

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРГЕКСИДИНА БИГЛЮКОНАТА В АНТИСЕПТИЧЕСКОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ

АДАМЕНКО Г.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №1. – С. 72-77.

VALIDATION OF THE METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF CHLORHEXIDINE BIGLUCONATE IN AN ANTISEPTIC MEDICINE

ADAMENKO G.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(1):72-77.

Резюме.

Целью работы было адаптировать и валидировать методику количественного определения хлоргексидина биглюконата в антисептическом лекарственном средстве «Витасепт-СКО».

Адаптирована и валидирована методика количественного определения хлоргексидина биглюконата методом абсорбционной спектрофотометрии в антисептическом лекарственном средстве, содержащем спирта этилового 72,0±2,0 об/об % с 5,0±0,5 г/дм³ хлоргексидина биглюконата по показателям специфичности, линейности, сходимости, внутрилабораторной прецизионности, правильности и диапазону определяемых содержаний.

Методика позволяла проводить определение хлоргексидина биглюконата в присутствии других компонентов, входящих в состав средства. Величина аналитического сигнала, получаемого при исследовании плацебо, не превышала по модулю более чем на 2,0% значение аналитического сигнала, соответствующего нижней границе определяемого содержания хлоргексидина биглюконата в лекарственном средстве. Следовательно, методика специфична.

Коэффициент аппроксимации должен быть не менее 0,99 (0,9999). Пересечения с осью Y было не более 2,0% значения аналитического сигнала, соответствующего 100% содержанию хлоргексидина биглюконата (-0,24). Открываемость, рассчитываемая как отношение средней концентрации, определенной по градуировочному графику, и номинальной концентрации, умноженная на 100%, была в пределах 98-102%. Следовательно, методика является линейной.

Относительное стандартное отклонение (RSD) для количественного определения модельных растворов не превышала 2,0%. Следовательно, методика прецизионна.

Была установлена степень соответствия между истинным значением определяемой величины и результатами, полученными по валидируемой методике. Правильность контролируется путем приготовления модельных растворов хлоргексидина биглюконата в предполагаемом диапазоне определяемых содержаний методики. Диапазон определяемых содержаний по разработанной методике составляет 4,5-5,5 мг/см³ хлоргексидина биглюконата.

Ключевые слова: валидация, Витасепт-СКО, хлоргексидина биглюконат.

Abstract.

The aim of this work was to adapt and validate the method for quantitative determination of chlorhexidine bigluconate in the antiseptic medicine «Vitasept-SKO».

The method for quantitative determination of chlorhexidine bigluconate by the absorption spectrophotometry in an antiseptic medicine containing ethanol 72,0±2,0 v/v % with 5,0±0,5 g/dm³ of chlorhexidine bigluconate was adapted and validated in terms of specificity, linearity, convergence, interlaboratory precision, accuracy and range of detectable contents.

The method enabled the determination of chlorhexidine bigluconate in the presence of other components constituting the medicine. The value of the analytical signal obtained while studying placebo did not exceed by more than 2,0% in magnitude the value of the analytical signal corresponding to the lower limit of the measured content of chlorhexidine bigluconate in the drug. Therefore, the method is specific.

The approximation coefficient must be at least 0,99 (0,9999). The intersection with the Y axis was no more than 2,0% of the value of the analytical signal corresponding to the 100% chlorhexidine bigluconate content (-0,24). The openability, calculated as the ratio between the average concentration determined according to the calibration curve and the nominal concentration, multiplied by 100% was within the limits of 98-102%. Hence, the method is linear.

The relative standard deviation (RSD) for the quantitative determination of model solutions did not exceed 2,0%, consequently the method is precise.

The degree of correspondence between the true value of the determined quantity and the results obtained by the validated method was established. The regularity is controlled by means of preparing model solutions of chlorhexidine bigluconate in the expected range of the determined content of the method. The range of the determined content according to the developed method makes up 4,5-5,5 mg/cm³ of chlorhexidine bigluconate.

Key words: validation, Vitasept-SKO, chlorhexidine bigluconate.

В целях расширения производства и освоения новых лекарственных средств актуальны развитие отечественной фармацевтической промышленности с условиями производства, соответствующими международным стандартам «Надлежащей производственной практики» (GMP), и реализация современных и эффективных технологий лечения и профилактики болезней лекарственными средствами отечественного производства, конкурентоспособными с импортируемыми [1-6].

Качество лекарственных средств является составной частью его характеристики. От качества лекарственного средства будет зависеть его безопасность и эффективность. Главным требованием промышленного производства лекарственных средств является соответствие готовой продукции действующим нормативно-правовым актам. При производстве и контроле качества лекарственных средств особое внимание уделяется помещению и оборудованию. Так, в ТКП 428-2012 (02041) «Производство лекарственных средств. Контроль качества» к ним предъявляются следующие требования.

При разработке фармакопейной статьи, фармакопейной статьи предприятия и нормативной документации на лекарственные средства содержание нормативного документа определяется природой и физико-химическими свойствами фармацевтической субстанции, технологией получения, способом применения, принадлежностью к той или иной классификационной группе, дозировкой.

Традиционно анализ всех лекарственных средств проводится по 3 направлениям: установление подлинности, оценка чистоты и опре-

деление содержания действующих веществ. При оценке качества лекарственного средства в определенной лекарственной форме дополнительно включаются испытания по характерным для данной лекарственной формы показателям [1-3].

Производство лекарственных средств организуется таким образом, чтобы обеспечить безопасность, качество и эффективность лекарственных средств и исключить риск для населения, пациентов и персонала. Фармацевтическая система качества при производстве лекарственных средств осуществляется на всех стадиях производственного процесса. Это обеспечивается путём разработки, планирования, внедрения, поддержания и непрерывного усовершенствования системы, позволяющей постоянно производить и реализовывать продукцию с соответствующими показателями. Операции технологического процесса должны осуществляться по чётко установленным процедурам [1-3]. Мероприятия должны подтверждать соблюдение требований GMP. Существенные изменения производственного процесса, включая любое изменение оборудования и материалов, которое может повлиять на изменение качества продукта или воспроизводимость процесса, должны пройти процесс валидации [6]. Целью валидации является – установление пригодности метода для оценки качества конкретного процесса, метода или методики. Валидации подлежат все методы контроля при разработке новых лекарственных средств.

Цель работы – адаптировать и валидировать методику количественного определения хлоргексидина биглюконата в антисептическом лекарственном средстве «Витасепт-СКО».

Материал и методы

Для определения хлоргексидина биглюконата в антисептическом лекарственном средстве «Витасепт-СКО» методику адаптировали и валидировали. Назначением валидации методики количественного определения хлоргексидина биглюконата в средстве, содержащем спирт этиловый 72,0 об/об % с хлоргексидина биглюконатом 0,5% с детектированием методом абсорбционной спектрофотометрии, является документальное подтверждение того, что методика воспроизводима в условиях лаборатории и результаты испытаний с использованием данной методики достоверны [7]. Валидацию проводили в соответствии с ТКП 432-2012 (02041) «Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний» и ТКП 438-2012 (02041) «Производство лекарственных средств. Применение статистических методов валидации» [8, 9].

Спектрофотометрический анализ является методом качественного обнаружения и количественного определения веществ: каждое вещество специфично поглощает свет определенной длины волны, что может служить качественной характеристикой, а интенсивность поглощения пропорциональна содержанию вещества.

Для исследований использовалось поверенное и сертифицированное оборудование: весы лабораторные электронные AR 2140 (Ohaus, Соединённые Штаты Америки) и спектрофотометр Specord 250 (Analytik Jena, Германия).

При валидации данной методики исследования подлежали проверке следующие аналитические характеристики: специфичность, линейность, прецизионность (сходимость и внутрилабораторная прецизионность), правильность, диапазон определяемых содержаний.

Специфичность показывает способность однозначно оценивать анализируемое вещество в присутствии других компонентов, которые могут быть в образце. Линейность – это способность методики (в пределах диапазона применения) давать величины, прямо пропорциональные концентрации (количеству) анализируемого вещества в образце. Правильность характеризует степень соответствия между известным истинным значением или справочной величиной и значением, полученным по данной методике. Сходимость характеризует точность методики при ее выполнении в одних и тех же условиях в течение небольшого промежутка времени. Внутрилабораторная пре-

цизионность характеризует влияние внутрилабораторных вариаций: различные дни, различные аналитики, различное оборудование и т.п. изменения. Диапазон применения – интервал между минимальной и максимальной концентрациями (количествами) анализируемого вещества в образце (включая эти концентрации), для которого показано, что аналитическая методика имеет требуемую точность, правильность и линейность [8].

Специфичность оценивали путем исследования модельных растворов хлоргексидина биглюконата, приготовленных с использованием растворов плацебо. Для этого приготавливали плацебо: смешивали 66,25 см³ спирта этилового 96,3% и 33,75 см³ воды Р. 1,00 см³ полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 250,00 см³, разбавляли водой до метки и перемешивали. Измеряли значение оптической плотности полученного раствора в кювете с толщиной слоя 10,00 см³ при 253 нм относительно воды Р, которая должна отличаться от лекарственного средства. Результат, получаемый при исследовании плацебо, не должен превышать по модулю более чем на 2% значение результата, соответствующего нижней границе определяемых содержаний фармацевтической субстанции в лекарственном средстве.

Определение линейности методики проводили для 5 уровней содержания хлоргексидина биглюконата (3,5; 4,0; 4,5; 5,0 и 5,5 мг/см³). Измеряли значения оптической плотности данных модельных растворов при 253 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно воды. По полученным данным строили график зависимости аналитического сигнала как функции содержания анализируемого вещества и визуально оценивали линейность по графику. Далее выполняли статистическую обработку результатов испытаний (вычисляли регрессивную линию методом наименьших квадратов). Для подтверждения линейности определяли коэффициент корреляции (R²) (должен был быть не менее 0,99). Пересечения с осью Y не более 2,0% значения аналитического сигнала, соответствующего 100% содержанию хлоргексидина биглюконата. Открываемость (R), рассчитываемая как отношение средней концентрации определенной по градуировочному графику и номинальной концентрации, умноженная на 100%, должна быть в пределах 98-102%.

Прецизионность изучали на двух уровнях: сходимость и внутрилабораторная прецизионность.

Сходимость методики оценивали путем исследования модельных растворов хлоргексидина биглюконата, приготовленных на спирте этиловом 73,0 об/об % (4,5; 5,0 и 5,5 мг/см³) в течение всего периода исследования. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) для 5-ти определений не должно превышать 2%.

Для определения внутрилабораторной прецизионности 5 измерений той же серии были проанализированы другим аналитиком в другой день. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) для 2-х аналитиков не должно превышать 3%.

Правильность изучали на модельных растворах хлоргексидина биглюконата (4,5; 5,0 и 5,5 мг/см³).

Для определения диапазона применения использовали результаты следующих тестов: специфичности, линейности, правильности и прецизионности валидируемой методики. Диапазон применения устанавливали исходя из того, что валидированная методика количественного определения хлоргексидина биглюконата имеет приемлемую степень линейности, правильности и прецизионности при анализе образцов с количественным содержанием хлоргексидина биглюконата в диапазоне применения валидируемой методики.

Результаты и обсуждение

Методика позволяла проводить определение хлоргексидина биглюконата в присутствии других компонентов, входящих в состав сред-

Таблица 1 – Измеренные значения оптических плотностей испытуемых растворов

C, мг/см ³	A
3,5	0,462
4	0,529
4,5	0,593
5	0,659
5,5	0,726

ства. Величина аналитического сигнала, получаемого при исследовании плацебо, не превышала по модулю более чем на 2,0% значение аналитического сигнала, соответствующего нижней границе определяемого содержания хлоргексидина биглюконата в средстве. Следовательно, методика специфична.

При определении линейности методики были приготовлены стандартные растворы с содержанием хлоргексидина биглюконата (3,5; 4,0; 4,5; 5,0 и 5,5 мг/см³). Измеренные значения оптической плотности данных модельных растворов при 253 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно воды были следующие (табл. 1).

По полученным данным строили график зависимости аналитического сигнала как функции содержания анализируемого вещества и визуально оценивали линейность по графику (рис. 1).

Коэффициент аппроксимации (R²) должен быть не менее 0,99 (0,9999). Пересечения с осью Y было не более 2,0% значения аналитического сигнала, соответствующего 100% содержанию хлоргексидина биглюконата (-0,24). Открываемость R, рассчитываемая как отношение средней концентрации, определенной по градуировочно-

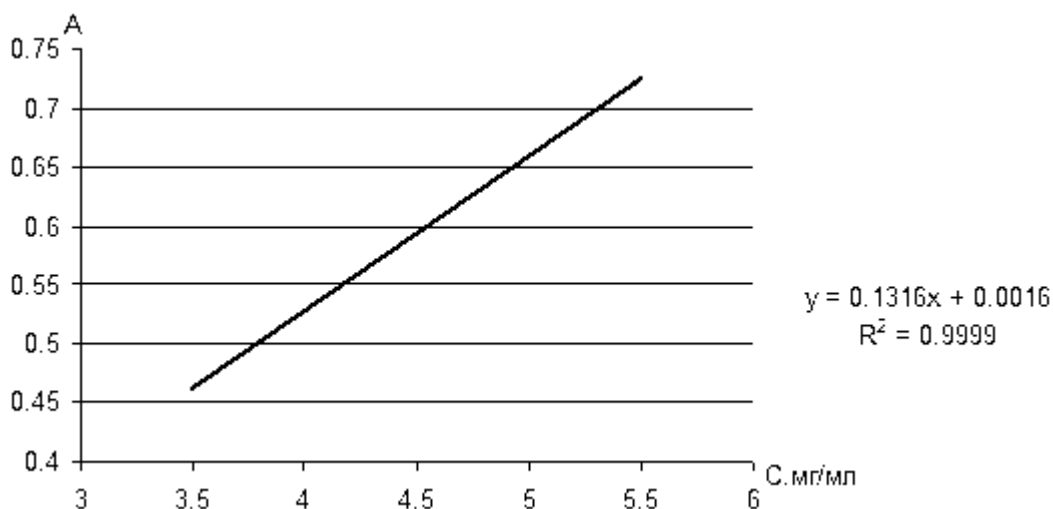


Рисунок 1 – Градуировочный график, уравнение регрессии, коэффициент аппроксимации R².

му графику и номинальной концентрации, умноженная на 100%, была в пределах 98-102%. Следовательно, методика является линейной.

Для оценки прецизионности методики были приготовлены на одной среде растворения (спирт этиловый 72,0 об/об %) в течение всего периода исследования модельные растворы хлоргексидина биглюконата (4,5; 5,0 и 5,5 мг/см³). Результаты исследования модельных растворов приведены в таблице 2.

Относительное стандартное отклонение (RSD) для количественного определения модельных растворов не превышала 2,0%. Следовательно, методика прецизионна.

Для определения внутрилабораторной прецизионности 5 измерений той же серии были проанализированы другим аналитиком в другой день. Полученные результаты не отличались.

Была установлена степень соответствия между истинным значением определяемой величины и результатами, полученными по валидируемой методике. Правильность контролируется путем приготовления модельных растворов хлоргексидина биглюконата в предполагаемом диапазоне определяемых содержаний методики. Результаты исследования модельных растворов и расчет открываемости методики приведены в таблице 3.

Диапазон определяемых содержаний по разработанной методике составляет 4,5-5,5 мг/см³ хлоргексидина биглюконата.

Заключение

Адаптирована и валидирована методика количественного определения хлоргексидина биглю-

коната методом абсорбционной спектрофотометрии в антисептическом лекарственном средстве, содержащем спирта этилового 72,0±2,0 об/об % с 5,0±0,5 г/дм³ хлоргексидина биглюконата по показателям специфичности, линейности, сходимости, внутрилабораторной прецизионности, правильности и диапазону определяемых содержаний.

Литература

1. Годовальников, Г. В. Организация и экономика фармации : практ. пособие. В 4 ч. Ч. 1 / Г. В. Годовальников. – Минск : Проф. изд., 2015. – 263 с.
2. ISO/IEC 17025:2017(E). Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий [Электронный ресурс]. – М. : Аналитика, 2018. – 40 с. – Режим доступа: <http://aac-analitica.ru/>. – Дата доступа: 18.02.2019.
3. Надлежащая производственная практика : ТКП 030-2017 (33050). – Введ. 2017-09-01. – Изд. офиц. – Минск : М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2017. – 218 с.
4. Иванов, А. И. Принципы обеспечения качества производства лекарственных средств на современном этапе развития мирового фармацевтического рынка / А. И. Иванов // Фармация. – 2009. – № 2. – С. 21–23.
5. Иванов, А. И. Управление процессами фармацевтического предприятия в ракурсе требований GMP как бизнес-системы / А. И. Иванов, И. В. Сударев // Фармация. – 2008. – № 6. – С. 37–39.
6. Реутская, Л. А. К вопросу о разработке национальной лекарственной политики / Л. А. Реутская // Вестн. фармации. – 2009. – № 3. – С. 5–15.
7. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II) : разраб. на основе Европ. Фармакопеи. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств : введ. в действие с 1 янв. 2013 г. приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 25.04.2012 № 453 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно : Победа, 2012. – 1217 с.

Таблица 2 – Измеренные значения оптических плотностей испытуемых растворов и обработка данных

C _{введено} , мг/см ³	1,04	2,04	3,04	5,04	6,04	\tilde{N} , мг/мм ³	RSD, %
	C _{найдено} , мг/мм ³						
4,5	4,49	4,5	4,48	4,51	4,49	4,49	1,5
5	4,99	4,99	5,0	5,01	4,98	4,99	1,25
5,5	5,5	5,48	5,5	5,49	5,51	5,5	1,25

Таблица 3 – Измеренные значения оптических плотностей испытуемых растворов и расчет открываемости методики

C введено, мг/ см ³	1,04	2,04	3,04	5,04	6,04	\bar{N} найдено, мг/мм ³	R,%
	C найденo, мг/ см ³						
4,5	4,49	4,5	4,48	4,51	4,49	4,49	99,8
5	4,99	4,99	5,0	5,01	4,98	4,99	99,8
5,5	5,5	5,48	5,5	5,49	5,51	5,5	100

8. Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний : ТКП 432-2012 (02041). – Введ. 01.03.2013. – Изд. офиц. – Минск : Департамент фармацевт. пром-сти М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 2012. – 18 с.
9. Производство лекарственных средств. Применение статистических методов валидации : ТКП 438-2012 (02041). – Введ. 01.03.2013. – Изд. офиц. – Минск : Департамент фармацевт. пром-сти М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 2012. – 27 с.

Поступила 04.10.2018 г.

Принята в печать 28.01.2019 г.

References

1. Godoval'nikov GV. Organization and Economics of pharmacy: prakt posobie. V 4 ch. Ch 1. Minsk, RB: Prof izd; 2015. 263 p. (In Russ.)
2. ISO/IEC 17025:2017(E). General competence requirements for testing and calibration laboratories [Elektronnyi resurs]. Moscow, RF: Analitika; 2018. 40 r. Rezhim dosutpa: <http://aac-analitica.ru/>. Data dostupa: 18.02.2019. (In Russ.)
3. Good manufacturing practice: ТКР 030-2017 (33050). Vved 2017-09-01. Izd ofits. Minsk, RB: M-vo zdravookhraneniia Resp Belarus'; 2017. 218 p. (In Russ.)
4. Ivanov AI. Principles of ensuring the quality of production of medicines at the present stage of development of the world pharmaceutical market. Farmatsiia. 2009;(2):21-3. (In Russ.)
5. Ivanov AI, Sudarev IV. Management of pharmaceutical enterprise processes in terms of GMP requirements as a business system. Farmatsiia. 2008;(6):37-9. (In Russ.)
6. Reutskaya LA. To a question of development of national medicinal policy. Vestn Farmatsii. 2009;(3):5-15. (In Russ.)
7. M-vo zdravookhraneniia Resp Belarus', Tsentri ekspertiz i ispytanii v zdravookhraneni; Sheriakov A, red. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus (GF RB II): razrab na osnove Evrop Farmakopei. V 2 t. T 1. General methods of quality control of medicines: vved. v deistvie s 1 ianv 2013 g prikazom M-va zdravookhraneniia Resp Belarus' ot 25.04.2012 № 453. Molodechno, RB: Pobeda; 2012. 1217 p. (In Russ.)
8. Production of medicines. Validation of test procedures: ТКР 432-2012 (02041). Vved 01.03.2013. Izd ofits. Minsk, RB: Departament farmatsevt prom-sti M-va zdravookhraneniia Resp Belarus'; 2012. 18 p. (In Russ.)
9. Production of medicines. Application of statistical methods of validation: ТКР 438-2012 (02041). Vved 01.03.2013. Izd ofits. Minsk, RB: Departament farmatsevt prom-sti M-va zdravookhraneniia Resp Belarus'; 2012. 27 p. (In Russ.)

Submitted 04.10.2018

Accepted 28.01.2019

Сведения об авторах:

Адаменко Г.В. – старший преподаватель кафедры организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Information about authors:

Adamenko G.V. – senior lecturer of the Chair of Organization & Economy of Pharmacy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК. E-mail: geniusadam@mail.ru – Адаменко Геннадий Владимирович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Organization & Economy of Pharmacy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: geniusadam@mail.ru – Gennadiy V. Adamenko.