

Ткаченко Наталя Олександрівна, доцент, кандидат фармацевтичних наук, кафедра управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, Україна, 69035
E-mail: tkachenkonat@bk.ru

Громовик Богдан Петрович, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра організації і економіки фармації, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, м. Львів, Україна, 79010
E-mail: hromovyk@gmail.com

УДК 615.074:543.24

ЗБІЖНІСТЬ РЕЗУЛЬТАТІВ ФАРМАКОПЕЙНИХ ВИПРОБУВАНЬ МЕТОДАМИ ТИТРУВАННЯ: КРИТЕРІЇ ПРИЙНЯТНОСТІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

© С. О. Чикалова, О. І. Гриздуб, О. В. Бевз, І. Г. Зінов'єва, Г. В. Кобець

Забезпечення якості результатів випробувань є одним із актуальних питань діяльності контрольно-аналітичних лабораторій. За результатами попередніх досліджень авторами були розроблені науково обґрунтовані критерії та рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів фармакопейних випробувань методами об'ємного титрування. Критерії розроблені за результатами оцінки невизначеності результатів випробування.

Метою дослідження була експериментальна перевірка коректності вимог до збіжності результатів фармакопейних випробувань методами титрування, що розроблені на основі наукового міркування.

Методи. Авторами використовували статистичні методи аналізу результатів хімічного експерименту.

Результати дослідження. Розглянуті експериментальні дані результатів випробувань методами титрування, що одержані в окремій лабораторії та в міжлабораторному експерименті. Розглянуті результати належать до найбільш поширених фармакопейних методів титрування субстанцій: титрування розчином хлорної кислоти в оцтовій кислоті із візуальною фіксацією кінцевої точки; потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти в оцтовій кислоті; потенціометричне титрування галогенідів органічних основ за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу; титрування водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки; потенціометричне титрування водним титрантом. Вимоги до збіжності, встановлені за результатами оцінки невизначеності методик титрування, відповідають генеральним характеристикам розглянутих даних. Прогнозована кількість паралельних випробувань, що буде достатньою для досягнення рекомендованих значень для відносного стандартного відхилення середнього складає від трьох до чотирьох.

Висновки. Розроблені на основі наукового міркування критерії прийнятності відповідають генеральним характеристикам випробувань методом титрування та можуть бути рекомендовані для використання в роботі контрольно-аналітичних лабораторій фармацевтичної галузі

Ключові слова: забезпечення якості, фармакопейні випробування, об'ємне титрування, невизначеність, збіжність, критерії прийнятності

Quality assurance of test results is one of the topical issues of analytical laboratories functioning. Scientifically reasonable criteria and recommendations in relation to the scheme and quality control of pharmacopoeial tests results by volumetric titration methods were developed by the authors according to the previous studies results. The criteria were elaborated by results of test uncertainty estimation.

Aim of research was experimental verification of the requirements to results repeatability of pharmacopoeial tests by titrimetric methods developed on the basis of the scientific reasoning.

Methods. Authors used the statistical analysis methods of chemical experiment results.

Results. Experimental data of the test results by titrimetric methods, obtained in a separate laboratory and in an interlaboratory experiment, were examined. The displayed results belong to the most wide spread pharmacopoeial titration methods for substances: titration with the perchloric acid solution in acetic acid with the visual fixing of end point; potentiometric titration with perchloric acid solution in acetic acid, potentiometric titration of halogen salts of organic bases by the difference of volumes between two potential leaps; aqueous titration with the visual fixing of end point; potentiometric titration with aqueous titrant. Requirements to convergence, elaborated by results of the uncertainty test estimation of titrimetric methods, meet the examined data main parameters. Relevant amount of simultaneous tests, that will be sufficient for the achievement of the recommended values for relative standard deviation of the mean folds, is middle from three to four.

Conclusion. *The acceptability criteria developed on scientific reasoning basis meet the main parameter of titrimetric methods tests and can be recommended for the use in- functioning of pharmaceutical analytical laboratories*

Keywords: *quality assurance, pharmacopoeial test, volumetric titration, uncertainty, convergency, acceptance criteria*

1. Вступ

Розробка процедур забезпечення якості результатів випробувань є одним із актуальних питань, що вирішуються контрольно-аналітичними лабораторіями на сучасному етапі існування. Вірогідність проведеного випробування має бути контрольованою [1]. Одним із способів забезпечення даної вимоги є оперативний контроль збіжності результатів випробування [2]. Контроль збіжності, як характеристики змінних складових невизначеності, дозволяє забезпечити необхідну точність результатів випробування.

2. Постановка проблеми в загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок з важливими науковими чи практичними питаннями

Метод титриметрії є достатньо поширеним методом кількісного визначення в фармацевтичному аналізі і одним з основних методів кількісного визначення субстанцій [3]. За результатами 6 раунду Програми професійного тестування (ППТ) «Фарматест» серед інших критичних факторів, що впливають на достовірність результатів випробувань методами об'ємного титрування, визначені недостатня кількість паралельних випробувань при встановленні титру та при титруванні проби, відсутність контролю відносного стандартного відхилення [4].

Відповідно ЄФ, збіжність результатів стандартизації титранту не має перевищувати 0.2 % (відносне стандартне відхилення) при відповідному числі паралельних титрувань [5]. Відносно збіжності та кількості паралельних випробувань при титруванні проби прями вимоги або рекомендації відсутні. В рамках звичайної аналітичної практики виконують від трьох до п'яти паралельних титрувань, але яка кількість випробувань є прийнятною в кожному окремому випадку, аналітик має вирішувати самостійно. Проведення зайвої кількості випробувань потребує додаткових ресурсів, недостатня їх кількість несе ризик одержання неякісних результатів.

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких розпочато вирішення даної проблеми і на які спирається автор

Узагальнені дослідження з проблеми забезпечення якості результатів фармакопейних випробувань субстанцій методами титрування були проведені нами раніше [6, 7]. В якості інструмента дослідження використовували оцінку та порівняння складових невизначеності результатів випробувань. Оцінка невизначеності була проведена переважно із використанням фармакопейних вимог до обладнання, допустимих коливань в параметрах методики. На основі проведених оцінок невизначеності розроблені науково обґрунтовані критерії та рекомендації щодо схеми та контролю якості результатів титрування субстанцій (вимоги до збіжності).

За результатами оцінки невизначеності було показано [7], що достатньою кількістю паралельних титрувань як проби, так і титранту є три паралельні титрування. Виконання більше трьох паралельних титрувань звичайно потребується для досягнення рекомендованого значення відносного стандартного відхилення середнього (збіжності). При проведенні фармакопейного аналізу субстанцій обґрунтовані такі вимоги до збіжності:

– для субстанцій з межами вмісту рівними або більше ± 1.0 % відносне стандартне відхилення середнього при стандартизації титранту та при титруванні проби не має перевищувати 0.20 %;

– для субстанцій з верхньою межею вмісту менше +1.0 % відносне стандартне відхилення середнього при стандартизації титранту та при титруванні проби не має перевищувати 0.10 % (окрім випадку, що зазначений нижче);

– у випадку методу титрування водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки та вторинною стандартизацією титранту для субстанцій з верхньою межею вмісту менше +1.0 % відносне стандартне відхилення середнього при стандартизації титранту та при титруванні проби не має перевищувати 0.06 %.

4. Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття

Оцінка невизначеності вважається надійним способом кількісної оцінки якості результатів випробування, однак розроблені на основі наукового міркування критерії прийнятності вимагають експериментальної апробації та підтвердження.

5. Формулювання цілей статті

Метою нашого дослідження була експериментальна перевірка коректності розроблених на основі оцінки невизначеності вимог до збіжності результатів фармакопейних випробувань методами титрування.

6. Викладення основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

З метою оцінки коректності, розроблені вимоги до збіжності були порівняні із значеннями відносних стандартних відхилень, що одержані:

1) при проведенні робіт з атестації стандартних зразків ДФУ;

2) учасниками ППТ-6 [8];

3) у міжлабораторних випробуваннях, що були організовані Європейським Директоратом з якості лікарських засобів (EDQM) [9].

Розглянуті нами експериментальні дані належать до найбільш поширених фармакопейних методів титрування субстанцій:

1) титрування розчином хлорної кислоти в оцтовій кислоті із візуальною фіксацією кінцевої точки;

2) потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти в оцтовій кислоті;

3) потенціометричне титрування галогенідів органічних основ за різницею об'ємів між двома стрибками потенціалу;

4) титрування водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки;

5) потенціометричне титрування водним титрантом.

Найбільш поширеними межами нормування вмісту основної речовини при кількісному визна-

ченні методом титрування є $\pm 1\%$; межі нормування вмісту менше 1% інколи зустрічаються у методиках із водними титрантами.

Після перевірки розглянутих вибірок на рівноточність за критерієм Кокрена, розраховували об'єднане відносне стандартне відхилення (RSD_{tot}), яке є генеральною характеристикою випробування. Діленням RSD_{tot} на корінь із кількості паралельних титрувань розраховували відносне стандартне відхилення середнього ($RSD_{\bar{x}}$) для кількостей паралельних титрувань від трьох до п'яти [10]. Узагальнені результати статистичної обробки експериментальних даних надані в табл. 1.

Таблиця 1

Узагальнені результати титриметричних випробувань

Вид титрування	Джерело первинних даних	Об'єднане число ступенів свободи	RSD_{tot}	$RSD_{\bar{x}}$		
				3 паралельні	4 паралельні	5 паралельних
Розчином хлорної кислоти із візуальною фіксацією кінцевої точки	Атест. СЗ	25	0.09	0.05	0.05	0.04
	ППТ	79	0.07	0.04	0.04	0.03
	ППТ	83	0.12	0.07	0.06	0.05
Потенціометричне титрування розчином хлорної кислоти	Атест. СЗ	30	0.19	0.11	0.10	0.08
	EDQM	175	0.40	0.23	0.20	0.18
Потенціометричне титрування галогенідів органічних основ	Атест. СЗ	22	0.22	0.13	0.11	0.10
	EDQM	175	0.39	0.23	0.20	0.17
Водним титрантом із візуальною фіксацією кінцевої точки	Атест. СЗ	13	0.09	0.05	0.05	0.04
	EDQM	40	0.23	0.13	0.12	0.10
Потенціометричне титрування водним титрантом	EDQM	34	0.20	0.12	0.10	0.09
Вимоги до збіжності, що встановлені за результатами оцінки невизначеності:		1. $RSD_{\bar{x}} \leq 0.20\%$ (при межах вмісту $\geq \pm 1.0\%$); 2. $RSD_{\bar{x}} \leq 0.10\%$ (при межах вмісту $< +1.0\%$); 3. $RSD_{\bar{x}} \leq 0.06\%$ (при межах вмісту $< +1.0\%$ та вторинній стандартизації титранту).				

Слід зазначити, що рівень збіжності показаний українськими лабораторіями вище, ніж рівень показаний лабораторіями, що приймали участь у випробуваннях організованих EDQM. Це можна пояснити тим, що при атестації стандартних зразків виставляють додаткові вимоги до невизначеності, а під час участі в ППТ лабораторії намагаються показати як можна кращі результати.

В цілому вимоги до збіжності, встановлені за результатами оцінки невизначеності методик титрування, відповідають генеральним характеристикам випробувань, що розглянуті. Прогнозована кількість паралельних випробувань, що буде достатньою для досягнення рекомендованих значень для відносного стандартного відхилення середнього складає від трьох до чотирьох.

7. Висновки

Проведений порівняльний аналіз експериментальних характеристик методик титрування субстанцій та вимог до збіжності, що встановлені за результатами оцінки невизначеності. Розроблені на основі наукового міркування критерії прийнятності відповідають генеральним характеристикам випробувань методом титрування та можуть бути рекомендовані для використання в роботі контрольно-аналітичних лабораторій фармацевтичної галузі.

Література

1. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (ISO/IEC 17025:2005, IDT): ДСТУ ISO/IEC 17025:2006 [Текст]. – К.: Держспоживстандарт України, 2007. – 33 с.

2. Леонтьев, Д. А. Метрологический контроль качества результатов измерений [Текст] / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 16–25.

3. Георгиевский, В. П. Кислотно-основное титрование в неводных средах. Т. 1 [Текст] / В. П. Георгиевский; под ред. В. П. Георгиевского // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. – Харьков: изд. НТМТ, 2011. – С. 12–95.

4. Сур, С. В. Алгоритм загального оцінювання критичних факторів на підставі управління ризиками для якості результатів випробувань методом титриметрії [Текст] / С. В. Сур, С. М. Коваленко, С. М. Губарь та ін. // Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я. – К.: Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2013. – 8 с.

5. 4.2. Volumetric analysis [Text]. – European Pharmacopoeia. – 8th ed. – Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe, 2013. – P. 545–550.

6. Чикалова, С. О. Оценка неопределенности методик титрования субстанций с использованием пошагового похода [Текст] / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2011. – № 3. – С. 11–31.

7. Чикалова, С. О. Критерии приемлемости результатов контроля качества субстанций при использовании метода титрования [Текст] / С. О. Чикалова, А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 41–54.

8. Сур, С. В. Результати кількісного визначення тестового зразка субстанції натрію ацетату тригідрату лабораторіями з контролю якості лікарських засобів у 6-му раунді програми професійного тестування лабораторій [Текст] / С. В. Сур, О. І. Гризодуб, С. М. Губарь та ін. // Фармаком. – 2009. – № 4. – С. 11–19.

9. Daas, A. G. J. Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 2) [Text] / A. G. J. Daas, J. H. M. Miller // Pharmeuropa. – 1998. – Vol. 10, Issue 1. – P. 137–146.

10. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту. Державна Фармакопея України. Т. 1 [Текст] / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр” – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2015. – С. 881–909.

References

1. Zagal'ni vymogy do kompetentnosti vyprobuval'nyh ta kalibruval'nyh laboratorij (ISO/IEC 17025:2005, IDT): DSTU ISO/IEC 17025:2006 (2007). Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 33.

2. Leont'ev, D. A., Grizodub, A. I. (2007). Metrologicheskij kontrol' kachestva rezul'tatov izmerenij. Farmakom, 2, 16–25.

3. Georgievskij, V. P.; Georgievskij, V. P. (Ed.) (2011). Kislотно-osnovnoe titrovaniye v nevodnyh sredah. Vol. 1. Analiticheskaja himija v sozdanii, standartizacii i kontrole kachestva lekrstvennyh sredstv. Kharkov: izd. NTMT, 12–95.

4. Sur, S. V., Kovalenko, S. M., Gubar', S. M. et. al. (2013). Algoritm zagal'nogo ocinjuvannya krytychnyh faktoriv na pidstavi upravlinnja ryzykamy dlja jakosti rezul'tativ vyprobuvann' metodom tytrymetrii'. Informacijnyj lyst pro novovvedennja v sferi ohorony zdorov'ja. Kyiv: Ukrmedpatentinform MOZ Ukrainy, 8.

5. 4.2. Volumetric analysis (2013). European Pharmacopoeia. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe, 545–550.

6. Chikalova, S. O., Grizodub, A. I. (2011). Ocenka neopredelennosti metodik titrovaniya substancij s ispol'zovaniem poshagovogo pohoda. Farmakom, 3, 11–31.

7. Chikalova, S. O., Grizodub, A. I. (2012). Kriterii priemlemosti rezul'tatov kontrolja kachestva substancij pri ispol'zovanii metoda titrovaniya. Farmakom, 3, 41–54.

8. Sur, S. V., Gryzodub, O. I., Gubar', S. M. et. al. (2009). Rezul'taty kil'kisnogo vyznachennja testovogo zrazka substancii' natriju acetatu trygidratu laboratorijamy z kontrolju jakosti likars'kyh zasobiv u 6-mu raundi programy profesijnogo testuvannja laboratorij. Farmakom, 4, 11–19.

9. Daas, A. G. J., Miller, J. H. M. (1998). Content limits in the European Pharmacopoeia (Part 2). Pharmeuropa, 10 (1), 137–146.

10. Statystychnyj analiz rezul'tativ himichnogo eksperimentu. Derzhavna Farmakopeja Ukrainy. Vol. 1 (2015). Kharkiv: Derzhavne pidpryemstvo “Naukovo-eks-pertnyj farmakopejnyj centr”, 881–909.

Дата надходження рукопису 06.06.2016

Чикалова Світлана Олегівна, науковий співробітник, відділ Державної Фармакопеї України, ДП «Фармакопейний центр», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, Україна, 61085
E-mail: svetl.chikalova@yandex.ua

Гризодуб Олександр Іванович, доктор хімічних наук, професор, головний науковий співробітник, Відділ Державної Фармакопеї України, ДП «Фармакопейний центр», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, Україна, 61085
E-mail: o.gryzodub@ukr.net

Бевз Олена Валеріївна, молодший науковий співробітник, відділ Валідації та стандартних зразків, ДП «Фармакопейний центр», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, Україна, 61085
E-mail: bevz.helen@gmail.com

Зінов'єва Ірина Григорівна, молодший науковий співробітник, відділ Валідації та стандартних зразків, ДП «Фармакопейний центр», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, Україна, 61085
E-mail: zirinka366@gmail.com

Кобець Галина Вікторівна, науковий співробітник, Відділ Валідації та стандартних зразків, ДП «Фармакопейний центр», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, Україна, 61085
E-mail: galinakobets@br.ru