 12,2 мин) и пик неидентифицированного продукта деградации (при 16,32 мин)

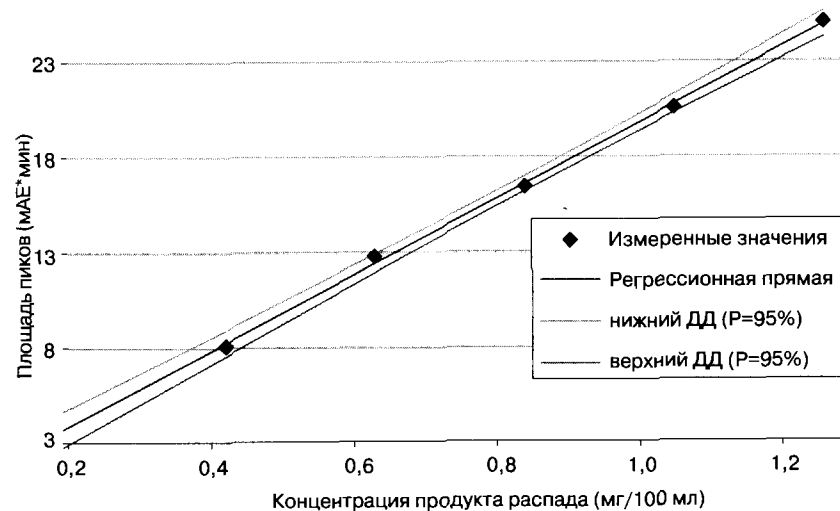


Рис. 21. Графическое представление линейности; площадь пиков в зависимости от концентрации). ДД — доверительный диапазон

ция примеси для «контролируемого предела» (0,1%) составит 0,5 мг и концентрация примеси для 120% «предела идентификации» (0,2%) составит 1,2 мг (рассчитанная как активная субстанция А).

Готовится «стрессовая проба» 500 мг действующего вещества в 100 мл раствора.

При анализе «стрессовой пробы» содержание примеси составило 10,5 мг на 100 мл (в пересчете на активную субстанцию А). Из этого исходного раствора готовится ряд разведений таким образом, чтобы линейность методики могла быть изучена в диапазоне концентраций примеси 0,5—1,2 мг/100 мл.

Таблица 8. Линейность методики количественного определения неидентифицированного продукта деградации

Ряд разведений, мл исх. р-ра /100 мл	Концентрация, мг/100 мл	Единицы площади
4,0	0,420	8,060
6,0	0,630	12,762
8,0	0,840	16,430
10,0	1,050	20,568
12,0	1,260	25,064

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$y = 19,911x - 0,149$
Наклон a	19,911
Отрезок на оси ординат b : 95% доверительный интервал	-0,149 от -1,334 до 1,037
Коэффициент корреляции r	0,9993

в) Диапазон применения

В рамках определенного диапазона концентраций испытуемого вещества должны быть соответствующим образом доказаны линейность, правильность и прецизионность аналитической методики. При количественном определении продукта деградации диапазон применения составляет не менее чем от контролируемого предела до 120% нормы содержания примеси, приведенной в спецификации. При установлении названных валидационных характеристик дальнейшие исследования в рамках диапазона применения методики не требуются.

г) Правильность

Определение правильности¹ аналитической методики количественного определения продуктов деградации проводится на всем диапазоне применения (см. выше)

на основе ошибки фактора отклика. Правильность оценивается в зависимости от вида продуктов деградации (идентифицируемые / неидентифицируемые):

- для идентифицируемых продуктов деградации: используется метод добавок к готовому продукту известного количества продукта деградации (стандартного образца);
- для неидентифицируемых продуктов деградации: при использовании одинакового способа детекции для действующего вещества и продукта деградации рассчитывается эквивалентная площадь под пиком продукта деградации для контролируемого предела и для его концентрации 120% нормы содержания, указанной в спецификации (см. «линейность»). Для получения продуктов деградации готовится «стрессовая проба» лекарственного препарата и определяется эквивалентная площадь продукта деградации ($n = 6$). К лекарственному препарату добавляются разные количества прошедшего стрессовую обработку лекарственного препарата, чтобы в результате получились количества продукта деградации в рамках диапазона применения методики (3 концентрации). Целесообразно использовать следующие концентрации: контролируемый предел, нормы по спецификации и 120% нормы, указанной в спецификации.

д) Прецизионность

Сходимость (повторяемость)

Сходимость (повторяемость) должна подтвердить, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (один и тот же ВЭЖХ-хроматограф, тот же самый лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов¹.

Для идентифицируемых продуктов деградации:

- используются данные, полученные при определении правильности;
- раствор идентифицируемых продуктов деградации добавляется к пробе лекарственного препарата в диапазоне от 100% нормы содержания примеси, указанной в спецификации (6 независимых проб).

Для неидентифицируемых продуктов деградации:

- проба лекарственного препарата смешивается со стрессовой пробой лекарственного препарата так, чтобы в результате получилось количество продукта деградации, соответствующее содержанию примесей, указанному в спецификации;
- альтернативно могут быть использованы данные, полученные при определении правильности.

Промежуточная прецизионность

С помощью промежуточной прецизионности должно быть показано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних обстоятельств при условии однородности пробы.

¹ См. также примечание к валидационной характеристике линейности с. 53

¹ См. также примечание к валидационной характеристике линейности, с. 53.

При проведении валидации следует обеспечить учет всех обстоятельств, характерных для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, являются сотрудники, день проведения испытания и прибор ВЭЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка результатов проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, коэффициентов вариации и доверительных интервалов для среднего значения ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$, или 5%).

Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики на основании выполнения критериев приемлемости, указанных в валидационном плане, причем критерии устанавливаются для коэффициентов вариации и для отклонений отдельных средних значений. Другими описательными статистическими оценками могут быть, например, F -критерий и t -критерий достоверности гипотезы.

е) Предел обнаружения

В Таблице Руководства ICH Q2A указана необходимость установления предела обнаружения аналитической методики при определении допустимого количества примесей (см. табл. на с. 51).

Фирма «Производитель» считает достаточным показать, что предел обнаружения аналитической методики лежит ниже контролируемого предела содержания примесей.

Однако если присутствие отдельных примесей в продукте недопустимо, следует определить предел их обнаружения. В таких случаях предел обнаружения является такой граничной концентрацией, выше которой примесь может быть исключена.

Такая ситуация является примером случая, указанного в примечаниях (сноска 3) к таблице руководства CPMP/ICH Q2A (определение предела обнаружения для методики количественного определения примесей).

Если примеси отсутствуют, предел обнаружения методики определяется с использованием соответствующих концентраций фармацевтической субстанции.

ж) Предел количественного определения

Для определения предела количественного определения аналитической методики фирма «Производитель» использует, как правило, калибровочную кривую согласно руководству CPMP/ICH по валидации аналитических процедур Q2A, глава 7 «Предел количественного определения», раздел 7.3.2. При этом фирма «Производитель» считает, согласно руководству CPMP/ICH Q3B(R) (утвержденных CPMP в феврале 2003 г.), раздел «III. Аналитические методики», что для подтверждения этой валидационной характеристики достаточно показать, что предел количественного определения аналитической методики равен или ниже контролируемого предела.

Исходя из этого, руководство ICH Q3B(R) допускает определение предела обнаружения и количественного определения путем визуальной оценки хроматограмм(-ы) или из соотношения «сигнал / шум».

Пример: Условия: как в примере на с. 54.

Предел количественного определения, рассчитанный из табл. 8 (с. 56) по W.Funk с сотр.¹, составляет 0,09 мг/100 мл. Следовательно, он находится ниже требуемого контролируемого предела в 0,5 мг примеси (рис. 22).

Данные о величине «контролируемого предела» и «идентификационного порога» основаны на максимальной суточной дозе действующего вещества.

и) Робастность

См. подраздел 2.1.1 (с. 29).

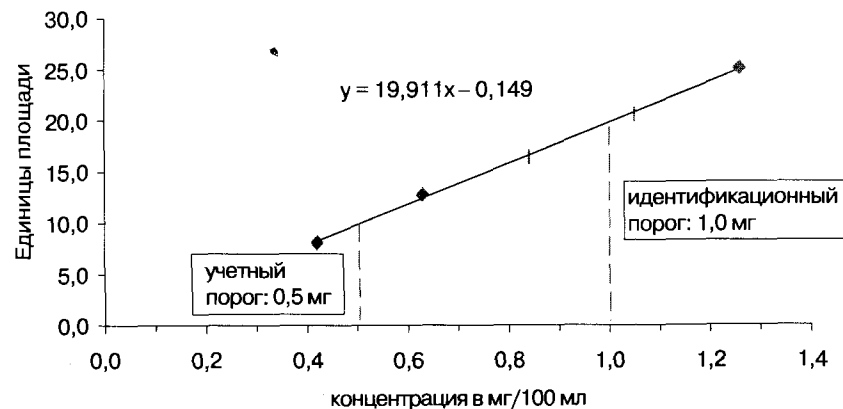


Рис. 22. Графическое представление линейной регрессии; площади пиков в зависимости от концентрации

Б. Тонкослойная хроматография (ТСХ)

1. Подлинность

В процитированном во введении Руководстве ICH Q2A приведена таблица, в которой перечислены важные валидационные характеристики для разных типов аналитических методик в зависимости от их предназначения. Для методик, предназначенных для проведения испытаний по показателю «подлинность», приведены следующие требования:

¹ Funk W., Dammann V., Vonderheid C., Oehlmann G. Statistische Methoden in der Wasseranalytik, VCH Weinheim, 1985.

Характеристики	Тип аналитической методики: Подлинность
Правильность	-
Прецизионность: - повторяемость (сходимость) - промежуточная прецизионность	- -
Специфичность*	+
Предел обнаружения	-
Предел количественного определения	-
Линейность	-
Диапазон	-

Примечание:

* Недостаточная специфичность аналитической методики может быть компенсирована другими вспомогательными аналитическими методиками.

«-» — указывает на то, что эта характеристика обычно не оценивается.

«+» — указывает на то, что эта характеристика обычно оценивается.

Наряду с проверкой специфичности аналитической методики фирма «Производитель» в рамках ее валидации проводит также проверку робастности. Такие исследования приведены в качестве примера в разделе 4 «Работы по оценке стабильности».

1.1. Исходные материалы

1.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом

Для оценки специфичности методики на ТСХ пластину наносится в одинаковых концентрациях фармацевтическая(-ие) субстанция(-и), стандартный(-ые) образец(-ы) и их смесь в соотношении 1:1.

Методика считается специфичной, если у фармацевтической субстанции и стандартного образца (с известной и доказанной структурой) совпадают значения R_f, способ обнаружения пятен (например окрашивание) и размер. Кроме того, не должно наблюдаться разделения нанесенной смеси.

1.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья

См. примечание подраздела А.1.1.2 (с. 19).

1.1.2.1. Стандартизированный экстракт

Специфичность методики доказывается путем хроматографирования на одной пластине:

- стандартного образца действующего вещества;
- аутентичного экстракта;¹
- аутентичного лекарственного материала;

¹ В качестве аутентичного экстракта определяется серия, которая соответствует спецификации по все показателям качества.

- каких-либо вспомогательных веществ, присутствующих в экстракте (мальтодекстрин, лактоза и т. д.);
- испытуемого экстракта.

Критерии приемлемости

Методика должна обеспечивать:

- четкое определение пятен в испытуемом образце, соответствующих по цвету и расстоянию от линии старта пятну стандартного образца;
- получение пятен в испытуемом экстракте, совпадающих с пятнами аутентичного экстракта или аутентичного лекарственного материала по цвету, интенсивности и расстоянию от линии старта;
- во всех случаях смесь вспомогательных веществ не должна мешать идентификации пятен.

1.1.2.2. Количественно охарактеризованный экстракт

Специфичность доказывается путем хроматографирования на одной пластине:

- аутентичного экстракта или
- аутентичного лекарственного материала
- стандартного образца для характеристического основного вещества
- каких-либо вспомогательных веществ экстракта (мальтодекстрин, лактоза и т. д.);
- испытуемого экстракта.

Критерии приемлемости

Методика должна обеспечивать:

- получение пятен в испытуемом экстракте, совпадающих с пятнами аутентичного экстракта или аутентичного лекарственного материала по цвету, интенсивности и расстоянию от линии старта;
- четкое определение пятен в испытуемом образце, соответствующих по цвету и расстоянию от линии старта пятну стандартного образца характеристического основного вещества;
- смесь вспомогательных веществ не должна мешать идентификации пятен.

1.1.2.3. Прочий (альтернативный)¹

См. подраздел 1.1.2.2.

1.2. Внутрипроизводственный контроль

Фирма «Производитель» не использует тонкослойную хроматографию (ТСХ) для анализа подлинности при проведении ВПК.

1.3. Лекарственный препарат

1.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом

Специфичность аналитической методики подтверждается доказательством подлинности действующего вещества помощью стандартного образца с известной или доказанной структурой (первичный или рабочий стандарт) путем

¹ См. сноски на с. 21, 22.

сравнения как R_f, так и внешнего вида пятен (например, одинаковая окраска, сравнимый размер пятен).

Доказательство приводится изучением ТСХ хроматограммы, полученной при одновременном хроматографировании:

- лекарственного препарата;
- плацебо (смеси всех составных частей без действующего вещества);
- стандартного образца действующего вещества.

1.3.2. Из субстанции растительного происхождения

См. также примечание в подразделе А.1.1.2 (с. 19).

1.3.2.1. Лекарственный препарат из стандартизованного экстракта

Специфичность методики доказывается путем хроматографирования на одной пластине:

- стандартного образца действующего вещества;
- аутентичного экстракта;
- аутентичного лекарственного материала;
- смеси плацебо;
- исследуемого лекарственного препарата.

Критерии приемлемости

Методика должна обеспечивать:

- четкое определение пятен в испытуемом образце, соответствующих по цвету и расстоянию от линии старта пятну стандартного образца;
- получение пятен в испытуемом продукте, совпадающих с пятнами использованного экстракта (подлинность которого подтверждена) по цвету, интенсивности и расстоянию от линии старта;
- во всех случаях смесь вспомогательных веществ не должна мешать идентификации пятен.

Пример: см. рис. 1 вклейки.

1.3.2.2. Лекарственный препарат из количественно охарактеризованного экстракта (например, нафтодиангрон и флавоноиды в зверобое)

Специфичность доказывается путем хроматографирования на одной пластине:

- аутентичного экстракта;
- аутентичного лекарственного материала;
- стандартного образца для характеристического основного вещества;
- смеси плацебо;
- испытуемого лекарственного препарата.

Критерии приемлемости

Методика должна обеспечивать:

- получение пятен в испытуемом лекарственном препарате, совпадающих с пятнами аутентичного экстракта (подлинность которого подтверждена) по цвету, интенсивности и расстоянию от линии старта;
- четкое определение пятен в испытуемом лекарственном препарате, соот-

ветствующих по цвету и расстоянию от линии старта пятну стандартного образца характеристического основного вещества;

- во всех случаях смесь вспомогательных веществ не должна мешать идентификации пятен.

Пример: см. рис. 2 вклейки.

1.3.2.3. Лекарственный препарат из прочего (альтернативного) экстракта (например, флавоноиды в боярышнике)

См. подраздел 1.3.2.2.

Пример: см. рис. 3 вклейки.

2. Количественное определение

Если фирма «Производитель» использует для количественного определения методики на основе ТСХ, то валидация методик проводится в соответствии с разделами А.2 (с. 28). При этом количественная оценка ТСХ-хроматограмм проводится соответствующими методами (например, денситометрией).

Особое внимание должно быть обращено на оценку робастности аналитических методик количественного определения с использованием ТСХ, особенно в отношении используемых ТСХ пластин.

3. Примеси

Если фирма «Производитель» использует для оценки примесей методики с ТСХ, то валидация методик проводится в соответствии с разделом А.3 (с. 51). При этом количественная оценка ТСХ-хроматограмма проводится соответствующими методами (например, денситометрией).

Особое внимание должно быть обращено на оценку робастности аналитических методик количественного определения примесей с использованием ТСХ (см. раздел 4).

4. Методики для работ по оценке стабильности

На фирме «Производитель» аналитические методики с ТСХ представляют собой важную составную часть исследований стабильности лекарственных средств растительного происхождения. Валидация методик проводится в соответствии с указаниями раздела 1 «Подлинность» (с. 59).

К методикам на основе ТСХ, используемых в исследованиях стабильности, предъявляются жесткие требования в отношении робастности, что должно обеспечить достоверность получаемых данных (отсутствие «выпадения»).

Далее в примерах приведены критерии приемлемости, которые могут использоваться для оценки робастности методики. В каждом конкретном случае необходимо сделать компетентное заключение с точки зрения фармацевтического анализа, какие именно проверки должны быть проведены.

Робастность методики оценивается уже на стадии фармацевтической разработки или оптимизации лекарственной формы.

4.1. Исследование стабильности исследуемых веществ

4.1.1. Стабильность исследуемого вещества перед хроматографией (стабильность исходного раствора)

Стабильность вещества определяется в растворе и на пластине.

Пример: Спиртовой экстракт листьев крапивы (см. рис. 4 вклейки.)

Оценка

Пятна должны совпадать по количеству, расстоянию от линии старта, цвету, интенсивности и форме.

Если отмечается нестабильность пятен на хроматограмме, то рекомендуется изменить материал ТСХ пластины или внести в описание методики контроля четкое указание на то, что проявление пластины должно проводиться сразу после нанесения анализируемых растворов.

Стабильность анализируемого вещества в растворе может быть оптимизирована путем изменения подготовки пробы. Например, светочувствительные образцы должны обрабатываться в условиях, обеспечивающих защиту от света.

4.1.2. Стабильность анализируемого вещества во время хроматографии

Стабильность может быть подтверждена с помощью двухмерной тонкослойной хроматографии (см. рис. 5 вклейки).

Оценка

Пятна на хроматограмме должны лежать на одной прямой между точкой нанесения и точкой пересечения фронтов подвижных фаз.

Если наблюдается нестабильность анализируемого вещества в хроматографической системе, то рекомендуется изменить используемую систему растворителей, чтобы исключить возможную химическую реакцию анализируемого вещества с подвижной фазой или компонентами растворителя.

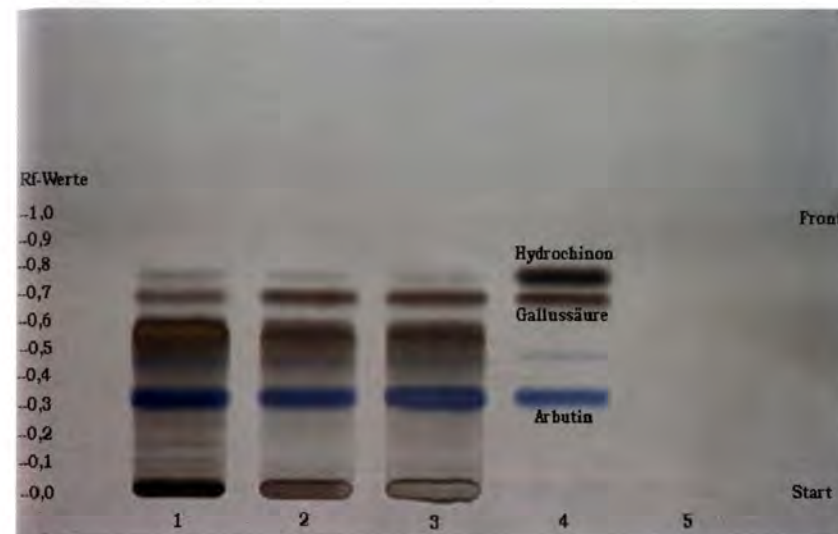
4.2. ТСХ пластины

В рамках проверки робастности методики оцениваются однородность сорбента ТСХ пластин разных серий (различные серии одного производителя) и сорбент аналогичных пластин различных производителей.

Если полученные хроматограммы сопоставимы, то при исследованиях стабильности можно использовать ТСХ пластины разных производителей. Если имеются различия, то используется либо только ТСХ пластины одного производителя, либо только одна серия одного производителя.

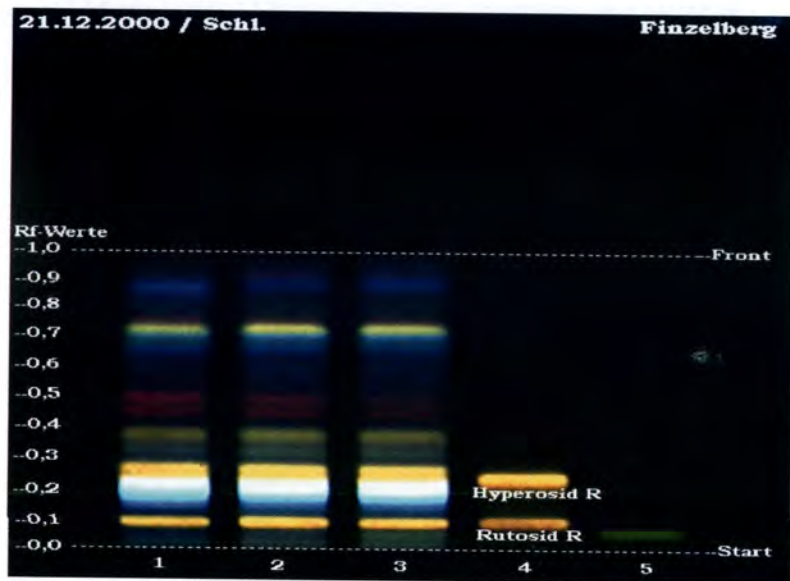
4.3. Температура и влажность

Если хроматография проводится в лабораторных помещениях, не оборудованных климат-контролем, фирма «Производитель» обеспечивает робастность



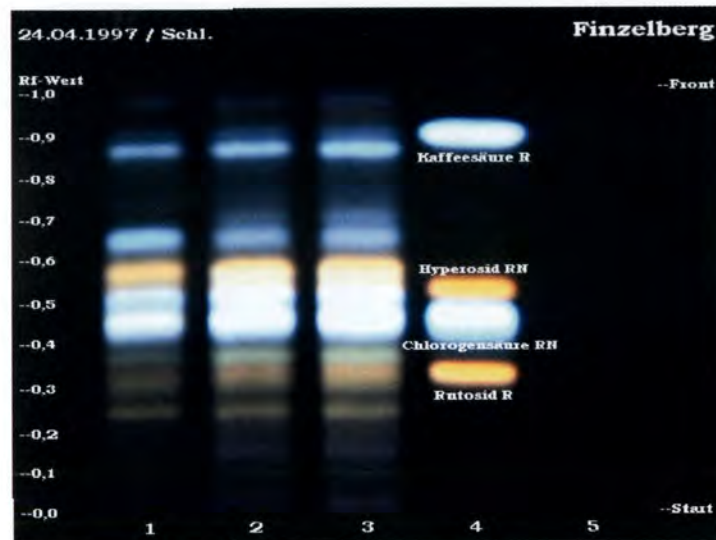
Ряд	Нанесенное вещество
1	Препарат из листьев толокнянки
2	Экстракт из листьев толокнянки
3	Лекарственный препарат, который содержит экстракт из листьев толокнянки
4	Смесь стандартных образцов: арбутин, галловая кислота, гидрохинон
5	Смесь плацебо лекарственного препарата

Рис. 1. Фотография ТСХ хроматограммы лекарственного препарата, содержащего экстракт листьев толокнянки. Растворитель по ЕФ 4; подвижная фаза: 0,1 % дихлорхинон-хлоримидный реактив и 10 % водный раствор натрия карбоната



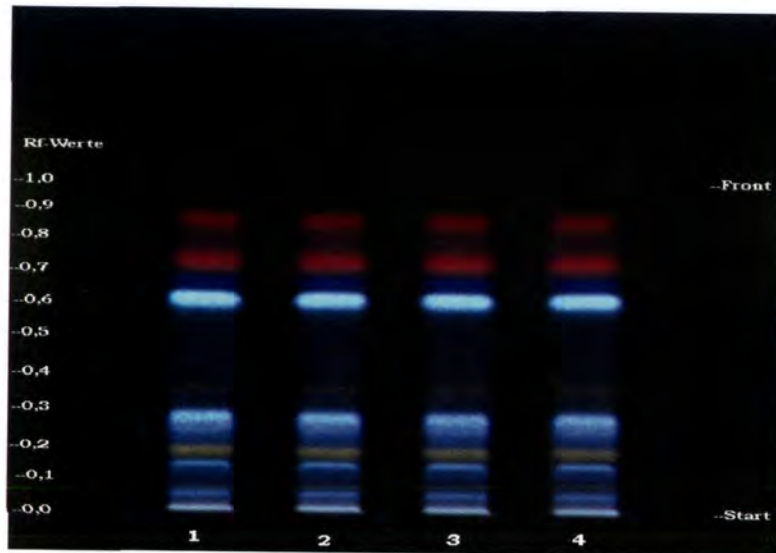
Ряд	Нанесенное вещество
1	Трава зверобоя (<i>Hyperici perforate</i>) по Евр. Фарм. 2000
2	Экстракт из листьев зверобоя сухой (экстракт)
3	Лекарственный препарат (драже зверобоя)
4	Стандартные образцы: Рутозид R и гиперозид R
5	Плацебо

Рис. 2. Фотография ТСХ хроматограммы флавоноидов лекарственного препарата зверобоя, подвижная фаза (элюент) и обнаружение пятен по EP 2000 г.



Ряд	Схема нанесения
1	Листья и плоды боярышника по DAB 1996 (лекарство сравнения)
2	Экстракт из листьев и плодов боярышника сухой (экстракт)
3	Лекарственный препарат (<i>Crataegus</i> — 300 — драже)
4	Рутозид R, хлорогеновая кислота RN, гиперозид R и кофеиновая кислота R — стандартные образцы
5	Плацебо

Рис. 3. Фотография ТСХ хроматограммы флавоноидов лекарственного препарата — боярышника. Растворитель и идентификация пятен по DAB 1996. Количественное определение



Ряд	Нанесенная проба
1	Стабильность на пластине к моменту времени t_n
2	Стабильность на пластине к моменту времени t_0
3	Стабильность в растворе к моменту времени t_n
4	Стабильность в растворе к моменту времени t_0

Рис. 4. Стабильность спиртового экстракта листьев крапивы в растворе пробы и на пластине. Подвижная фаза: этилацетат:метанол:вода:муравьиная кислота 50:4:4:2,5 об.ч. Дериватизация: природный реагент

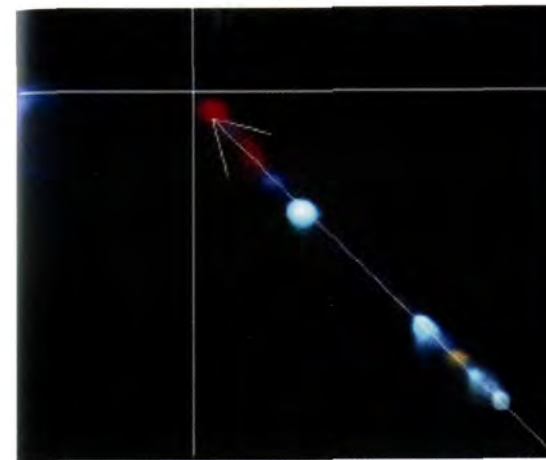


Рис. 5. Стабильность во время хроматографии. Двухмерная тонкослойная хроматография; спиртовой экстракт листьев крапивы. Подвижная фаза: этилацетат:метанол:вода:муравьиная кислота 50:4:4:2,5 об.ч. Дериватизация: природный реагент

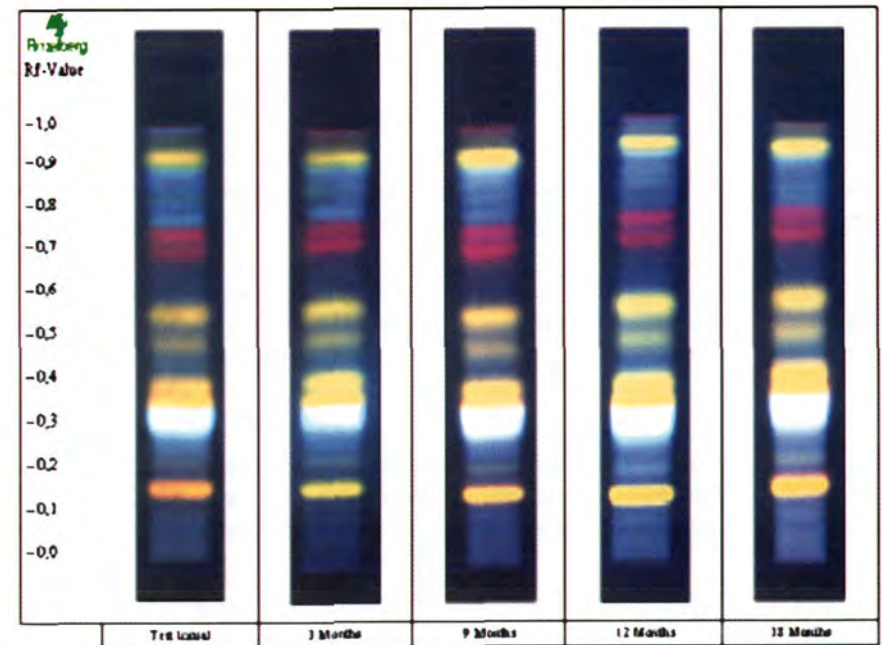


Рис. 6. ТСХ-хроматограммы экстракта зверобоя (Нурегисит) (флавоноиды), полученные на разных периодах хранения в течение 18 месяцев

методики при заданных или ожидаемых колебаниях температуры и влажности. Если этого невозможно достичь, в рамках работ по оценке стабильности методика выполняется только в помещениях с постоянными климатическими параметрами.

4.4. Подвижная фаза

При использовании подвижной фазы, в которую входят нестабильные растворители (возможны деградация и/или перегруппировка, например, смеси сложных эфиров и спиртов и/или кислот), фирма «Производитель» проверяет стабильность такой подвижной фазы в течение определенного времени (например, 24 ч).

4.5. Дериватизация

Реактогенность реактивов, используемых для дериватизации, проверяется в течение заданного времени при определенных условиях.

4.6. Другие факторы

Исследования других возможных факторов робастности методики фирмой «Производитель» не проводятся, так как критичные параметры точно определены в методике контроля:

- тип хроматографической камеры;
- насыщение камеры;
- длина полосы разделения;
- время высушивания хроматограммы;
- температура высушивания.

Фирма «Производитель» документирует исследования стабильности методиками тонкослойной хроматографии, как представлено в следующем примере (см. рис. 6 вклейки).

Оценка стабильности промежуточных продуктов и лекарственного препарата проводится путем сравнения хроматограмм, полученных на разных сроках хранения.

В. Титрование

Фирма «Производитель» использует титриметрические методы только для аналитических методик количественного определения исключительно в синтетических химико-фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах из них.

1. Количественное определение — исходные материалы

При контроле исходных материалов фирма «Производитель» использует титриметрические методы только в официальных (например, фармакопейных) аналитических методиках, которые считаются провалированными.

Поэтому на фирме «Производитель» валидируются только методики количественного определения для лекарственных препаратов.

2. Количественное определение — лекарственный препарат

Критерии приемлемости для приведенных ниже характеристик аналитической методики указаны в соответствующих валидационных планах фирмы «Производитель». (Пример возможных критериев приемлемости см. в Приложении с. 119.)

2.1. Специфичность

Специфичность аналитической методики считается доказанной, если ни растворитель, используемый при пробоподготовке, ни реактивы, ни компоненты плацебо (смесь всех ингредиентов лекарственного препарата без фармацевтической субстанции) не искажают результат.

Специфичность методики показывается путем сравнения количества израсходованного титрованного раствора при титровании:

- плацебо;
- действующего вещества;
- лекарственного препарата.

Если при титровании плацебо отмечается расход титранта, то должно быть проведено титрование с используемыми при пробоподготовке растворителями, реактивами и т. д. Найденная причина расхода титранта (например, растворитель) затем используется для определения контрольного значения («холостой» опыт), которое учитывается при расчете.

Примечание: Если методика не обладает достаточной специфичностью в отношении отдельных исследуемых веществ, фирма «Производитель» обеспечивает достаточную степень разделения веществ с помощью второй, специфической методики (например, в рамках проверки чистоты) (см. CPMP/ICH/281/95 «Валидация аналитических методик: методология (документ ICH Q2B, раздел «1. Специфичность»)).

Пример: Результаты комплексонометрического определения магния (Mg) в трисиликате магния (в пересчете на оксид магния MgO) для исследования специфичности.

Определение конечной точки (точка перехода) потенциометрически, при помощи ионселективного электрода (рис. 23 —26).

2.2. Линейность

Линейность аналитической методики доказана, если в выбранном диапазоне применения можно показать прямо пропорциональное соотношение между концентрацией исследуемого вещества в растворе и расходом титранта.

Линейность доказывается на не менее 5 разных разведениях исследуемого раствора в диапазоне применения как минимум 80 —120 % концентрации анализируемого вещества в исследуемом растворе.

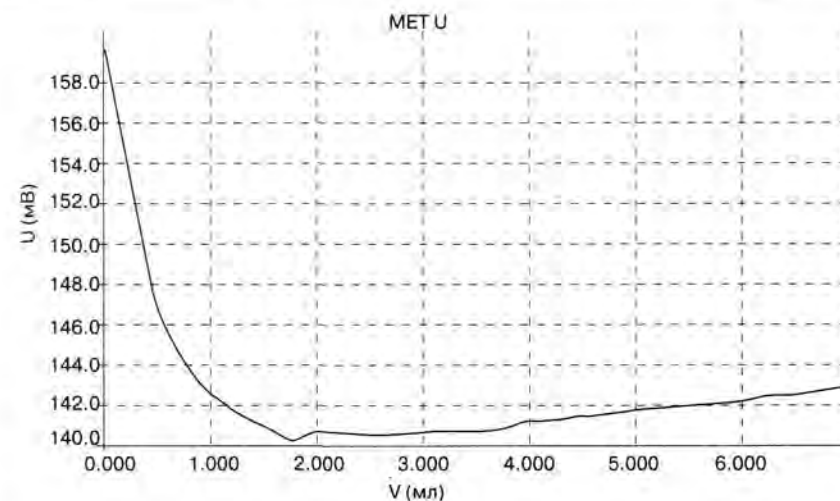


Рис. 23. Кривая титрования растворителя, используемого при пробоподготовке, включая использованные реактивы (холостая проба)

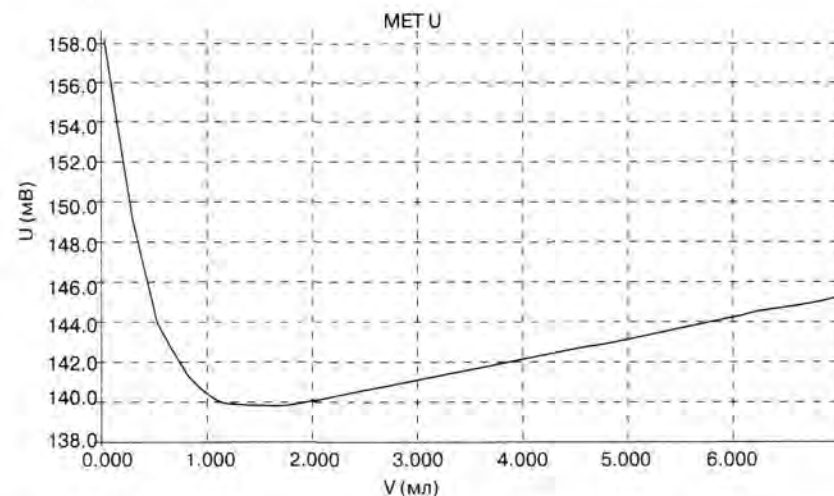


Рис. 24. Кривая титрования плацебо

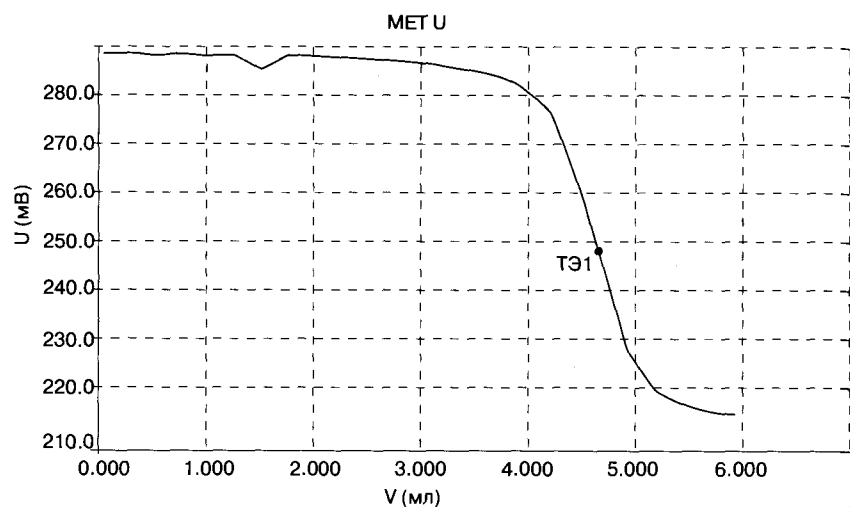


Рис. 25. Кривая титрования действующего вещества — трисиликата магния

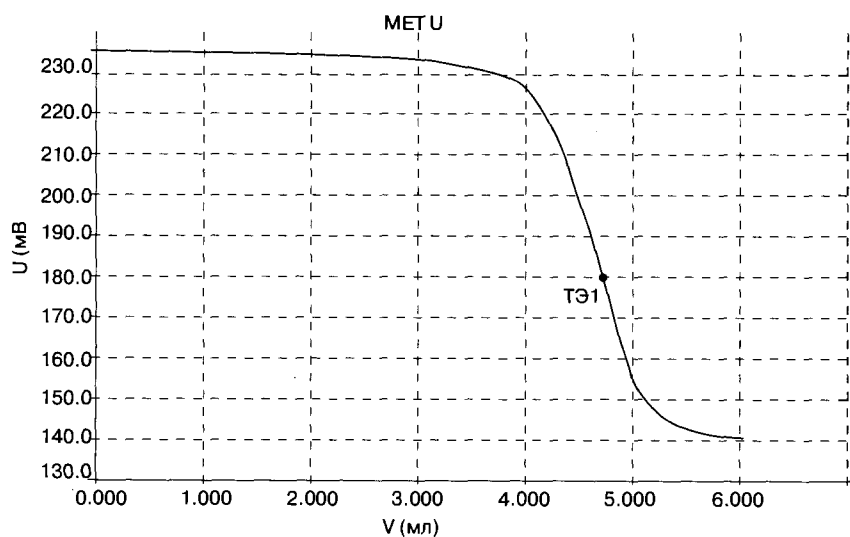


Рис. 26. Кривая титрования лекарственного препарата

Валидация проводится с непосредственным использованием чистой субстанции или приготовлением модельных смесей (отдельные навески анализируемого вещества добавляются к плацебо) с последующим проведением пробоподготовки и определением.

Оценка проводится путем установления линейной зависимости между концентрацией анализируемого вещества и расходом титранта при помощи подходящего уравнения регрессии (например, методом наименьших квадратов). Характеристики линейности включают коэффициент корреляции, наклон прямой, а также отрезок на оси ординат.

В качестве дополнительной информации для оценки линейности может быть приведено графическое изображение регрессионной прямой (см. рис. 33).

Наряду с линейной функцией для определенных способов определения точки перехода (типов детекторов) может быть установлена другая математическая зависимость, причем в каждом случае для рутинного контроля должно быть подобрано достаточное число калибровочных точек.

Пример: Результаты комплексометрического определения Mg в трисиликате магния (в пересчете на MgO) для исследования линейности.

К плацебо было добавлено определенное количество трисиликата магния и проведена подготовка пробы в соответствии с методикой контроля (рис. 27).

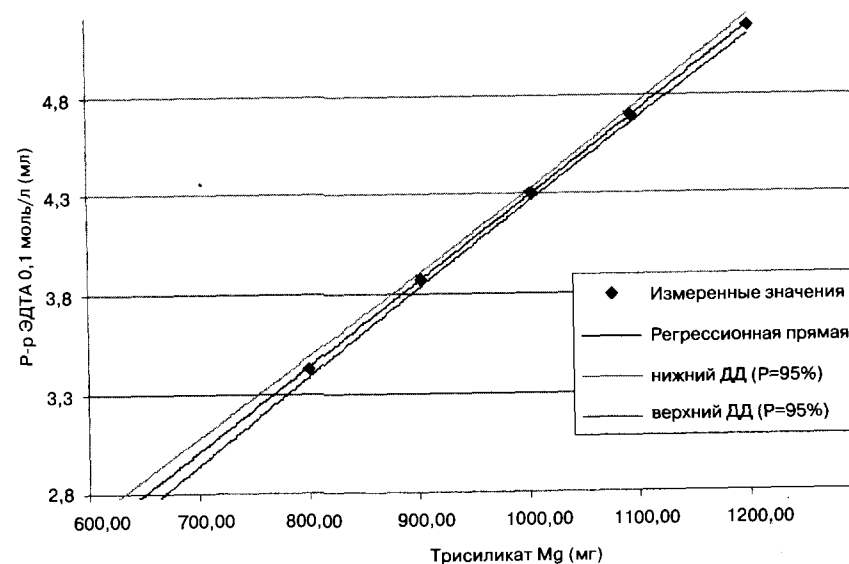


Рис. 27. Графическое представление линейности методики комплексометрического определения магния в трисиликате магния (в пересчете на MgO)

Таблица 9. Линейность комплексометрического определения магния в трисиликате магния (в пересчете на MgO)

Уровень концентрации, %	Навеска трисиликата магния, мг	Расход 0,1 М раствора ЭДТА, мл
80	800,3	3,429
80	800,0	3,415
90	900,7	3,899
90	899,3	3,888
100	1000,1	4,323
100	999,6	4,298
110	1099,5	4,642
110	1099,6	4,668
120	1200,0	5,189
120	1199,6	5,174

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$y = 0,0043x + 0,0209$
Наклон <i>a</i>	0,0043
Отрезок на оси ординат <i>b</i> : 95% доверительный интервал	0,0209 от -0,1889 до 0,2308
Коэффициент корреляции <i>r</i>	0,9982

2.3. Диапазон применения

Внутри заданного диапазона применения методики должны быть доказаны линейность, правильность и прецизионность. При подтверждении названных валидационных характеристик дальнейшие исследования в рамках диапазона применения не требуются.

При количественном определении субстанции диапазон применения должен составлять 80—120% концентрации анализируемого вещества в лекарственной форме.

2.4. Правильность

Правильность аналитической методики количественного определения доказывается на всем диапазоне применения. При титровании правильность не доказывается путем сравнения методики, так как титриметрия является так называемым абсолютным методом. Правильность показывается путем определения отклика по одному из следующих методов.

Метод с плацебо

В методе определяется отклик действующего вещества в плацебо. Концентрация плацебо составляет 100% навески, указанной в методике контроля. Действующее вещество добавляется в модельную смесь в соответствии с требуемым уровнем концентрации (нижняя граница — макс. 80, 100% ; верхняя граница — мин. 120%).

Метод добавок

В методе отклик определяется путем добавления действующего вещества к исследуемому образцу с известной концентрацией субстанции.

Пример: Навеска содержит 70% выбранной концентрации в пробе; затем добавками содержание субстанции доводят до 80, 100, 120%.

Для определения правильности при обоих методах (с плацебо и методе добавок) проводится как минимум 9 испытаний с не менее 3 концентрациями в определенном диапазоне применения методики (например, 3 концентрации с 3-кратным определением для каждой концентрации с выполнением всех стадий аналитической методики).

Оценка проводится путем расчета процента определения известного добавленного количества действующего вещества, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения (P = 95%).

Доверительный интервал среднего значения должен включать 100%. Если при очень низком КВ значение 100% не попадает в доверительный интервал, фирма «Производитель» проводит последующую оценку методики в рамках подтверждения достоверности.

В соответствии с Руководством СРМР/ICH по валидации аналитических методик Q2B правильность может быть определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны прецизионность, линейность и специфичность методики. Фирма «Производитель», несмотря на это, считает необходимым в отношении контроля готовых продуктов проведение экспериментального определения правильности аналитической методики в рамках ее валидации, так как требуется учитывать эффекты плацебо.

Пример: Результаты комплексометрического определения Mg в трисиликате магния (в пересчете на оксид магния) при исследовании правильности методики.

К плацебо было добавлено определенное количество трисиликата магния, пробоподготовка проведена в соответствии с методикой контроля.

Таблица 10. Правильность методики комплексометрического определения магния в трисиликате магния (в пересчете на MgO)

Уровень концентрации, %	Навеска трисиликата магния, мг	Расход 0,1 М р-ра ЭДТА, мл	Определенное содержание MgO, мг	Заданное содержание оксида магния, мг	Отклик, %
80	800,3	3,429	86,38	86,87	99,43
80	800,0	3,415	86,00	86,84	99,04
80	800,2	3,424	86,23	86,66	99,27
100	1000,1	4,323	108,88	108,56	100,29
100	999,6	4,298	108,26	108,50	99,78
100	999,5	4,291	108,08	108,49	99,62
120	1200,0	5,189	130,69	130,26	10,33
120	1199,6	5,174	130,33	130,22	100,08
120	1199,7	5,178	130,42	130,23	100,15

Окончание табл. 10

Статистические характеристики, %	Результаты
Среднее значение	99,78
Стандартное отклонение	0,47
Коэффициент вариации (КВ)	0,47
Нижняя граница доверительного интервала (P = 95%)	99,42
Верхняя граница доверительного интервала (P = 95%)	100,14

2.5. Прецизионность

2.5.1. Сходимость (повторяемость)

Сходимость должна показать, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (такой же автотитратор, тот же лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи испытаний:

- не менее 6 подготовленных проб при 100% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе;
- не менее 9 подготовленных проб внутри диапазона применения методики (см. раздел 2.3) (например, 3 концентрации, 3 повтора).

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, КВ и доверительного интервала. Приемлемое значение для коэффициента вариации необходимо устанавливать в зависимости от предполагаемых возможных значений (например, границы нормы для содержания действующего вещества в лекарственном препарате). В зависимости от определенного КВ (относительного стандартного отклонения) и границ нормы в спецификации устанавливается число испытаний, которые необходимо провести для одной пробы. Для определения требуемого количества испытаний см. табл. 1 на с. 31 данного руководства.

Пример: Проведение 6 испытаний, включая пробоподготовку (образец — объединенная навеска из 20 таблеток), при 100% концентрации действующего вещества.

Таблица 11. Повторяемость комплексонометрического определения магния (в пересчете на MgO) в таблетке «образец В»

Обозначение в анализе	Расход 0,1 М р-ра ЭДТА, мл	Содержание магния (в пересчете на MgO), мг / таблетку
Проба 1	4,265	107,43
Проба 2	4,298	108,26
Проба 3	4,251	107,08
Проба 4	4,323	108,87
Проба 5	4,351	109,59
Проба 6	4,339	109,29

Окончание табл. 11

Статистические характеристики	Результаты
Наименьшее значение, мг/таблетка	107,08
Наибольшее значение, мг/таблетка	109,59
Среднее значение, мг/таблетка	108,42
Стандартное отклонение, мг/таблетка	1,01
Коэффициент вариации (КВ), %	0,93
Доверительный интервал (P = 95%), мг/таблетка	107,36— 109,48

2.5.2. Промежуточная прецизионность

С помощью промежуточной прецизионности должно быть показано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних обстоятельств при условии однородности пробы.

При проведении валидации следует учесть все определенные ситуации для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, являются сотрудники, день проведения испытания и автотитратор.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Пример: Два сотрудника в различные дни; испытание проводится как в предыдущем примере на с. 72.

Таблица 12. Результаты определения сходимости

Обозначение	Сотрудник А, день 1			Сотрудник В, день 2		
	Навеска трисиликата Mg, г	Расход 0,1 М р-ра ЭДТА, мл	Содержание Mg (в пересчете на MgO), мг/табл	Навеска трисиликата Mg, г	Расход 0,1 М р-ра ЭДТА, мл	Содержание Mg (в пересчете на MgO), мг/табл
VP-1	1,3339	4,265	107,43	1,3398	4,274	107,64
VP-2	1,3392	4,298	108,26	1,3400	4,263	107,36
VP-3	1,3391	4,251	107,08	1,3390	4,223	106,38
VP-4	1,3397	4,323	108,87	1,3401	4,324	108,90
VP-5	1,3403	4,351	109,59	1,3399	4,344	109,41
VP-6	1,3398	4,339	109,29	1,3395	4,314	108,67

Окончание табл. 12

Статистические характеристики	Результаты сотрудник А	Результаты сотрудник В
Наименьшее значение, мг/таблетка	107,8	106,38
Наибольшее значение, мг/таблетка	109,59	109,41
Среднее значение, мг/таблетка	108,42	108,06
Стандартное отклонение, мг/таблетка	1,01	1,13
Коэффициент вариации (КВ), %	0,93	1,05
Доверительный интервал (P = 95%), мг/таблетка	107,36—109,48	106,87—109,25
$F(5\%; 5; 5) = 5,05^*$	Контрольное значение $PG_{\text{кр}}: 1,25^{***}$	
$t(5\%; 10) = 2,228^{**}$	Контрольное значение $PG_{\text{кр}}: 0,58^{***}$	

* $F(5\%; f_1; f_2): f_1 = n_1 - 1; f_2 = n_2 - 1.$

** $t(5\%; f): f = n_1 + n_2 - 2.$

*** $PG_{\text{кр}} < F(5\%)$ или $PG_{\text{кр}} < t(5\%)$. Различия между средними значениями и стандартными отклонениями для 1 и 2 сотрудников случайны.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений коэффициентов вариации и доверительных интервалов для среднего значения ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$, или 5%).

Заключение о сходимости проводится на фирме «Производитель» на основе критериев приемлемости, заданных в плане валидации, причем планом определяются критерии для коэффициентов вариации и для отклонений отдельных средних значений. Другими описательными статистическими оценками или критериями могут быть, например, F -тест и t -тест.

2.6. Робастность

Аналитическая методика считается робастной, если на ее результаты не влияют небольшие, специально внесенные в рамках валидации изменения. Робастность методики проверяется на фирме «Производитель» в рамках фармацевтической разработки.

При этом учитывают комплексность анализа и особенности анализируемого вещества. Специально изменяемыми параметрами при титровании являются, например, количество индикатора, температура, значение pH или скорость титрования.

2.7. Набор данных

На фирме «Производитель» валидационные характеристики, такие как линейность, правильность и прецизионность, могут определяться на одном и том же наборе данных и представляться отдельно.

Для выполнения статистически достоверных F - и t -тестов при определении сходимости необходимо обеспечить однородность анализируемой пробы.

Г. Газожидкостная хроматография (ГЖХ)

При валидации методик с применением газожидкостной хроматографии фирма «Производитель» использует два подхода, в зависимости от того, какой используется метод нормализации — с внешним или внутренним стандартом.

Пример подхода с использованием внутреннего стандарта приведен в разделе 2.3.2, с использованием внешнего стандарта — в подразделе 3.2.1 (с. 86).

Критерии приемлемости валидационных параметров методики приводятся в соответствующем валидационном плане фирмы «Производитель». (Пример возможных критериев приемлемости см. в Приложении, с. 115.)

1. Подлинность

Валидация аналитических методик для проведения испытаний исходных материалов и готовых препаратов по показателю «подлинность» на основе метода газожидкостной хроматографии проводится согласно принципам, описанным для методик ВЭЖХ-хроматографии (см. глава А, раздел 1, с. 18).

2. Количественное определение

2.1. Исходные вещества

2.1.1. Субстанции, полученные химическим синтезом

Если в методике количественного определения используется метод ГЖХ, то фирма «Производитель», как правило, использует методики анализа, описанные в соответствующей монографии фармакопеи; следовательно, считаются провалированными методики, описанные в Европейском регистрационном досье на субстанцию (EDMF)¹, если их валидация проведена в соответствии с руководством ICH. Использование методик обосновывается соответствующим образом.

Если применяется методика, разработанная фирмой «Производитель», то ее валидация проводится с использованием принципов, описанных для методик ВЭЖХ-хроматографии (см. глава А, раздел 1, с. 18).

2.1.2. Субстанции из лекарственного растительного сырья

Методики количественного определения субстанций из лекарственного растительного сырья идентичны методикам количественного определения в лекарственном препарате. Поэтому их валидация проводится в рамках валидации аналитических методик количественного определения в готовых лекарственных средствах (см. ниже, раздел 2.3.2).

2.2. Внутрипроизводственный контроль

Если в рамках внутрипроизводственного контроля необходимо проведение количественного определения при помощи метода ГЖХ, то для этого применяются те же методики, что и для определения содержания в лекарственном препарате методом ГЖХ (см. раздел 2.3).

¹ См. примеч. переводчика на с. 51.

2.3. Лекарственный препарат

2.3.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом

В методике, разработанной фирмой «Производитель» с использованием ГЖХ всегда используется внутренний стандарт. Валидация методики проводится с использованием принципов, описанных для методик методом ВЭЖХ-хроматографии (см. главу А, раздел 2.3.1, с. 33).

Особенности нормализации методом внутреннего стандарта учитываются аналогично тому, как это описано в следующем разделе для препаратов из лекарственного растительного сырья.

2.3.2. Из субстанции растительного происхождения

Примечание: На фирме «Производитель» в качестве исходных материалов растительного происхождения используются экстракты. Приведенные далее методы валидации могут быть использованы при оценке методик для других лекарственных веществ.

2.3.2.1. Лекарственный препарат из стандартизированного экстракта

Известные к настоящему моменту стандартизированные экстракты не контролируются фирмой «Производитель» при помощи метода газовой хроматографии.

2.3.2.2. Лекарственный препарат из количественно охарактеризованного экстракта

а) Специфичность

Специфичность методики подтверждается доказательством того, что:

- все вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственного препарата, при установленных условиях хроматографирования или не дают никакого пика или дают пики, отчетливо отличающиеся от пиков определяемого характеристического компонента;
- характеристический компонент, содержащийся в экстракте, четко определяется в присутствии имеющихся в экстракте веществ;
- подлинность определяемого характеристического компонента доказана при помощи стандартного образца с известной или доказанной структурой путем сравнения времен удерживания и — в настоящем примере — не происходит никакого наложения с внутренним стандартом.

Оценка специфичности методики проводится путем сравнения ГЖХ-хроматограммы лекарственного препарата с хроматограммами:

- плацебо (смеси всех компонентов без экстракта) и/или
- экстракта с доказанной подлинностью или
- стандартного образца и (в данном примере)
- внутреннего стандарта.

Примеры: (рис. 28—32).

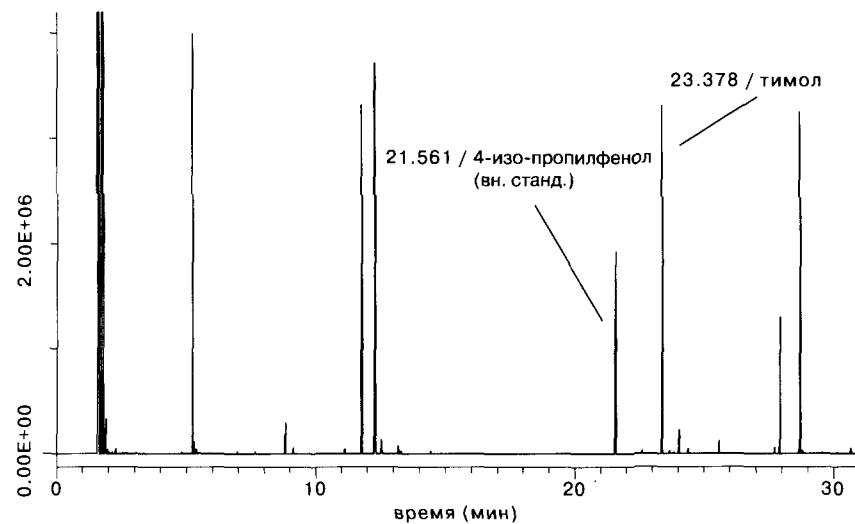


Рис. 28. ГЖХ-хроматограмма лекарственного препарата, содержащего жидкий экстракт тимьяна (нормализация внутренним стандартом). Детектор: ПИД

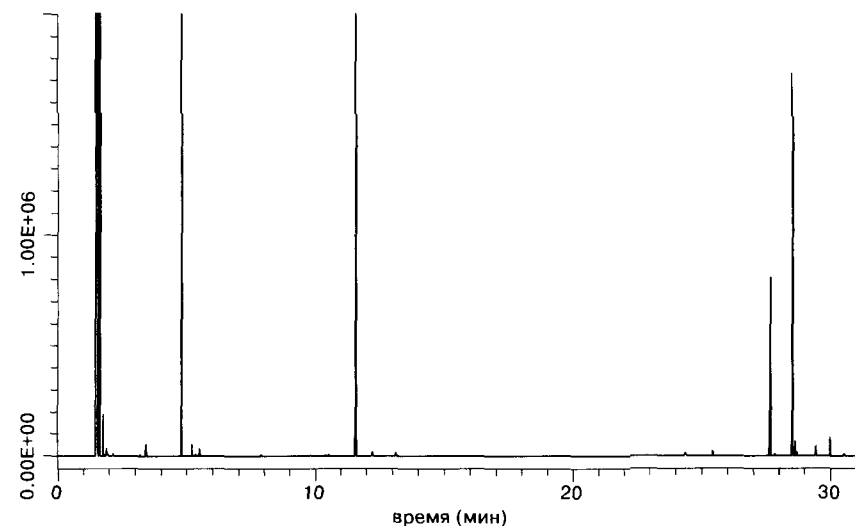


Рис. 29. ГЖХ-хроматограмма плацебо (матрикс лекарственного препарата, нормализация без внутреннего стандарта). Отсутствуют какие-либо соответствующие пики в области удерживания ожидаемого анализируемого вещества и внутреннего стандарта. Детектор: ПИД

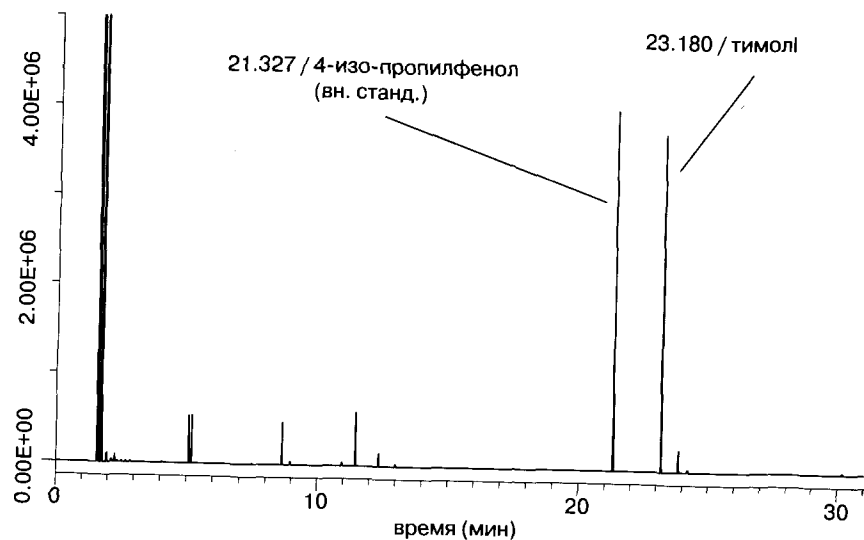


Рис. 30. ГЖХ-хроматограмма жидкого экстракта тимьяна с подтвержденной подлинностью (добавка в лекарственный препарат, нормализация внутренним стандартом). Детектор: ПИД

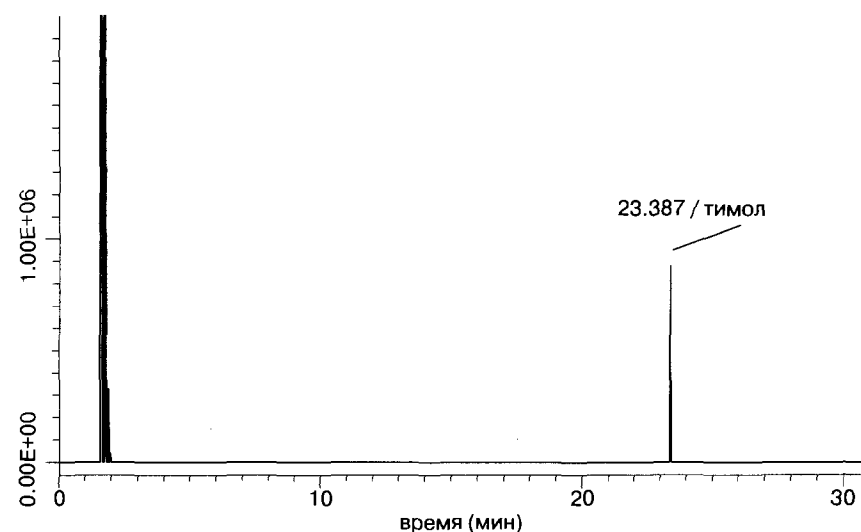


Рис. 32. ГЖХ-хроматограмма стандартного образца тимола. Детектор: ПИД

1. Линейность

Линейность аналитической методики считается доказанной, если в выбранном диапазоне применения можно показать прямо пропорциональное соотношение между концентрацией исследуемого вещества (например, тимола) в исследуемом растворе и (в настоящем примере) соотношением площадей пиков (размером пиков) исследуемого вещества к внутреннему стандарту.

Линейность методики оценивается на не менее 5 концентрациях испытуемого вещества в диапазоне применения методики как минимум 80—120% концентрации анализируемого вещества (например, тимола) и постоянной концентрации внутреннего стандарта в исследуемом растворе.

Определение линейности проводится:

- на ряде разведений стандартного образца с добавленным внутренним стандартом в постоянной концентрации (см. пример в этом разделе);
- добавлением экстракта с известным содержанием (например, тимола) к плацебо (смеси всех остальных компонентов) и добавлением внутреннего стандарта в постоянной концентрации.

Оценка проводится путем установления линейной зависимости между концентрацией и соотношением площадей пиков анализируемого вещества к внутреннему стандарту при помощи подходящего уравнения регрессии (например, методом наименьших квадратов). Характеристики линейности включают коэффициент корреляции, наклон прямой, а также отрезок на оси ординат. В качестве дополнительной информации для расчета линейности может быть использовано графическое изображение регрессионной прямой.

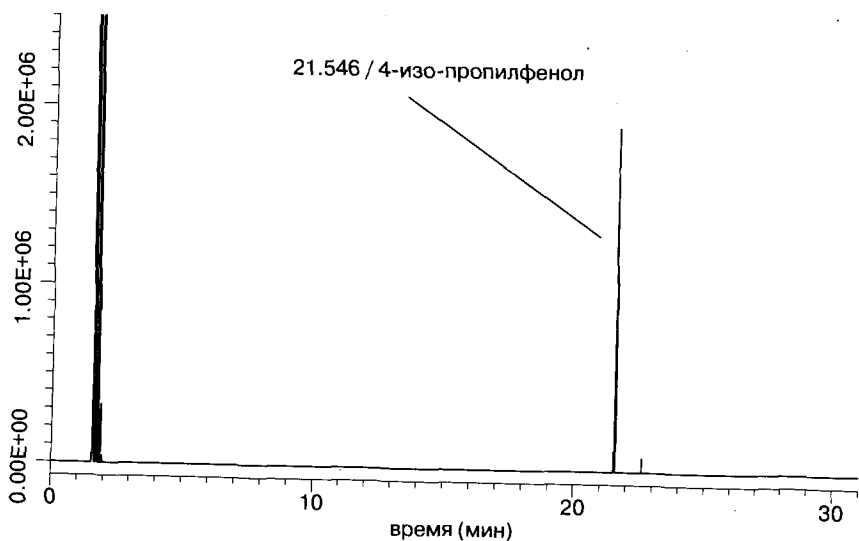


Рис. 31. ГЖХ-хроматограмма внутреннего стандарта 4-изо-пропилфенола. Детектор: ПИД

Если при рутинном контроле предусматривается калибровка по одной точке доверительный интервал отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций 10—120%.

Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного контроля должно быть подобрано соответствующим образом.

Пример: Линейность определения тимола (рис. 33).

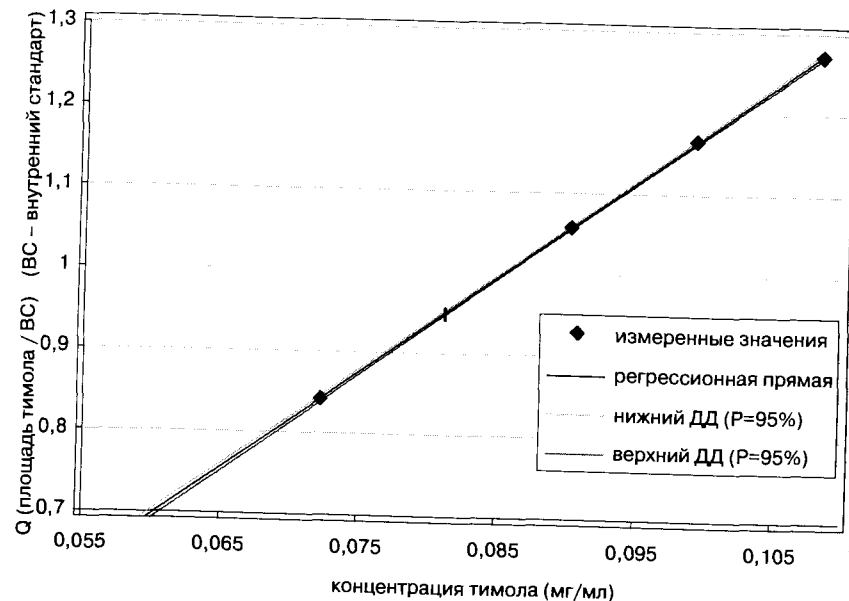


Рис. 33. Графическое представление линейности; соотношения (Q) площадей пиков тимола / внутреннего стандарта (IS) в зависимости от концентрации

Таблица 13. Измеренные значения и статистические характеристики

Уровень концентрации тимола, %	Тимол, мг/мл	Площадь пика тимола	Площадь пика внутр. стан-та (ВС)	Q (площади пика тимола / ВС)
80	0,0722	22293	26482	0,8420
90	0,0812	25029	26415	0,9450
100	0,0902	27349	25850	1,0580
110	0,0992	30992	26589	1,1660
120	0,1083	32409	25474	1,2720

Окончание табл. 13

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$y = 11,951x - 0,021$
Наклон a	11,951
Отрезок на оси ординат b: 95% доверительный интервал	-0,021; от -0,0364 до 0,0056
Коэффициент корреляции r	0,99997

б) Диапазон применения

В выбранном диапазоне применения методики (как минимум 80%—120% концентрации исследуемого вещества в пробе) должны быть доказаны линейность, правильность и прецизионность (см. пп. от б до г).

в) Правильность

Определение правильности аналитической методики для количественного определения проводится во всем диапазоне применения (см. п. б). Правильность может быть показана двумя способами.

А. Определение ошибки фактора отклика

Если действующее вещество, определяющее терапевтическую активность растительного препарата, известно (например, тимол), то проводится определение фактора отклика компонента с известной структурой.

А.1. Метод плацебо

К плацебо лекарственного препарата добавляется экстракт с определенным количеством компонента, определяющего терапевтическую активность, в соответствии с определенным уровнем концентрации (например, для 80, 100 и 120%, выполняются все этапы методики, включая пробоподготовку и — как в настоящем примере — добавление внутреннего стандарта).

А.2. Метод добавок

В методе добавок фактор отклика определяется добавлением к исследуемому образцу с известной концентрацией анализируемого вещества и — как в настоящем примере — внутреннего стандарта либо добавлением экстракта с определенным количеством компонента, определяющего терапевтическую активность, либо стандартного образца (например, тимола).

Пример: Навеска составляет 60% выбранной концентрации в пробе; затем добавками содержание анализируемого вещества доводят до 80, 100, 120%.

Если в образец добавляется стандартный образец, то подтверждается также правильность методики определения содержания компонента, определяющего терапевтическую активность в экстракте.

Для определения правильности при обоих методах (с плацебо и методе добавок) проводится как минимум 9 испытаний с не менее 3 концентрациями

в определенном диапазоне применения методики (например, 3 концентрации с 3-кратным определением для каждой концентрации с выполнением всех этапов аналитической методики).

Оценка проводится путем расчета (в %) фактора отклика добавленного анализируемого вещества, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($n = 9$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$).

В. Метод сравнения

Сравнение результатов аналитической методики с результатами второй, независимой и провалидированной методики.

Расчет проводится с учетом статистических тестов (например, *F*- и *t*-тесты).

В соответствии с Руководством СРМР/ICH по валидации аналитических методик Q2B правильность методики может быть также определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны прецизионность, линейность и специфичность методики.

Фирма «Производитель», несмотря на это, считает необходимым для контроля готовых продуктов проведение экспериментального определения правильности аналитической методики в рамках ее валидации, так как требуется учитывать эффекты плацебо.

Пример: Оценка фактора отклика жидкого экстракта тимьяна в пересчете на тимол. Использовался метод плацебо (добавление жидкого экстракта тимьяна к плацебо). Пробоподготовка проведена в соответствии с условиями валидируемой аналитической методики.

Таблица 14. Результаты исследования правильности аналитической методики для определения содержания жидкого экстракта тимьяна (ЖЭТ) в каплях «Образец X»

Уровень концентрации, %	Задано ЖЭТ, г/100 мл	Найденное значение, г/100 мл	Отклик, %
80	34,72	33,94	97,75
80	34,48	33,24	96,40
80	34,80	34,42	98,91
100	43,47	42,52	97,81
100	43,76	42,96	98,17
100	43,88	43,07	98,15
120	52,15	50,86	97,53
120	52,12	50,56	97,01
120	52,09	50,94	97,79

Окончание табл. 14

Статистические характеристики, %	Результаты
Наименьшее значение	96,40
Наибольшее значение	98,91
Среднее значение	97,73
Стандартное отклонение	0,72
Кoeffициент вариации	0,73
Доверительный интервал ($P = 95$)	97,73 ± 0,60

г) Прецизионность

Сходимость (повторяемость)

Сходимость методики должна подтвердить, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (тот же ГЖХ-хроматограф, тот же лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи:

- испытаний не менее 9 подготовленных проб внутри диапазона применения методики (см. п. б) (например, 3 концентрации, 3 повтора);
- испытаний не менее 6 подготовленных проб при 100% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе.

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала для среднего значения ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$).

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного интервала. Приемлемое значение для коэффициента вариации необходимо устанавливать в зависимости от предполагаемых возможных значений (например, границы нормы для содержания действующего вещества в лекарственном препарате). В зависимости от определенного коэффициента вариации (относительного стандартного отклонения) и границ нормы в спецификации устанавливается число испытаний, которые необходимо провести для одной пробы при рутинном контроле. Для определения требуемого количества испытаний см табл. 1 на с. 31 данного руководства.

Справедливо следующее: чем выше относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации), тем больше должно быть число проводимых испытаний одной пробы.

Литература:

Grimm W. Pharm. Ind. 35, 1973. 5. 79—85.

Промежуточная прецизионность

С помощью промежуточной прецизионности должно быть показано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от внешних обстоятельств при условии однородности пробы.

При проведении валидации следует обратить внимание на то, чтобы были учтены, по возможности, все возможные обстоятельства для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариативность, являются сотрудники, день проведения анализа и прибор ГЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений коэффициентов вариации и доверительных интервалов ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$, или 5%).

Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики на основании выполнения критериев приемлемости, установленных в валидационном плане, причем определяются критерии, как для коэффициентов вариации так и для отклонений отдельных средних значений. Другими описательными статистическими оценками могут быть, например, F-критерий и t-критерий достоверности гипотезы.

Пример: Данные, полученные двумя сотрудниками в разные дни при работе на различных ГЖХ-приборах.

Таблица 15. Результаты определения сходимости аналитической методики

Обозначение анализа	Содержание экстракта тимьяна, г/100 мл	
	Сотрудник 1	Сотрудник 2
VP-1	43,64	43,50
VP-2	43,88	43,03
VP-3	43,58	43,79
VP-4	43,39	42,74
VP-5	43,76	42,68
VP-6	43,56	43,00

Статистические характеристики	Результат	Результат
Наименьшее значение, г/100 мл	43,39	42,68
Наибольшее значение, г/100 мл	43,88	43,79
Среднее значение, г/100 мл	43,64	43,12
Стандартное отклонение, г/100 мл	0,17	0,44
Коэффициент вариации, %	0,39	1,01
Доверительный интервал ($P = 95\%$), г/100 мл	43,46—43,82	42,66—43,58

д) Робастность

Аналитическая методика считается робастной, если на ее результаты не влияют небольшие, специально внесенные в рамках валидации изменения. Робастность методики проверяется на фирме «Производитель» в рамках фармацевтической разработки. При этом учитывают комплексность анализа и особенности анализируемого вещества. Специально измененными параметрами являются, например, скорость потока, программируемая температура, материал или серия колонки, длина колонки, хранение испытуемых и стандартных растворов (их стабильность).

е) Набор данных

См. в гл. А, подраздел 2.1.1, п. ж, с. 32.

2.3.2.3. Лекарственный препарат из прочего (альтернативного) экстракта

Описывается в предыдущем подразделе 2.3.2.2.

3. Остаточные растворители

3.1. Исходные материалы

Если исходные материалы (субстанции, полученные химическим синтезом, или субстанции из лекарственного растительного сырья) контролируются в отношении примесей на наличие остаточных растворителей при помощи газовой хроматографии, то применяется порядок, описанный в гл. А, раздел 3.1 (с. 51).

В Европейской фармакопее — 4 изд., основной том (2002 г.) — в главе II во введении указано: «Остаточные растворители: Требования в отношении остаточных растворителей приведены в монографии «Субстанции для фармацевтического применения», а также в общих главах «2.4.24. Идентификация и определение остаточных растворителей» и «5.4. Остаточные растворители». Таким образом, все фармацевтические субстанции и вспомогательные вещества подлежат соответствующему контролю на наличие остаточных растворителей, даже если в частной монографии не предусмотрен такой показатель качества. Эти требования совпадают с аналогичными требованиями ICH.

Для аналитических методик оценки примесей Руководство CPMP/ICH Q2A рекомендует определять следующие параметры:

Характеристики	Тип аналитической методики: контроль примесей. Количеств. предел обнаружения
Правильность	+ -
Прецизионность	
- повторяемость	+ -
- сходимость	+* -
Специфичность**	+ +
Предел обнаружения	-*** +
Предел количественного определения	+ -
Линейность	+ -
Диапазон	+ -

Примечание:

- * В случаях, когда подтверждается повторяемость, определение внутрилабораторной прецизионности не требуется.
- ** Недостаточная специфичность аналитического метода может быть компенсирована другими вспомогательными аналитическими методиками.
- *** Может быть необходимо в некоторых случаях.
- «-» — указывает на то, что эта характеристика обычно не оценивается.
- «+» — указывает на то, что эта характеристика обычно оценивается.

3.2. Лекарственный препарат

3.2.1. Из субстанции, полученной химическим синтезом

Вне зависимости от типа примесей (остаточные растворители согласно руководствам СРМР ICH Q3С или Руководству Q3В(R) относятся к органическим примесям) для аналитических методик с использованием метода ГЖХ фирма «Производитель» применяет принципы валидации, указанные в таблице Руководства СРМР/ICH Q2А для аналитических методик оценки примесей, которые приведены на с. 51 данного руководства.

В соответствии с руководством ICH Q3В фирма «Производитель» использует при изготовлении лекарственных средств только растворители 2 го и 3-го классов опасности.

Далее описан порядок действий фирмы «Производитель» при валидации методики определения остаточных растворителей в лекарственном препарате методом ГЖХ с использованием внешнего стандарта.

В настоящем руководстве приведен пример количественного определения остаточного растворителя класса 3 (растворитель с незначительным токсическим эффектом), который попадает в препарат исключительно в ходе технологического процесса (растворитель для получения пленочной оболочки). Установленное фирмой «Производитель» предельное содержание 2-пропанола в таблетке «ретард» составляет 8000 ppm (выше, чем предельная допустимая концентрация 5000 ppm, установленная в руководстве ICH Q3С).

а) Специфичность

Специфичность аналитической методики доказана, если:

- ни используемый при испытании растворитель,
- ни подвижная фаза,
- ни компоненты плацебо (смесь всех ингредиентов, включая действующее вещество, кроме определяемого остаточного растворителя)

не искажают результат определения содержания остаточного растворителя в лекарственном препарате.

Специфичность методики показывается путем представления соответствующей хроматограммы.

На рис. 34 приведены ГЖХ-хроматограммы растворов. Определяемый остаточный растворитель 2-пропанол разделяется с используемым в аналитической методике растворителем ДМФ. На хроматограммах растворов от 3 до 6 в пределах требуемой аналитической точности отсутствуют пики в соответствующей области удерживания.

Пример: Определение содержания 2-пропанола в таблетках «ретард» Следующие вещества вводятся по отдельности или составляют модельную смесь:

- 1) диметилформамид — ДМФ (растворитель, используемый в аналитической методике),
- 2) 2-пропанол в ДМФ (5000 ppm),
- 3) эудрагит RS (в ДМФ)¹,

- 4) эудрагит L (в ДМФ),
- 5) вспомогательная матрица ядра таблетки (в ДМФ),
- 6) действующее вещество (45 мг/л).

Следовательно, валидируемая методика может считаться достаточно специфичной для определения 2-пропанола в качестве остаточного растворителя.

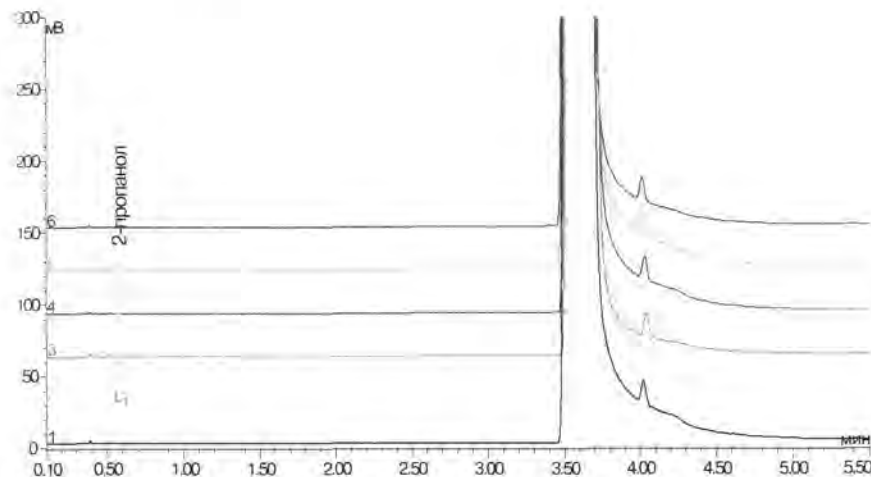


Рис. 34. ГЖХ-хроматограммы растворов от 1 (растворитель ДМФ, используемый в аналитической процедуре) до 6 (действующее вещество)

б) Линейность

Линейность аналитической методики (для определения остаточных растворителей) доказана, если в выбранном диапазоне применения может быть показано пропорциональное соотношение между концентрацией остаточного растворителя в исследуемом растворе и фактором отклика детектора.

Линейность методики оценивается, по крайней мере в диапазоне концентраций от 80 до 120% заданного предельного содержания соответствующего остаточного растворителя (более подробно см. п. в).

Линейность показывается непосредственно с использованием стандартного образца растворителя (ряд разведений стандартного раствора) либо при помощи отдельных количеств растворителя, добавляемых к плацебо, с последующей пробоподготовкой и определением. Для определения линейности обрабатываются и анализируются как минимум 5 концентраций растворителя, причем значение для каждого испытания получается путем усреднения нескольких значений при многократном введении пробы в хроматограф.

Оценка линейности методики по выявлению линейной взаимосвязи между концентрацией и сигналом проводится при помощи подходящего регрессион-

¹ Коммерческое название пленочного покрытия. — Примеч. переводчицы.

ного уравнения (например, методом наименьших квадратов). Характеристики линейности выражаются в виде коэффициента корреляции, наклона прямой а также отрезка на оси ординат. В качестве дополнительной информации для оценки линейности может быть приведено графическое представление и отклонение полученных значений от регрессионной прямой.

Если для рутинного анализа количественного определения предусматривается калибровка по одной точке, то доверительный диапазон отрезка на оси ординат должен включать нулевую точку. В этом случае фирма «Производитель» оценивает линейность методики в диапазоне концентраций примеси от 10 до 120%.

Наряду с линейной функцией для определенных типов детекторов может быть показана другая математическая зависимость, причем число калибровочных точек для рутинного анализа должно быть подобрано соответствующим образом.

Пример: Оценка линейности методики определения 2-пропанола в таблетке «ретард».

Был приготовлен ряд разведений исходного стандартного раствора растворителя (500, 1000, 2500, 5000, 8000 и 10 000 ppm исследуемого остаточного растворителя).

В соответствии с методикой контроля пробы из каждого разведения вводились дважды. Оценивался фактор отклика и соответствующая ему концентрация остаточного растворителя.

Линейность методики задана в диапазоне как минимум 500—10 000 ppm содержания растворителя в таблетке «ретард» (соответствует 6,25—125% допустимой максимальной концентрации растворителя).

Таблица 16. Линейность количественного определения остаточного растворителя: измеренные значения и статистические характеристики

Ряд разведений, мл осн. р-ра / 100 мл	Расчетная концентрация, мг / 100 мл	Единицы площади
0,5	500	0,353
1,0	1000	0,574
2,5	2500	1,330
5,0	5000	2,870
8,0	8000	4,590
10,0	10000	5,549

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$y = 0,00056x + 0,028$
Наклон а	0,00056
Отрезок на оси ординат b	0,028
95% доверительный интервал	от -0,121 до 0,177
Коэффициент корреляции r	0,9994

в) Диапазон применения

Внутри определенного диапазона концентраций испытуемого вещества должны быть соответствующим образом доказаны линейность, правильность и прецизионность аналитической методики. При определении названных валидационных характеристик дальнейшие исследования в рамках диапазона применения методики не требуются.

Документированным доказательством линейности методики ГЖХ является калибровочная прямая (рис. 35).

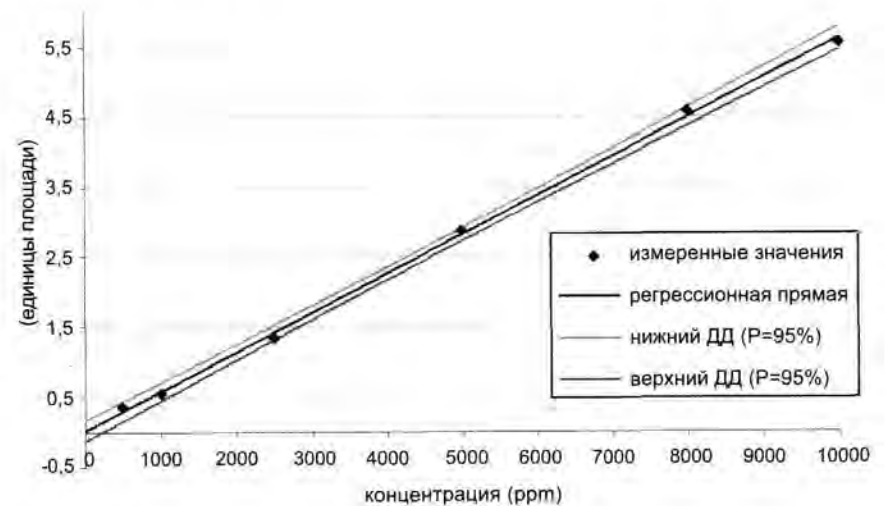


Рис. 35. Линейность методики определения 2-пропанола в таблетке «ретард»

Пример: Определение 2-пропанол в таблетке «ретард».

Установленное фирмой «Производитель» значение для растворителей класса 3 составляет 8000 ppm. Исходя из этого, согласно руководству СРМР/ICH Q2B, минимальный диапазон применения методики должен быть от 4000 ppm (т.е. 80% пограничной концентрации 5000 ppm) до 9600 ppm (120% установленного значения).

В данном примере диапазон применения был выбран от 500 до 10 000 ppm, так как в рамках фармацевтической разработки препарата должны количественно определяться концентрации растворителя ниже 4000 ppm.

г) Правильность

Определение правильности аналитического методики количественного определения остаточного растворителя проводится на всем диапазоне применения (см. выше) на основе фактора отклика.

А. Определение ошибки фактора отклика

А.1. Метод с плацебо

В методе с плацебо определяется фактор отклика остаточного растворителя в плацебо. Концентрация плацебо составляет 100% навески, указанной в методике контроля. Количество используемого при изготовлении лекарственной формы остаточного растворителя добавляется в плацебо в соответствии с требуемым уровнем концентрации.

А.2. Метод добавок

В методе добавок фактор отклика определяется путем добавления растворителя, используемого при изготовлении лекарственной формы, к исследуемому образцу с известной концентрацией остаточного растворителя.

Например, навеска составляет 70% предельной концентрации, установленной в нормативном документе; затем добавками содержание остаточного растворителя доводят до количества остаточного растворителя в нижнем, среднем и верхнем диапазонах применения (см. п. в).

Для определения правильности при обоих методах (с плацебо и методе добавок) проводится как минимум 9 испытаний с не менее 3 концентрациями или — как в выбранном примере — в определенном диапазоне применения методики или на всем диапазоне ее применения (например, 3 концентрации с 3-кратным определением для каждой концентрации с выполнением всех стадий аналитической методики).

Оценка проводится путем расчета процента определенного фактора отклика добавленного количества растворителя, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($P = 95\%$).

Доверительный интервал среднего значения должен включать 100%. Если при очень незначительном коэффициенте вариации 100% значение не попадает в доверительный интервал, то фирма «Производитель» проводит последующую оценку методики в рамках рассмотрения достоверности данных.

Б. Метод сравнения

Сравнение результатов аналитической методики с результатами второй, независимой и провалидированной методики и расчет проводится с учетом статистических тестов (например, F - и t -критерии).

В соответствии с Руководством CPMP/ICH по валидации аналитических процедур Q2B правильность методики может быть определена теоретически, если в рамках валидации будут доказаны ее прецизионность, линейность и специфичность. Фирма «Производитель», несмотря на это, считает необходимым для контроля готовых продуктов проведение экспериментального определения правильности аналитической методики в рамках ее валидации, так как требуется учитывать эффекты плацебо.

Для методики определения остаточных растворителей при помощи ГЖХ фирма «Производитель» оценивает правильность методики с помощью метода оценки фактора отклика.

Пример: Результаты исследования правильности аналитической методики для определения 2-пропанола в таблетке «ретард».

Таблица 17. Определение остаточного растворителя — правильность. Определение отклика с помощью метода с плацебо

Уровень концентрации, %	Добавка 2-пропанола, ppm	Найдено 2-пропанола, ppm	Отклик 2-пропанола, %
30	2500	2491	99,6
30	2500	2465	98,6
30	2500	2458	98,3
100	8000	7925	99,1
100	8000	7910	98,9
100	8000	8042	100,5
125	10 000	10 123	101,2
125	10 000	10 085	100,8
125	10 000	9923	99,2

Статистические характеристики, %	Результаты
Среднее значение	99,6
Стандартное отклонение	1,02
Коэффициент вариации	1,02
Доверительный интервал ($P = 95$)	98,8—100,4

д) Прецизионность

Сходимость (повторяемость)

Сходимость должна показать, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях (тот же ГЖХ-хроматограф, тот же лаборант, тот же день, идентичные реактивы) обеспечивает получение сравнимых результатов.

Сходимость может быть показана при помощи анализа:

- не менее 9 подготовленных проб в рамках рабочего диапазона или на всем диапазоне применения этой методики (например, 3 концентрации, 3 повтора) или
- не менее 6 отдельно подготовленных проб из однородного образца при выбранной концентрации остаточного растворителя внутри рабочего диапазона.

Оценка и расчет результатов проводится путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного интервала ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$).

Пример: Фирма «Производитель» провела оценку сходимости методики с помощью 6-кратного определения пробы и получила следующие результаты (табл. 18).

Таблица 18. Определение остаточного растворителя — сходимость

Обозначение анализа	Навеска таблетки «ретард», мг	Содержание 2-пропанола, ррт
Проба 1	105,7	1150
Проба 2	105,7	1170
Проба 3	103,0	1180
Проба 4	103,0	1100
Проба 5	104,7	1150
Проба 6	104,7	1120

Статистические характеристики	Результаты
Среднее значение, ррт	1145
Стандартное отклонение, ррт	30
Коэффициент вариации, %	2,6
Доверительный интервал (P = 95%), ррт	1113—1177

Промежуточная прецизионность

С помощью промежуточной прецизионности должно быть показано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений внешних обстоятельств при условии однородности пробы.

При проведении валидации следует обеспечить, по возможности, учет всех обстоятельств для данной лаборатории.

Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариативность, являются сотрудники, день проведения анализа и прибор ГЖХ.

Для оценки промежуточной прецизионности используются данные сходимости (см. выше) вместе с набором данных, полученных при выполнении методики вторым сотрудником.

Оценка проводится путем расчета средних значений, стандартных отклонений, коэффициентов вариации и доверительных диапазонов ($n \geq 6$; $P = 95\%$, что соответствует $\alpha = 0,05$, или 5%).

Фирма «Производитель» делает заключение о прецизионности методики на основании выполнения критериев приемлемости, установленных в валидационном плане, причем определяются критерии для коэффициентов вариации и для отклонений отдельных средних значений.

Другими статистическими оценками могут быть, например, F-критерий и t-критерий достоверности гипотезы.

Пример: Два сотрудника в разные дни выполняют методику на разных приборах ГЖХ (табл. 19).

Таблица 19. Результаты определения сходимости

Обозначение анализа	Содержание 2-пропанола, ррт	
	Сотрудник 1	Сотрудник 2
VP-1	43,64	43,50
VP-2	43,88	43,03
VP-3	43,58	43,79
VP-4	43,39	42,74
VP-5	43,76	42,68
VP-6	43,56	43,00

Статистические характеристики	Результаты	Результаты
Наименьшее значение	1100	1080
Наибольшее значение	1180	1150
Среднее значение	1145	1115
Стандартное отклонение	30	26
Коэффициент вариации, %	2,6	2,3
Доверительный интервал (P = 95%)	1145 ± 32	1115 ± 27
F (5%; 5; 5) = 5,05*	Контрольное значение PG_F : 1,37 3***	
t (5%; 10) = 2,228**	Контрольное значение PG_t : 1,953 3***	

* $F(5\%; f_1; f_2): f_1 = n_1 - 1; f_2 = n_2 - 1.$

** $t(5\%; f): f = n_1 + n_2 - 2.$

*** $PG_t < F(5\%)$ или $PG_t < t(5\%)$. Различия между средними значениями и стандартными отклонениями результатов 1 и 2 сотрудников случайны.

е) Предел количественного определения

В Руководстве ICH Q2B приведено несколько подходов по определению предела количественного определения:

- при помощи визуальной оценки хроматограмм или
- определения соотношения «сигнал/шум» или
- определения стандартного отклонения фактора отклика и наклона калибровочной прямой.

Таблица 20. Определение предела количественного определения (значения и статистические характеристики)

Инъекция	Содержание 2-пропанола, ррт	Статистические характеристики	Результаты
Проба 1	43	Среднее значение, ррт	51
Проба 2	52	Стандартное отклонение, ррт	4,82
Проба 3	48	Коэффициент вариации, %	9,45
Проба 4	55	—	—
Проба 5	52	—	—
Проба 6	56	—	—

Фирма «Производитель» определяет предел количественного определения методик для оценки показателя «остаточные растворители» путем визуальной оценки хроматограмм различных концентраций в области гораздо ниже рабочего диапазона.

Считается, что если коэффициент вариации результатов, полученных при 6-кратном введении проб, меньше 15%¹, то выбранные таким образом концентрации определяются с требуемой достоверностью (рис. 36).

ж) Предел обнаружения

В приведенном примере проводится количественное определение остаточного растворителя класса 3, поэтому для этой методики можно не проводить определения предела обнаружения.

з) Робастность

См. подраздел 2.1.1, п. е (с. 32).

3.2.2. Из субстанции растительного происхождения

Валидация проводится аналогично подразделу 3.2.1 для лекарственного препарата из субстанции, полученной химическим синтезом.

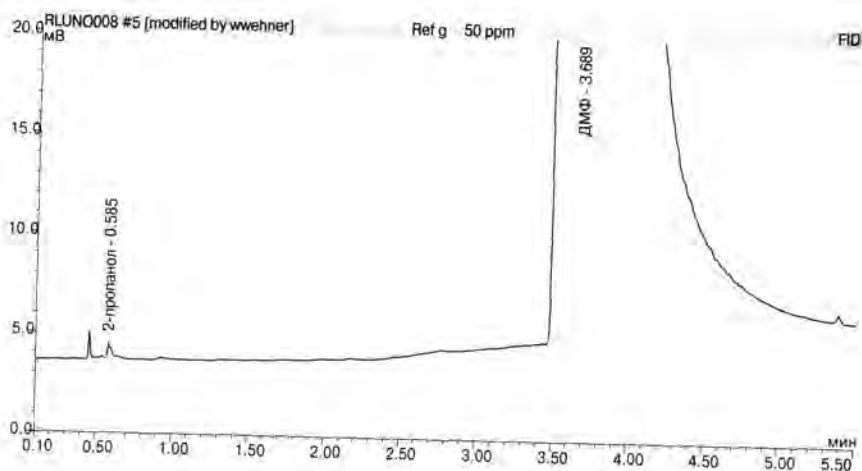


Рис. 36. Хроматограмма с визуально определенным пределом количественного определения (50 ppm 2-пропанола). Детекция: ПИД

Часть 2. Использование и аттестация стандартных образцов при контроле качества лекарственных средств

1. Введение

В ряде руководств¹ изложены принципы и требования по использованию стандартных образцов при проведении испытаний лекарственных средств. При этом специфика их использования при контроле лекарственных средств зачастую учитывается недостаточно. Весьма общие данные можно найти в Приложении II Директив ЕС 75/380/ЕС и 81/852/ЕС, в Руководствах ИСН и СРМР², а также в Приложении 6 к Правилам регистрации лекарственных средств, утвержденных Федеральным институтом лекарственных средств и медицинских продуктов (BfArM) 31 октября 1996 г.

Рекомендации и требования различных руководств по использованию стандартных образцов не являются едиными; при их применении должны учитываться конкретные цели и методики.

Пример практического выполнения установленных требований представлен в настоящем руководстве фирмы «Производитель».

Ассортимент продуктов фирмы «Производитель» включает препараты из синтетических химико-фармацевтических субстанций и препараты из лекарственного растительного сырья.

¹ Руководство ISO
 ISO 30:1992 – Термины и определения, используемые для стандартных материалов.
 ISO 31:2000 – Стандартные материалы – содержание сертификатов и этикеток.
 ISO 32:1997 – Калибровка в аналитической химии и использование сертифицированных стандартных материалов.
 ISO 33:2000 – Виды использования стандартных материалов.
 ISO 34:2000 – Общие требования к компетентности производителей стандартных материалов
 ISO 35:1989 – Сертификация стандартных материалов — Общие и статистические принципы (пересматривается).
 Все указанные Руководства ISO доступны на сайте: <http://www.iso.ch/en/CatalogueListPage.CatalogueList?ICS1=71&ICS2=40&ICS3=30> (по состоянию на декабрь 2003 г.).
 Экспертный комитет ВОЗ по спецификациям для фармацевтических препаратов. Отчет № 35. Серия технических отчетов № 885 ISBN 92 4 120885 6.
² Руководства СРМР и СРМР/ИСН «Спецификации: методы испытаний и критерии приемлемости для новых (оригинальных) фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов: химические субстанции» Q6A (СРМР/ИСН/367/96 – принято ноябрь 1999 г.).
<http://emea.eu.int/pdfs/human/ich/036796.pdf> (по состоянию на декабрь 2003 г.).

¹ Как правило, коэффициент вариации для теста пригодности хроматографической системы устанавливается на уровне 2—1,5%. — Примеч. переводчика.

2. Определения терминов / пояснения

2.1. Стандартный образец (референтный стандарт)¹

Этот термин представляет собой родовое понятие. Стандартный образец — это образец сравнения, используемый для качественного и/или количественного анализа (включая исследования стабильности) исходных материалов, промежуточных продуктов и готовых продуктов. Стандартным образцом может быть активным компонентом либо примесью. В случае растительных лекарственных средств стандартным образцом может быть образец растительного сырья, препарат (например, экстракт или настойка) или химическое вещество (например, вещества, которые известны как действующие вещества, являются основными субстанциями или считаются примесями). Стандартный образец имеет соответствующее целям его использования качество. Подлинность стандартного образца должна быть подтверждена соответствующим образом. Чистота стандартных образцов, которые используются при количественном определении, должна быть определена количественными методами.

2.1.1. Первичный стандартный образец

Первичный стандартный образец имеет определенную чистоту. Для него имеется обширная документация, описанная в разделе 3.1.

2.1.2. Фармакопейный стандартный образец

Фармакопейные стандартные образцы представляют собой стандартные образцы, указанные в соответствующих фармакопейных монографиях. Они распространяются соответствующими уполномоченными органами фармакопеи.

Действующие международные стандартные образцы (например, ВОЗ) фирма «Производитель» считает равнозначными фармакопейным стандартным образцам.

2.1.3. Рабочий стандартный образец

В рамках контроля лекарственных средств рабочие стандартные образцы используются в качестве стандартов сравнения. Они происходят от первичных или фармакопейных стандартов (в руководстве ВОЗ используется термин «вторичные стандартные образцы»). Рабочий стандартный образец является частным случаем вторичного стандартного образца. — *Примеч. переводчика*.

2.2. Стандартные материалы

Стандартные материалы — это все стандарты, используемые в рамках проверки средств контроля.

Средствами контроля являются, например, измерительные приборы, калибровочные стандарты, стандартные образцы или титрованные растворы, которые используются при проверке изготовления и контроле лекарственных средств.

¹ Фирма «Производитель» использует как стандарты не только «субстанции», но и, например, упаковочные материалы, лекарства или растворы, используя для них термин «стандартные материалы» вместо «стандартные образцы (вещества)» согласно Приложению 6 Правил регистрации лекарственных средств (BfArM) от 31.10.1996 г.

2.3. Внутренний стандарт

Внутренние стандарты в определенной концентрации добавляются к испытываемому образцу и стандартному образцу и определяются одновременно с анализируемым веществом. Калибровка (нормализация) проводится по соотношению площади или высоты пиков анализируемого вещества и внутреннего стандарта.

При выборе вещества для использования в качестве внутреннего стандарта должны быть выполнены следующие условия:

- внутренний стандарт должен быть похож на анализируемое (прежде всего в отношении способа определения) вещество, но при этом четко отличим от последнего при измерении;
- внутренний стандарт не должен быть компонентом исследуемой системы;
- внутренний стандарт должен быть достаточно стабильным.

3. Требования к стандартным образцам и их использованию

3.1. Первичные стандартные образцы

Первичные стандартные образцы, используемые фирмой «Производитель» в методиках количественного определения, сопровождаются подробной документацией. Вид и объем документации зависит от специфических свойств стандартного образца.

Эта документация содержит следующие данные:

- точное название стандартного образца; для химических стандартных образцов приводится структурная и химическая формула и номер CAS (Службы химических абстрактов Американского химического общества, Chemical abstracts service. — *Примеч. переводчика*);
- происхождение (например, название производителя);
- контролирующие организации и ответственности сторон;
- дата изготовления и поступления / выпуска / подпись лица, ответственного за выпуск;
- номер серии, размер серии или масса вещества;
- назначение, спецификация (при необходимости, с указанием ограниченности применения);
- физические свойства вещества;
- подтверждение подлинности (см. Объем исследований);
- проверки чистоты (например, родственные примеси, содержание воды, остаточные растворители, неорганические примеси) (см. Объем исследований);
- данные о содержании стандартного образца, со статистическим представлением результатов количественного определения (доверительные интервалы, дисперсия и среднее значение) (см. Объем исследований);
- дата переконтроля (ре-теста);
- условия хранения, указания по обращению;
- указания по безопасности и риску, сертификат безопасности использования;
- описание изготовления или выделения; по возможности описывается поэтапная схема получения;

- описание всех методик контроля;
- все относящиеся первичные данные (например, спектры и хроматограммы);
- литературные сведения;
- окончательная оценка аналитических результатов / пригодность для предполагаемого использования.

Важнейшая информация этой документации дополнительно обобщается в виде сертификата анализа.

Объем исследований

Подлинность стандартного образца может быть, например, доказана при помощи

- ¹H-ЯМР-спектроскопии (с расшифровкой и интерпретацией спектров);
- ¹³C-ЯМР-спектроскопии (с расшифровкой и интерпретацией спектров);
- масс-спектроскопии;
- элементного анализа;
- ИК-спектроскопии;
- спектрофотометрии в УФ и видимой области спектра;
- тонкослойной хроматографии;
- определения температуры плавления;
- поляриметрии.

Чистота стандартного образца может быть доказана путем определения:

- родственных веществ;
- содержания воды, например, титрованием по К. Фишеру;
- остаточных растворителей (ГЖХ);
- потери при высушивании;
- оптического вращения;
- температуры плавления;
- общей золы.

Содержание может быть доказано при помощи:

- прямого метода количественного определения, например, титрования, ЯМР, специфической сорбции;
- относительного метода, например, сканирующей дифференциальной калориметрии, ТСХ, ЯМР, титрования, методом 100% площадей¹ в ВЭЖХ, ГЖХ, капиллярном электрофорезе.

В принципе, определение содержания проводится с использованием не менее двух различных аналитических методик, например двух различных хроматографических (специфических) методик или при помощи хроматографического и титриметрического (группоспецифического) анализа.

В идеальном случае одна из методик количественного определения основана на прямом методе количественного определения.

Для неизвестных или непризнанных методов приводится полное описание (например, пояснения по принципу измерения), при необходимости с указанием литературных данных.

Все методы, используемые для количественного определения первичных стандартных образцов, должны быть надлежащим образом провалидированы.

¹ В Евр. Фарм. обозначается как «нормализация».

Для количественного определения подтверждение специфичности, линейности и сходимости считается достаточным. Исходя из этого, согласно Руководству ICH по валидации аналитических методик Q2B, может быть также подтверждена правильность.

Результаты используемых методик должны совпадать и тем самым убедительно доказывать величину содержания. Дополнительно может быть приведена статистическая обработка полученных результатов, например, стандартное отклонение, при достаточном количестве повторностей ($n_1, n_2 > 6$), а также 95% доверительный интервал для среднего значения.

Если статистически при помощи F - и t -критериев доказываемается, что результаты отдельных аналитических методик не различаются, то значение содержания стандартного образца рассчитывается как среднее значение всех полученных данных обеими аналитическими методиками.

При неточно известном факторе отклика примесей проводятся определения количественного содержания при помощи метода 100% площадей, причем следует различать следующие случаи.

1. Структура примесей известна

Если из структуры примесей может быть выведено, что фактор отклика примесей составляет от 75 до 125% анализируемого вещества, то доля площади стандартного образца должна составлять не менее 95%, чтобы минимизировать систематическую ошибку количественного определения (правильность).

2. Структура примесей неизвестна

Стандартный образец должен иметь по возможности максимальную чистоту.

Расчет содержания при применении метода 100% площадей проводится по следующей формуле:

$$G = G' * \left(\frac{100 - R - W - A}{100} \right),$$

где:

G — содержание первичного стандартного образца, %;

G' — содержание первичного стандарта, полученного при выполнении аналитической методики (например, ВЭЖХ), %;

R — содержание остаточных растворителей, %;

W — содержание воды, %;

A — неорганические примеси, % (если содержание неорганических примесей может быть исключено, достаточно определения R и W).

3.2. Фармакопейные стандартные образцы

Фармакопейные стандартные образцы используются только для целей, предусмотренных в соответствующей монографии, и не обязательно подходят для других контролей¹. Если они используются для указанной фармакопейной цели², то нет необходимости проводить другие исследования. Если они используются

¹ См. Евр. Фарм., 4.00 (2002), С. XIII (Введение).

² Цели применения приведены, например, в каталоге EDQM (Европейский Директорат по качеству лекарств, Европейская Фармакопея) «Химические референтные субстанции, референтные ИК-спектры, ...» в графе «Использование».

для других целей, отличающихся от указанных в фармакопее, то проводятся мероприятия, описанные в пп. 3.1 и 3.3.

При использовании фирмой «Производитель» международных признанных стандартных образцов (например, В03) и/или стандартных образцов ведущих фармакопей, то в документации регистрируется происхождение стандартного образца и соответствующим образом определенное значение количественного содержания или биологической активности.

3.3. Рабочие стандартные образцы

Если рабочие стандартные образцы используются исключительно для подтверждения подлинности испытуемого образца, то их подлинность должна быть надлежащим образом подтверждена с помощью первичных стандартных образцов (например, комбинацией двух методик, пригодных для контроля подлинности первичного стандартного образца). Точные данные по количественному содержанию являются излишними.

Подлинность и содержание рабочих стандартных образцов, предназначенных для количественных определений, включая контроль стабильности и чистоты, оцениваются с помощью первичных стандартных образцов (включая фармакопейные стандартные образцы и международные действующие стандартные образцы с учетом их указанного назначения).

Если в качестве рабочего стандартного образца для контроля чистоты используется серия действующего вещества с известным содержанием примесей, то их вид и количество должны быть точно определены.

Пример: Аттестация рабочего стандартного образца — подтверждение с помощью первичного стандартного образца.

Далее приводится пример аттестации рабочего стандартного образца путем сравнения (внутренней калибровки) обычной промышленной серии субстанции с первичным стандартным образцом:

Содержание силибина в промышленной серии субстанции сравнивается с его известным содержанием в первичном стандартном образце — силибине PRS.

Силибин является компонентом Силимарина, в состав которого входят структурно похожие флавонолигнаны силибинин А и В (смесь диастереомеров: силибин), изосилибин А и В, силихристин, силидианин (рис. 37).

Первичный стандартный образец — Силибин PRS

Первичный стандартный образец Силибин PRS был изучен и описан в соответствии с требованиями, установленными для первичного стандартного образца (см. разд. 3.1, с. 97).

Силибин PRS: содержание чистого вещества (среднее значение) 96,4%.

Количественное определение рабочего стандартного образца

Стандартный образец должен иметь по возможности максимальную чистоту.

Проведение

Были приготовлены шесть растворов Силибина PRS с шестью различными концентрациями ($c \approx 3, 4, 5, 6, 7$ и 8 мг / $25,0$ мл метанола). С использованием этих растворов были определены:

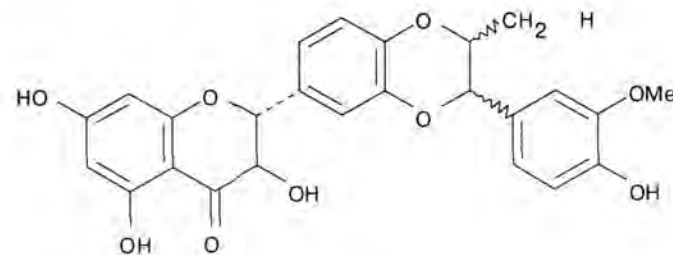


Рис. 37. Пара диастереомеров силибинина А и В

- линейная зависимость площади пика от концентрации;
- уравнение регрессионной прямой (калибровочная прямая).

Из будущего рабочего стандартного образца Силибина были приготовлены шесть растворов с одинаковой концентрацией ($c \approx 5$ мг / $25,0$ мл метанола).

Содержание силибина в этих растворах было рассчитано при помощи калибровочной прямой через суммы площадей пиков для силибина А и В.

Каждый из растворов был дважды инъецирован и проанализирован в соответствии с выбранным методом количественного определения (метод ВЭЖХ).

Последующие расчеты были проведены с использованием средних значений площадей пиков (рис. 38).

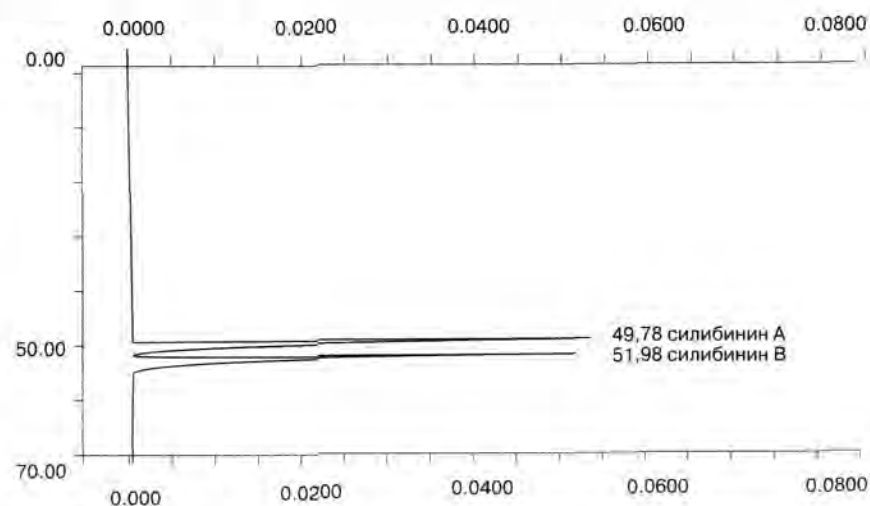


Рис. 38. ВЭЖХ-хроматограмма силибина ($c = 5,360$ мг / 25 мл метанола)

Оценка полученных данных

Таблица 21. Первичный стандартный образец Силибин PRS

Проба	Навеска (Н), мг	с (PRS) [(Н x 0,964) /25 мл]	Σ (PRS) сумма площадей пиков (силибин А и В)	R-фактор ответа Σ (PRS) /с (PRS) (пл. x 25 мл/мг)
1	3,011	2,903	53,4992	18,4314
2	4,169	4,019	73,7502	18,3508
3	4,999	4,819	88,8668	18,4409
4	6,148	5,927	109,1904	18,4236
5	6,982	6,731	124,2706	18,4634
6	8,064	7,774	140,7698	18,1078

Статистические характеристики	Результат
Среднее значение (площадь x 25 мл/мг)	18,3697
Стандартное отклонение (площадь x 25 мл/мг)	0,1335
Коэффициент вариации, %	0,73
Доверительный интервал (P = 95%)	18,3967 ± 0,1401

Статистические характеристики линейной регрессии	Результат
Уравнение прямой	$y = 18,0983x + 1,345$
Наклон a	18,0983
Отрезок на оси ординат b	1,345
95% доверительный интервал	от -2,2902 до 4,9804
Коэффициент корреляции r	0,9997

Определение фактора отклика (площадь пика/концентрация) и статистические характеристики фактора отклика (рис. 39).

Таблица 22. Будущий стандарт силибина

Расчет содержания при помощи уравнения регрессионных прямых $x = (y - 1,345) / 18,0983$ из табл. 22.

Проба	с = (Н/ 25,0 мл), мг/25,0 мл	Σ = сумма площадей пиков (силибин А и В)	Рассчитанная концентрация силибина с calc, мг/25,0 мл	Содержание = с calc x 100 / с, %
7	5,360	93,4230	5,088	94,93
8	4,989	88,4023	4,810	96,41
9	5,408	94,0631	5,123	94,73
10	5,311	94,7035	5,158	97,12
11	4,895	86,1887	4,688	95,77
12	4,997	87,5763	4,765	95,36

Окончание табл. 22

Статистические характеристики, %	Содержание
Среднее значение	95,72
Стандартное отклонение	0,91
Коэффициент вариации	0,95
Доверительный интервал (P = 95%)	95,72 ± 0,96

Содержание рабочего стандарта Силибина составляет 95,22%.

Дальнейшие исследования по количественному определению рабочего стандарта не требуются.

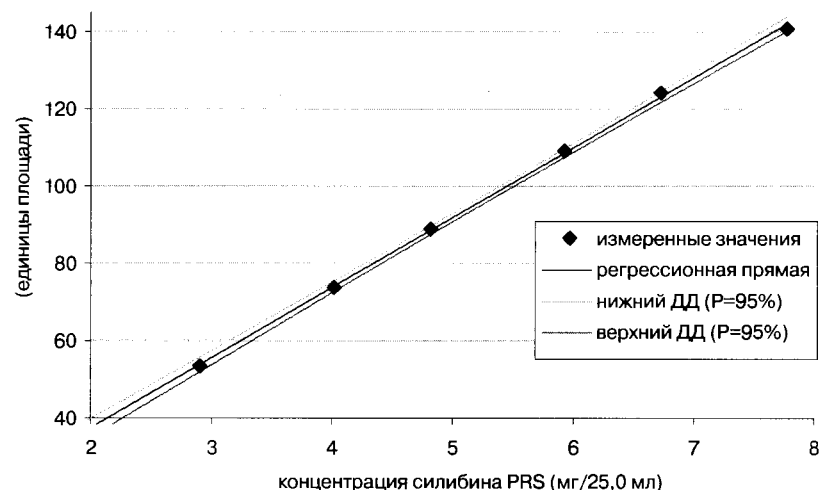


Рис. 39. Калибровочная кривая Силибина PRS для определения содержания силибина в рабочем стандартном образце

3.4. Стандартные образцы примесей

Стандартные образцы примесей используются на фирме «Производитель» для определения чистоты субстанций и готовых продуктов.

Подлинность стандартного образца примеси надлежащим образом подтверждается данными¹ Н-ЯМР-спектроскопии и другого метода или сравнением с первичным или рабочим стандартным образцом. Если стандартные образцы примесей используются не только для идентификации, но также и для количественного определения примесей, то фирма «Производитель» проводит количественное определение при помощи метода 100% площадей¹. От опре-

¹ В Евр. Фарм. обозначается как «нормализация».

деления чистоты отказываются. Стандартные образцы примесей применяются на фирме «Производитель» для определения фактора отклика при рутинном контроле качества.

3.5. Стандартный образец лекарственного средства

Эталонные лекарственные средства используются фирмой «Производитель» только для сравнительной оценки хроматограмм ТСХ или ВЭЖХ в качестве стандартов подлинности и, при необходимости, чистоты (фальсификация).

Если лекарственное средство описано в признанной действующей фармакопее, его подлинность и чистота считается доказанной, если выполняются все требования соответствующей монографии фармакопеи (включая требуемое количественное определение).

Получают и описывают соответствующие эталонные хроматограммы ТСХ или ВЭЖХ.

Если для соответствующего лекарственного средства отсутствует фармакопейная монография, то по образцу ее структуры составляется собственная монография для подлинности, которая содержит все специфические фармацевтические аспекты (включая макроскопическое или микроскопическое описание). Получают и описывают соответствующие эталонные хроматограммы ТСХ или ВЭЖХ.

3.6. Стандартный образец лекарственных препаратов

Эталоны лекарственных препаратов (например, сухие экстракты) используются фирмой «Производитель» как для сравнительной оценки хроматограмм ТСХ или ВЭЖХ в качестве стандарта подлинности или чистоты (фальсификация), так и для количественного определения в качестве рабочего стандартного образца.

Если лекарственный препарат описан в признанной действующей фармакопее, его подлинность и чистота считается доказанной, если выполняются все требования соответствующей монографии фармакопеи (включая требуемое количественное определение).

Получают и описывают соответствующие эталонные хроматограммы ТСХ или ВЭЖХ.

Если для лекарственного препарата отсутствует фармакопейная монография, то по образцу ее структуры составляется собственная монография для подлинности.

Она содержит все специфические аспекты препарата (например, компоненты, основные субстанции, терапевтическая активность) и количественное определение определенной действующей или основной субстанции.

Получают и описывают соответствующие эталонные хроматограммы ТСХ или ВЭЖХ.

Если в качестве рабочего стандартного образца при количественном определении используется фармацевтическая субстанция, то подтверждается ее подлинность (например, онлайн-спектры, сравнение времен удерживания) и содержание определенных компонентов при помощи соответствующего пер-

вичного стандартного образца (например, экстракт конского каштана с определенным содержанием β -эсцина или корень валерианы с определенным содержанием ацетоксивалериановой кислоты и валериановой кислоты).

Первичные стандартные образцы, используемые фирмой «Производитель» в методиках количественного определения, сопровождаются подробной документацией.

3.7. Стандартные образцы основных веществ в лекарственных средствах растительного происхождения

Применяются правила, изложенные в п. 3.1—3.3.

3.8. Стандартные образцы действующих веществ в лекарственных средствах растительного происхождения

Применяются правила, изложенные в п. 3.1—3.3.

3.9. Стандартные образцы примесей в лекарственных средствах растительного происхождения

Применяются правила, изложенные в п. 3.1—3.3.

3.10. Стандартные образцы, используемые для калибровки приборов

Фирма «Производитель» проводит калибровку приборов при помощи сертифицированных внешними организациями стандартных материалов (калибровочных стандартных образцов).

В остальном проведение и документирование калибровок и поверок проводятся фирмой «Производитель» в соответствии с СОП «Проверка средств контроля: калибровка и поверка измерительных приборов и калибровочных стандартов» № QK-010.

СОП № QK-010 приведены в брошюре ВАН «Стандартные операционные процедуры (СОП) в области GMP».

4. Подготовка или создание стандартных образцов

4.1. Первичные стандартные образцы и рабочие стандартные образцы

Для получения стандартных образцов фирма «Производитель» использует коммерческие серии фармацевтических субстанций, которые были проконтролированы надлежащим образом (проверка по фармакопее), или приобретает коммерческие образцы, которые охарактеризованы, как описано в разд. 3.1—3.3. Если сертифицированное количество рабочих стандартов заканчивается, то фирма «Производитель» отказывается при применении новой выпущенной серии действующего вещества от новой всеобъемлющей проверки подлинности по разд. 3.1 и определяет содержание в новой серии стандарта по отноше-

нию к документированной серии. При аттестации большое значение придает совпадению всех результатов с первичным стандартным образцом.

4.2. Хранение и повторное тестирование

Фирма «Производитель» определяет подходящие условия хранения и интервалы для повторного тестирования в зависимости от вещества в рамках аттестации первичного стандартного образца и рабочего стандартного образца.

Часть 3. Проверка пригодности аналитической системы, передача аналитических методик, ревалидация

1. Проверка пригодности системы

1.1. Общие положения

Проверки пригодности аналитической системы должны гарантировать, что для достоверного результата проверки чистоты или количественного содержания достигается требуемое разделение (см. «Определение условий хроматографирования», Евр. фарм., 4.00: 2.2.46).

Обеспечением такой гарантии являются регулярная квалификация оборудования и приведенные ниже проверки пригодности аналитической системы.

На различных стадиях разработки или валидации аналитической методики разрабатываются проверки пригодности системы и их критерии приемлемости, которые должны выполняться при выполнении методики анализа. Окончательно критерии проверки пригодности системы определяются фирмой «Производитель» при оценке результатов валидации.

1.2. Порядок действий на примере ВЭЖХ и ГХ

В зависимости от цели (назначения) аналитической методики принимается решение о выборе подходящих параметров (как минимум одного) для доказательства пригодности аналитической системы.

Подходящими параметрами могут быть:

- визуальная проверка пригодности системы;
- рецезионность хроматографической системы;
- разрешение;
- симметрия пика (фактор асимметрии, хвостовой фактор);
- линейность калибровочной прямой;
- отношение «сигнал—шум».

1.2.1. Описание и возможности применения подходящих параметров

Визуальная проверка пригодности системы

При визуальной проверке пригодности системы проводится сравнение хроматограмм стандартных растворов и исследуемых растворов с эталонной (ти-

пичной) хроматограммой. Проверка проводится выборочно из всей последовательности измерений. Эталонная (типичная) хроматограмма является либо образцом, который прикладывается к методике, либо хроматограммой, полученной во время последней проверки пригодности системы.

Критерии приемлемости:

- время удерживания должно лежать в пределах, указанных в методике контроля, или соответственно отклоняться на не более $\pm 20\%$ времени удерживания на типичной хроматограмме;
- все определяемые пики должны быть разделены, как это указано в методике контроля;
- насколько это можно оценить визуально, симметрия пиков должна быть сравнима с симметрией в эталонной хроматограмме.

Возможности применения

Данный параметр применим в общем случае при удовлетворительном разделении веществ в методиках количественного определения и определения чистоты.

Прецизионность

Определение прецизионности хроматографической системы проводится путем определения относительного стандартного отклонения (коэффициента вариации) на не менее 6 инъекциях 100% стандарта или другого подходящего стандартного раствора.

Коэффициент вариации рассчитывается по полученным значениям сигналов детектора.

Критерии приемлемости

Например, коэффициент вариации $\leq 1\%$ устанавливается для методик количественного определения для действующих веществ. Для определения примесей является приемлемым коэффициент вариации $\leq 5\%$ (см. также Евр. фарм. 4.06: 2.2.46 «Требования к сходимости»).

Возможности применения

Данный параметр применим в общем случае. При хроматограммах с длинным временем выдержки фирма «Производитель» использует подходящий стандартный раствор с более коротким временем удерживания и не 100% стандарт.

Разрешение

Для определения способности разрешения хроматографической системы, как правило, используются два компонента, которые элюируются с похожим временем удерживания и имеют похожую высоту пиков. Используемая (критическая) пара пиков и используемый раствор должны быть указаны в методике контроля. По Евр. Фарм. 4.06 разрешение пиков рассчитывается следующим образом:

$$R_s = \frac{1,18(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

где: $t_{R2} > t_{R1}$
 R_s — разрешение (размерная величина);
 t_{R1} и t_{R2} — время удерживания пика 1 и соответственно 2 в максимуме;
 w_{h1} и w_{h2} — ширина пика 1 и 2 на половине высоты пика.

Критерии приемлемости

Как правило, принимается значение $R_s > 1,5$; при комплексных проблемах разделения может быть соответственно и ниже.

Возможности применения

Для всех разделений с критическими парами пиков обязателен.

Симметрия пика (хвостовой фактор, фактор асимметрии)

В случае если другое не определено в методике контроля, симметрия пика рассчитывается по следующей формуле (Евр. фарм.):

$$A_s = \frac{w_{0,05}}{2d}$$

где: A_s — фактор симметрии (безразмерная величина);
 $w_{0,05}$ — разность времени (ширина пика) при 5% высоте пика;
 d — удаление между вертикалью, проведенной через максимум пика и возрастающей ветвью кривой при 5% высоты пика.

Критерий приемлемости

Рекомендуемое Евр. фарм. для субстанций — значение фактора асимметрии A_s главного пика между 0,8 и 1,5. Фирма «Производитель» может принимать другие критерии приемлемости этого значения в отдельных случаях при наличии соответствующего обоснования.

Возможности применения

Если симметрия пика оказывает значительное влияние на результат, например, при возможном влиянии на разделение пика из-за асимметрии или неточности при автоматическом интегрировании пиков.

Линейность калибровочной прямой

При оценке калибровки по нескольким точкам, как правило, одновременно рассчитывается коэффициент корреляции линейной регрессии. Поэтому фирма «Производитель» не использует повторный расчет в рамках проверки пригодности системы.

Критерии приемлемости:

- $r \geq 0,990$ (для количественного определения);
- $r \geq 0,99$ (для примесей (продуктов дегградации)).

Возможности применения

Калибровка по нескольким точкам.

Соотношение «сигнал—шум»

Для проверки, может ли в данной системе достигнут требуемый предел количественного обнаружения или обнаружения (LOQ или LOD), определяется соотношение «сигнал—шум».

Критерии приемлемости

Евр. фарм. рекомендует использовать следующие критерии приемлемости для соотношения «сигнал—шум»:

- $S/W \geq 10$ (для требуемого предела количественного обнаружения);
- $S/W \geq 3$ (для требуемого предела обнаружения).

Возможности применения

Если при проведении определений для методик анализа чистоты применяются методы ВЭЖХ или ТСХ, приведенные в Европейской фармакопее, то должны выполняться требования, описанные в соответствующей монографии или, если там не приведены подробные данные, то требования из гл. 2.2.46 «Хроматографические методы разделения» Европейской фармакопеи.

2. Передача (трансфер) аналитических методик

2.1. Общие положения

Передача (трансфер) аналитических методик в фармацевтическом анализе может играть важную роль в следующих случаях:

1. Постановка на производство нового продукта и/или введение новой методики анализа. При этом методики передаются из соответствующего подразделения — Отдела разработки (развития) — в соответствующее лабораторное подразделение (внутрипроизводственного контроля, отдел контроля качества, лабораторию контроля стабильности).
2. Изменение места проведения контроля. Методика передается из лаборатории 1 в лабораторию 2 (например, при передаче методики в лабораторию производителя по контракту, либо в контрактную лабораторию).
3. Процедура передачи аналитической методики обязательно проводится для всех методик, подлежащих валидации, во всех вышеописанных случаях.
4. Эффективность передачи в значительной степени зависит от того, может ли быть достоверно воспроизведена та или иная методика в лаборатории назначения при помощи имеющегося там оборудования и персонала. Для этого в лаборатории фирмы «Производитель» по разработанному плану передачи проводится ряд тестов, которые оцениваются и документируются в соответствии заранее определенными критериями приемлемости.
5. Для фармакопейных методик, выполняемых без изменений, процедура передачи аналитических методик не проводится.

2.2. Проведение

2.2.1. Распределение ответственности

Ответственность передающей лаборатории:

- передать точно описанную аналитическую методику, включая документацию по валидации и рабочие стандартные образцы;

- при необходимости обучить сотрудников лаборатории консультировать при решении возможных возникающих проблем.

Ответственность принимающей лаборатории:

- подготовить квалифицированный персонал и оборудование;
- точно выполнить предварительно разработанный план эксперимента с максимально точным проведением описанной методики.

Совместно составляется план (протокол) передачи, а также проводится оценка результатов в отчете о передаче и внесение в методику необходимых уточнений (модификаций методики). План и отчет утверждаются обеими сторонами в порядке, установленном в плане валидации аналитических методик (См. в Приложении пример валидационного плана).

2.2.2. Подготовка

Передача пакета документов

В принимающую лабораторию передаются следующие документы:

- методики контроля и спецификации;
- детальное описание приборов, стандартных образцов (включая сертификаты), реактивов и расходных материалов (например, фильтров), применяемых в лаборатории — разработчике методики;
- отчеты о валидации, по крайней мере в виде таблиц;
- при необходимости отчет о разработке методики, из которого видно, какие параметры следует соблюдать для правильного проведения анализа (например, время перемешивания, температуры, значения pH, концентрации, качество поверхностей лабораторных материалов и т. д.).

Обучение и подстройка к условиям лаборатории назначения

В случае если в принимающей лаборатории отсутствует достаточный опыт выполнения такой методики, передающая лаборатория проводит обучение на месте. От случая к случаю проверяется, достаточно ли собственная квалификация, например, путем «опробования» методики. При этом всегда назначается компетентное контактное лицо.

На этой фазе описываются возможные меры по адаптации методики, которые требуются с учетом имеющихся условий в принимающей лаборатории (например, другие приборы, колонки для рутинного анализа), чтобы исключить необходимость соответствующей валидации.

Составление плана передачи

Передающая и принимающая лаборатории совместно составляют план передачи для каждой методики, в котором, как правило, имеются следующие разделы:

1. Цель.
2. Область применения.
3. Применяемая методика контроля (включая тесты пригодности системы) и ее статус валидации.
4. Описание используемых образцов, приборов, рабочих стандартных образцов, реактивов и расходных материалов.

5. Описание отбора и транспортировки образца.
6. Описание эксперимента с указанием количества проводимых испытаний в каждой лаборатории (количество привлекаемых сотрудников и приборов, навесок, пробоподготовок, число калибровочных точек, количество инъекций и т. д.).
7. Вид рассчитываемых статистических характеристик / значений, при необходимости с формулами.
8. Критерии приемлемости.
9. Распределение ответственности / контактные лица.
10. Календарный план.
11. Календарный план эксперимента.

Таблица 23. Пример описания эксперимента (количественное определение методом ВЭЖХ)

Лаборатория /Сотрудник	Пробы	Прибор	n	I
1 / А	Однородный образец / смесь	1	6	2
2 / В	Однородный образец / смесь	2	6	2

n — количество пробоподготовок в соответствии с методикой контроля.

I — количество инъекций на одну пробоподготовку в соответствии с методикой контроля.

Критерии приемлемости

Критерии приемлемости для передачи аналитической методики соответствуют критериям, установленным для валидационной характеристики «промежуточная прецизионность» (см. примеры в Приложении, с. 125—128).

2.2.3. Проведение мероприятий, включенных в план передачи

Испытуемые образцы, стандартные образцы

Передающая и принимающая лаборатории получают для испытаний тщательно отобранные образцы из одной и той же однородной серии.

Рабочие стандартные образцы и, при необходимости, плацебо предоставляют передающей лаборатории.

Испытания

Передающая и принимающая лаборатории проводят испытания в порядке, установленном в плане передачи. При необходимости, передающая лаборатория оказывает необходимую поддержку для решения возникших вопросов.

Отчет о передаче

Обо всей процедуре передачи составляется отчет. Этот отчет должен содержать следующие разделы:

1. Протоколирование / подтверждение проведения действий согласно плану передачи.

2. Регистрация и обоснование отклонений от плана передачи.
3. Документация в соответствии с GMP для всех полученных результатов (включая эталонные хроматограммы, спектры и ссылки на местонахождение первичных данных, например, лабораторные журналы, файлы данных).
4. Расчеты, при необходимости, статистических значений, представляемых, как правило, на заранее подготовленных заполняемых формах.
5. Отчеты о ревалидации (при необходимости) принимающей лаборатории или ссылка на них.
6. Оценка результатов (сравнение полученных результатов с установленными критериями приемлемости).
7. Подписи ответственных лиц с датами подписи.

Оценка результатов

Вариант 1

Если все критерии приемлемости достигнуты, принимающая лаборатория считается аттестованной для использования данной аналитической методики. В случае значительных изменений (модификаций) в аналитической методике указывается требование о проведении ревалидации (см. п. 3).

Вариант 2

При невыполнении критериев приемлемости необходимо зафиксировать данный факт, представить объяснения и определить необходимые мероприятия (дальнейшие исследования).

Только если после окончания всех дополнительных исследований передача была оценена как эффективная, принимающая лаборатория может быть признана аттестованной для выполнения этой методики.

2.2.4. Архивация

Все составленные документы собираются вместе и архивируются.

3. Ревалидация

Степень изменений, при которых различные параметры контроля могут быть изменены без ревалидации, установлена на фирме «Производитель» в соответствии с рекомендациями Европейской фармакопеи 4.00.

Для методик ВЭЖХ допустимы, к примеру, согласно главе 2.2.46 «Установление условий хроматографирования», следующие изменения:

Состав подвижной фазы: Количества наименьшего имеющегося компонента может изменяться на $\pm 30\%$ относительно или $\pm 2\%$ абсолютно, во всяком случае до наибольшего значения из обоих. Никакой другой компонент не может изменяться более чем на 10% абсолютного значения.

Значение pH водного компонента подвижной фазы: $\pm 0,2$ единицы pH, если в монографии не указано другое, или $\pm 1,0$ единица pH, если контролируются нейтрально реагирующие вещества.

1. Концентрация соли в буферном компоненте подвижной фазы: $\pm 10\%$.
2. Длина волны детектора: Изменение недопустимо.

3. Стационарная фаза: длина колонки: $\pm 70\%$,
 - внутренний диаметр колонки: $\pm 25\%$,
 - размер частиц: максимальное снижение до 50% , увеличение недопустимо.
4. Скорость потока: $\pm 50\%$.
5. Температура: $\pm 10\%$, однако не выше 60°C .
6. Вводимый объем: уменьшение возможно, предпосылкой является удовлетворительное доказательство и сходимость определяемого пика.
7. Градиент элюции: конструкция используемого прибора может значительно изменить приводимые в методике разрешение, время удерживания и относительное время удерживания. Если такое происходит, причиной может быть увеличенный мертвый объем. Мертвый объем — это объем подвижной фазы между точкой, в которой смешиваются два элюента, и началом колонки.

Допустимость степени вносимых изменений всегда зависит от выполнимости пригодности системы. Если необходимы значительные изменения параметров или пригодность системы больше не выполняется, фирма «Производитель» принимает решение о необходимости ревалидации и ее объеме в каждом отдельном случае.

Необходимость ревалидации может, например, возникать в следующих случаях:

- критерии приемлемости, заданные в плане валидации для точности, больше не выполняются;
- метод больше не является достаточно специфичным.

В каждом конкретном случае нужно решать, должна быть валидация повторена в полном объеме или достаточно валидации отдельных параметров.

Приложение

Валидационный план методики количественного определения парацетамола в таблетках	117
Пример критериев приемлемости для валидации аналитической методики: количественного определения лекарственного препарата (газожидкостная хроматография — ГЖХ)	125
количественного определения лекарственного препарата (методом титрования)	126
определения остаточных растворителей в лекарственном препарате методом ГЖХ	127
определения продуктов деградации в лекарственном препарате методом ВЭЖХ	128

Фирма «Производитель»	Валидационный план	Страница 1 из 6 Версия:
--------------------------	--------------------	----------------------------

**Валидационный план
методики количественного определения**

парацетамола в таблетках (наименование)
(действующее вещество) (полное название препарата)

	Фамилия, подразделение, должность	Подпись / Дата
Составлено	Первый сотрудник	
Проверено	Второй сотрудник ¹	
Одобрено	Начальник ОКК ²	
Утверждено	Уполномоченный по валидации (на фирме «Производитель» — начальник ОКК)	

¹ Как правило, руководитель проекта.

² Если руководитель контроля качества делегирует одобрение плана проверок (например, руководителю лаборатории в аналитической разработке или в контрольном институте), он должен задокументировать свое согласие в другом месте.

Причина: новая методика
 .ревалидация
 изменение методики
 другая _____

Примечания _____

Рассылка валидационного плана (фамилия / подразделение)

Фирма «Производитель»	Валидационный план для методики количественного определения Действующее вещество: парацетамол В препарате: (название) таблетки	Страница 2 из 6 Версия:
----------------------------------	---	--

Фирма «Производитель»	Валидационный план для методики количественного определения Действующее вещество: парацетамол В препарате: (название) таблетки	Страница 3 из 6 Версия:
----------------------------------	---	--

СОДЕРЖАНИЕ

	Страница
1. Цель	2
2. Связанные документы	2
3. Используемое оборудование	3
4. Используемые материалы	3
5. Описание методики	3
6. Проведение валидации	3
6.1. Специфичность	3
6.2. Линейность	4
6.3. Прецизионность	4
6.4. Правильность	5
7. Критерии приемлемости	5

1. Цель

Настоящий валидационный план с прилагаемым отчетом о валидации предназначен для проведения работ, согласно соответствующим Руководствам СРМР/ICH и требованиям GMP-ЕС, по получению документированных доказательств того, что аналитическая методика фирмы «Производитель» для количественного определения действующего вещества парацетамола в лекарственном препарате (название) таблетки методом ВЭЖХ обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов и поэтому будет считаться провалидированной.

2. Связанные документы

- Валидационный мастер-план.
- Методика контроля АВС, версия ху.

3. Используемое оборудование

ВЭЖХ-хроматограф в соответствии с методикой контроля АВС, версия ху.

4. Используемые материалы

Как правило, к началу валидации методики фирма «Производитель» имеет первую версию соответствующей методики контроля, которая после успешной валидации на основе полученных данных впоследствии уточняется. Для всех указанных в методике контроля АВС — версия ху, а также для всех, не приведенных в этой методике материалов (например, вспомогательные вещества плацебо, как например микрокристаллическая целлюлоза, стеарат магния и т. д., стандартные образцы субстанции, лекарственного препарата) в зависимости от обстоятельств приводятся полные названия и номера серий (или в валидационном плане, или в отчете валидации).

5. Описание методики

Аналитическая процедура проводится в соответствии с методикой контроля АВС, версия ху.

6. Проведение валидации

6.1. Специфичность

- 265 мг плацебо для «(название) таблетки» обрабатываются и хроматографируются, как описано в методике контроля АВС, версия ху, раздел «Приготовление испытуемого раствора».
- Получают хроматограмму подвижной фазы.
- Получают хроматограмму растворителя в соответствии с методикой контроля АВС, версия ху, раздел «Приготовление раствора пробы».

Фирма «Производитель»	Валидационный план для методики количественного определения Действующее вещество: парацетамол В препарате: (название) таблетки	Страница 4 из 6 Версия:
----------------------------------	---	--

- Получают хроматограмму стандартного раствора в соответствии с разделом «Приготовление стандартного раствора» из методики контроля АВС, версия ху.
- Получают хроматограмму испытуемого раствора в соответствии с методикой контроля АВС, версия ху.

6.2. Линейность

Приготовление испытуемых растворов:

№ пробы	Плацебо (название) таблетки, мг	Навеска парацетамола, мг	Уровень концентрации, %
1	265	315,0	70
2	265	382,5	85
3	265	450,0	100
4	265	517,5	115
5	265	585,0	130

Дальнейшая пробоподготовка проводится в соответствии с разделом «Приготовление испытуемого раствора» методики контроля АВС, версия ху.

Для хроматографического определения проводится по 2 инъекции каждого испытуемого раствора.

6.3. Прецизионность

6.3.1. Сходимость

Измельчают 20 таблеток. 6 проб по 715 мг подвергают пробоподготовке в соответствии с методикой контроля АВС, версия ху, раздел «Приготовление испытуемого раствора». Для количественного определения в прибор вводят по 3 инъекции каждого испытуемого раствора ($n = 6$).

6.3.2. Промежуточная прецизионность

Действия, описанные в разделе «6.3.1 Сходимость», повторяются на другой рабочий день другим сотрудником.

Фирма «Производитель»	Валидационный план для методики количественного определения Действующее вещество: парацетамол В препарате: (название) таблетки	Страница 5 из 6 Версия:
----------------------------------	---	--

6.4. Правильность – определение фактора отклика

Приготовление испытуемых растворов:

№ пробы	Плацебо (название) таблетки, мг	Навеска парацетамола, мг	Уровень концентрации, %
1	265	315,0	70
2	265	450	100
3	265	585	130

Каждый из растворов готовят в 3 параллелях. Дальнейшую пробоподготовку проводят в соответствии с методикой контроля АВС, версия ху, раздел «Приготовление испытуемого раствора». Для количественного определения каждый раствор вводят в прибор по 3 инъекции ($n = 9$).

7. Критерии приемлемости

Примечание: Приведенные далее критерии приемлемости представляют собой ориентировочные величины. В каждом отдельном случае фирма «Производитель» устанавливает их в зависимости от используемого метода и контролируемого продукта. По обстоятельствам эти параметры могут быть жестче или мягче.

Пункт плана	Параметр валидации	Критерии приемлемости
6.1	Специфичность	Отсутствие сигналов от компонентов плацебо в области действующего вещества или степень разделения пика действующего вещества $\geq 1,5$ (при комплексных разделениях $\geq 1,25$)
6.2	Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,990$

Фирма «Производитель»	Валидационный план для методики количественного определения Действующее вещество: парацетамол В препарате: (название) таблетки	Страница 6 из 6 Версия:
------------------------------	---	--

Пункт плана	Параметр валидации	Критерии приемлемости
6.3.1	Сходимость	Серия 1: коэффициент вариации $\leq 2,0\%$ ($n \geq 6$)
6.3.2	Промежуточная прецизионность	В зависимости от обстоятельств $n \geq 6$. Серия 2: коэффициент вариации $\leq 2,0\%$; макс. отклонение среднего значения из обеих серий $\leq 2,5\%$ (отнесенное к наибольшему значению) вместе с проверкой пригодности системы; соответственно, <i>F</i> - и <i>t</i> -критерии
6.4	Правильность	а) Фактор отклика: среднее значение 97,5—102,5%, коэффициент вариации $\leq 2,5\%$ б) Доверительный интервал должен включать 100% значение

Методика считается провалидированной, если критерии приемлемости выполняются. Отклонения от плана должны быть обоснованы.

Фирма «Производитель»	Валидационный план	Страница 1 из Версия:
------------------------------	---------------------------	--

**Валидационный план
методики количественного определения**

В _____
(действующее вещество) (полное название препарата)

	Фамилия, подразделение, должность	Подпись / Дата
Составлено	Первый сотрудник	
Проверено	Второй сотрудник ¹	
Одобрено	Начальник ОКК ²	
Утверждено	Уполномоченный по валидации (на фирме «Производитель» — начальник ОКК)	

¹ Как правило, руководитель проекта.

² Если руководитель контроля качества делегирует одобрение плана проверок (например, руководителю лаборатории в аналитической разработке или в контрольном институте), он должен задокументировать свое согласие в другом месте.

Причина: новая методика
 изменение методики
 ревалидация
 другая _____

Примечания _____

Рассылка валидационного плана (фамилия / подразделение)

<p>Фирма «Производитель»</p>	<p>Валидационный план для методики количественного определения</p> <p>Действующее вещество: В препарате: (название)</p>	<p>Страница 2 из</p> <p>Версия:</p>
-------------------------------------	---	---

Отчет о валидации на фирме «Производитель» составляется вместе с валидационным планом.

Отчет по валидации включает:

- полное описание используемого оборудования / приборов или соответствующие ссылки на их местонахождение;
- полное описание валидируемой методики (методики контроля, метода анализа и др.) или соответствующие ссылки;
- все использованные номера серии продуктов, плацебо и стандартного образца;
- первичные данные, полученные при выполнении испытаний, указанных в валидационном плане, или соответствующие ссылки на их местонахождение;
- все получаемые согласно валидационному плану хроматограммы;
- все вычисленные характеристики / значения или параметры;
- табличное представление результатов;
- фамилии сотрудников, принимавших участие в проведении валидации;
- смотря по обстоятельствам, данные об отклонениях от валидационного плана и принятые меры;
- резюме;
- оценку, включая заключение о том, выдержала ли аналитическая методика валидацию.

Пример критериев приемлемости для валидации аналитической методики количественного определения лекарственного препарата (газожидкостная хроматография – ГЖХ)

Методика количественного определения тимола в жидком экстракте тимьяна методом ГЖХ

Примечание: Приведенные в этом и следующих примерах критерии приемлемости представляют собой ориентировочные величины. В каждом отдельном случае фирма «Производитель» устанавливает их в зависимости от используемого метода и контролируемого продукта. По обстоятельствам эти параметры могут быть жестче или мягче.

Параметр валидации	Критерии приемлемости
Специфичность	<p>Отсутствие сигналов в области пика анализируемого вещества (и внутреннего стандарта, если он используется).</p> <p>При использовании внутреннего стандарта: отсутствие интерференции анализируемого вещества с внутренним стандартом.</p> <p>Степень разделения внутреннего стандарта и анализируемого вещества от посторонних пиков компонентов плацебо (вспомогательные вещества, растворители, известные примеси, если они присутствуют в концентрациях, которые могут исказить результат определения содержания) > 1,5</p>
Линейность	Коэффициент корреляции > 0,990
Сходимость	Серия 1: коэффициент вариации < 2,0% (n > 6)
Промежуточная прецизионность	<p>Смотря по обстоятельствам, n ≥ 6.</p> <p>Серия 2: коэффициент вариации < 2,0%; макс. отклонение среднего значения из обеих серий < 2,5% в связи с проверкой пригодности; соответственно, F- и t-критерии</p>
Правильность	<p>Фактор отклика: среднее значение 97,5—102,5%.</p> <p>Коэффициент вариации < 2,0%.</p> <p>Доверительный интервал должен включать 100% значение</p>

Пример
критериев приемлемости для валидации аналитической
методики количественного определения лекарственного
препарата методом титрования

*Методика количественного определения магния в трисиликате
 магния методом комплексонометрического титрования*

Параметр валидации	Критерии приемлемости
Специфичность	Ни растворители и реактивы, используемые для подготовки пробы, ни компоненты плацебо не искажают результат
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,990$
Сходимость	Серия 1: коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$)
Промежуточная прецизионность	Смотря по обстоятельствам, $n \geq 6$. Серия 2: коэффициент вариации $\leq 1,5\%$; макс. отклонение среднего значения из обеих серий $\leq 2,5\%$ (отнесенное к наибольшему значению) в связи с проверкой пригодности; соответственно, <i>F</i> - и <i>t</i> -критерии
Правильность	Фактор отклика: среднее значение 97,5—102,5%. Коэффициент вариации $\leq 2,0\%$. Доверительный диапазон должен включать 100% значение

Пример
критериев приемлемости для валидации аналитической
методики определения остаточных растворителей
в лекарственном препарате методом ГЖХ

Параметр валидации	Критерии приемлемости
Специфичность	Отсутствие сигналов в области пика анализируемого вещества (и внутреннего стандарта, если он используется). При использовании внутреннего стандарта: отсутствие интерференции анализируемого вещества с внутренним стандартом. Степень разделения внутреннего стандарта и анализируемого вещества от посторонних пиков компонентов плацебо (вспомогательные вещества, растворители, известные примеси, если они присутствуют в концентрациях, которые могут исказить результат определения содержания) $\geq 1,3$
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,95$
Предел количественного определения	Визуальная оценка хроматограмм различных концентраций гораздо ниже рабочего диапазона. Коэффициент вариации 6-кратной инъекции $< 15\%$
Сходимость	Серия 1: коэффициент вариации $\leq 4,0\%$ ($n \geq 6$)
Промежуточная прецизионность	Смотря по обстоятельствам, $n \geq 6$. Серия 2: коэффициент вариации $\leq 4,0\%$; макс. отклонение среднего значения из обеих серий $< 10\%$ в связи с проверкой пригодности; соответственно, <i>F</i> - и <i>t</i> -тесты
Правильность	Отклик: среднее значение 95—105%. Коэффициент вариации $\leq 4,0\%$. Доверительный диапазон должен включать 100% значение



Издательство «Литтерра» (ГК «Бионика»)

Председатель Правления ГК «Бионика» — А.И. Дроздов
Генеральный директор издательства «Литтерра» — В.А. Мефодовский
Исполнительный директор — О.В. Зимица
Отдел «Медицинские руководства» — О.Б. Афанасьева, В.А. Бакулин
Отдел маркетинга и продаж — А.В. Ткачев
Отдел рекламы — А.А. Кадакин

Научное издание

Серия «Обеспечение качества»

Валидация аналитических методик для производителей лекарств

Типовое руководство предприятия
по производству лекарственных средств

Зав. редакцией — О.Ю. Румянцева
Редактор — В.Н. Павлова
Корректор — Л.И. Трифонова
Макет, компьютерная верстка — Ю.В. Егоров
Дизайн обложки — Ю.В. Егоров
Менеджер по полиграфии — Н.Л. Москаленко

Сдано в набор 07.11.2007. Подписано в печать 24.01.08.
Бумага офсетная. Формат 60 × 90/16. Гарнитура «OfficinaSansC». Печать офсетная.
Усл. печ. л. 7,9. Тираж 1 000 экз. Заказ №

ЗАО «Издательство «Литтерра». 117420 Москва, ул. Профсоюзная, д. 57
<http://www.litterra.ru>; e-mail: info@litterra.ru

Тел.: (495) 332-03-15, доб. 461, 463, 478; факс: (495) 332-03-15, доб. 485

Отпечатано в полном соответствии с оригинал-макетом в типографии «Альянс-Пресс».
105064, г. Москва, Нижний Сусальный переулок, д. 5 стр. 9