**Введение**

Актуальность данной темы обусловлена тем, что технический прогресс, совершенствование технологических процессов, производство эффективных и безопасных лекарственных препаратов невозможны без измерения параметров их качества [3].

Измерения производят как с целью установления действительных параметров лекарственных препаратов и изделий медицинской техники и соответствия их требованиям нормативной документации, так и для проверки точности технологического процесса и его совершенствования для предупреждения появления брака.

Процесс получения и обработки информации об объекте с целью определения его годности или необходимости введения управляющих воздействий на факторы, влияющие на объект, называется контролем. Так, при контроле готовых лекарственных форм проверяют соответствие действительных значений химических, механических, физических и других параметров допустимым значениям этих параметров, установленных в фармакопее [3\7].

**Цель работы** - изучить методы метрологии в фармацевтическом анализе, методы валидации.

**Объект исследования** - метрология в фармацевтическом анализе.

**Предмет исследования** - методы метрологии и валидации фармацевтическом анализе.

**Задачи:**

1) Изучить общую характеристику метрологических методов в фармацевтическом анализе;

) Рассмотреть средства измерений в метрологическом анализе;

) Рассмотреть метрологические методы дозирования по массе и по объему;

) Изучить особенности метрологических методов дозирования каплями;

) Валидация методов анализа в фармацевтическом анализе.

**1. Метрология как наука об измерениях**

Метрологией называют науку об измерениях, методах и средствах обеспечения их единства и способах достижения требуемой точности.

Измерением называют нахождение значения физической величины опытным путем с помощью технических средств. Измерения позволяют установить закономерности природы и являются элементом познания окружающею нас мира [4].

Различают измерения прямые, при которых результат получается непосредственно из измерения самой величины (например, измерение температуры тела медицинским термометром), и косвенные, при которых искомое значение величины находят по известной зависимости между ней и непосредственно измеряемыми величинами (например, определение массы тела при взвешивании с учетом выталкивающей силы).

К средствам измерений относят также меру, которая предназначена для воспроизведения физической величины заданного размера (например, гиря определенной массы) [3].

Одно из распространенных средств измерений - измерительный преобразователь (датчик).

Он предназначен для выработки сигнала измерительной информации в форме, удобной для передачи, дальнейшего преобразования, обработки и (или) хранения.

Значение физической величины, полученное при измерении, отличается от истинного. Степень приближения результатов измерения к истинному значению измеряемой величины характеризуется точностью измерений. Точность измерений является качественным показателем измерений [7].

Количественная оценка результата измерений дается не его точностью, а погрешностью - отклонением результатов измерений от истинного значения измеряемой величины. Чем меньше погрешность, тем выше точность измерений [9].

Погрешности объясняются несовершенством средства измерений, неопытностью персонала, влиянием посторонних факторов и др. Из этих причин можно выделить те, которые проявляются нерегулярно и при повторных измерениях оказывают иное количественное воздействие на результат. Такие факторы приводят к случайным погрешностям. Это случайные величины, поэтому их можно обработать, проанализировать и таким образом учесть, используя соответствующий математический аппарат: теорию вероятностей и математическую статистику.

Одним из основных метрологических понятий являются единицы физических величин. Единицей физической величины называют физическую величину, принятую по соглашению в качестве основы для количественной оценки соответствующей физической величины.

Единицы физических величин в основном группируются в системы единиц. Основной является Международная система единиц (СИ). Справочный материал по единицам физических величин приведен в [2]. Не останавливаясь на этих вопросах, рассмотрим лишь относительные и логарифмические величины.

В измерительной практике достаточно широкое распространение получили относительные величины, которые являются отношением физической величины к одноименной физической величине, принимаемой за исходную. В качестве примера можно указать концентрацию раствора, относительные диэлектрическую и магнитную проницаемости, коэффициент полезного действия, относительную деформацию, коэффициент трения, вязкость крови относительно вязкости воды и т.д. [6].

Технические устройства, используемые в медицине, называют обобщенным термином «медицинская техника». Большая часть медицинской техники относится к медицинской аппаратуре, которая, в свою очередь, подразделяется на медицинские приборы и медицинские аппараты.

Медицинским прибором принято считать техническое устройство, предназначенное для диагностических или лечебных измерений (медицинский термометр, сфигмоманометр, электрокардиограф и др.).

Медицинский аппарат - техническое устройство, позволяющее создавать энергетическое воздействие терапевтического, хирургического или бактерицидного свойства, а также обеспечивать в медицинских целях определенный состав различных субстанций (аппарат УВЧ-терапии, электрохирургии, искусственной почки, кохлеарный протез и др.).

Метрологические требования к медицинским приборам как к измерительным устройствам достаточно очевидны. Многие медицинские аппараты призваны оказывать дозирующее энергетическое воздействие на организм, поэтому они также включены в сферу внимания метрологической службы [5].

Измерения в медицине (медицинские или медико-биологические измерения), а также соответствующие средства измерений достаточно специфичны. Эта особенность побуждает выделить в метрологии отдельное направление - медицинскую метрологию.

**2. Средства метрологических измерений**

Для определения качества препаратов используются средства измерений.

**Средства измерения** - технические средства, приборы и оборудование, имеющие нормированные метрологические свойства. Средства измерения делятся на 2 класса [4]:

. **Образцовые средства измерений** - это меры, измерительные приборы или преобразователи, утвержденные в качестве образцовых. Образцовые средства измерений существуют и поддерживаются в идеальном состоянии в институтах Росстандарта, региональных центрах метрологии. Они служат для контроля правильности работы рабочих измерительных средств - приборов, находящихся на рабочем столе в аптеке, лаборатории. Образцовые средства измерений периодически поверяют по эталонам, которые находятся в национальных институтах метрологического обеспечения [11].

. **Рабочие средства измерений** - это меры, устройства или приборы, применяемые для измерений в течение рабочего времени.

В зависимости от использованных физических принципов измерения существуют:

электрические;

пневматические;

оптические;

фотоэлектрические и другие средства измерения.

Измеренное значение показывает интервал, внутри которого с вероятностью, близкой к 100%, находится неизвестное истинное значение меры.

**Класс точности прибора** (g) показывает значение допускаемой погрешности в процентах от предела измерения (или суммы пределов для приборов, нуль которых находится внутри шкалы). ГОСТ на средства измерений предусматривает 8 классов точности: 0,05; 0,1;0,2; 0,5; 1,0; 1,5; 4,0.

**Погрешность** показывает интервал, внутри которого с вероятностью, равной 100%, находится истинное значение измеряемой величины, если стрелка прибора совпадает со штрихом шкалы. Зная класс точности прибора и максимальное деление на его шкале, можно найти погрешность измерения, равную произведению данных значений, деленную на 100.

**Поправка** - величина, которая должна быть алгебраически прибавлена к показанию измерительного прибора или к номинальному значению меры, чтобы исключить систематические погрешности и получить значение измеряемой величины, более близкое их истинным значениям [7].

**Погрешность**

По характеру проявления различают погрешности: случайные и систематические.

**Систематическая** - это составляющая погрешности измерения, остающаяся постоянной при повторных измерениях. Например, при взвешиваниях одного и того же груза она может быть вызвана следующими причинами: неправильной установкой или сборкой весов, неправильным изготовлением (заводской брак), недостаточно точной подгонкой гирь, усталостными изменениями упругих частей весов (в частности, их естественным старением) и другими факторами [8].

Систематические погрешности внешне себя никак не проявляют. Они обнаруживаются, например, при проверке нуля шкалы или чувствительности весов во время госповерки (проверки правильности показаний прибора по эталонным мерам или средствам измерений).

**Случайная** - это составляющая погрешности, изменяющаяся случайным образом при повторных взвешиваниях одного и того же груза. Случайная погрешность чаще всего связана с квалификацией оператора, метеорологическими условиями и другими факторами, изменяющимися в момент измерения.

**Метод измерения** - это совокупность правил и приемов использования средств измерений, позволяющая решить измерительную задачу.

Существуют прямые и косвенные методы измерения. При прямых измерениях значение измеряемой величины находят непосредственно из опытных данных. Большинство измерительных средств основано на прямых измерениях, например измерение температуры термометром, диаметра таблеток - штангенциркулем и т.п. [12].

При косвенных измерениях искомое значение величины находят вычислением по известной зависимости между этой величиной и величинами, подвергаемыми прямым измерениям, например измерение концентрации действующего вещества - по расходу реагента, пошедшего на титрование. Разновидностью косвенного метода является метод сравнения.

**Метод сравнения** - метод измерений, основанный на использовании рабочей меры и измерительного прибора сравнения. В данном случае сравнивают полученный результат измерения с испытанием в тех же условиях рабочего стандартного образца, например измерение оптической плотности испытуемого раствора и раствора РСО при количественном анализе методом спектрофотометрии по ГФ XI [11].

**Основные метрологические показатели средств измерения**

**Деление шкалы прибора** - промежуток между 2 соседними отметками шкалы.

**Длина (интервал) деления шкалы** - расстояние между осями 2 соседних отметок шкалы.

**Цена деления шкалы** - разность значений величин, соответствующих 2 соседним отметкам шкалы, например 5 г при длине (интервале) деления шкалы весов торговых, равной 1000 г.

**Диапазон измерений** - область значений измеряемой величины, в пределах которой нормированы допустимые погрешности средства измерений; например диапазон измерения длин волн на спектрофотометре от 200 до 850 нм.

**Предел допустимой погрешности средства измерения** - наибольшая (без учета знака) погрешность средства измерений, при которой оно может быть признано годным и допущено к применению, например пределы допустимой погрешности 100-миллиметровой линейки 1-го класса равны -0,5 мм. [6].

**Стабильность средства измерения** - свойство, отражающее постоянство во времени его метрологических показателей.

**Точность средств измерений** - качество средств измерений, характеризующее близость к нулю их погрешностей.

**Чувствительность средства измерения** - отношение изменения сигнала на выходе измерительного средства к вызвавшему его изменению измеряемой величины. Например, при нагрузке на весы ВСМ-100 груза 10 мг стрелка должна отклоняться на половину ширины.

Для устранения неправильных и неточных показаний приборов в стране создана Государственная система обеспечения единства измерений (ГСЕИ). Основные задачи ГСЕИ: установление единиц физических величин, методов и средств воспроизведения единиц, рациональной системы передачи единиц от эталонов к рабочим средствам измерений; определение номенклатуры и способов выражения метрологических показателей средств измерения [7].

Для обеспечения единства измерений введены обязательные испытания новых типов измерительных средств и надзор за состоянием и правильным использованием измерительной техники, применяемой в народном хозяйстве. Систематическая поверка приборов - это одна из главных гарантий их точности. Важное значение имеет также соблюдение нормальных условий измерений, установленных стандартами.

В систему ГСЕИ включены ГОСТ 8.001718.09873, а также ГОСТ 8.05073 на нормальные условия выполнения линейных и угловых измерений.

Согласно ОСТ 91500.05.0007 «Правила отпуска (реализации) лекарственных средств в аптечных организациях», необходимо регулярно проводить поверку приборов, аппаратов, используемых в аптечной организации, в соответствии с требованиями нормативных документов. Использование неповеренных приборов не допускается. Если весы отвечают всем требованиям поверки, их подвергают клеймению. Клеймо ставят на коромысле, съемных чашках, передвижной гире или на пломбе, укрепленной на корпусе весов. На клейме изображен герб России, год клеймения, шифры лаборатории и госповерителя. Весы, гири подлежат обязательной поверке не реже 1 раза в год [9].

**3. Способы дозирования в фармации**

Главная задача провизора-технолога и аптечного учреждения в целом - выдать пациенту ровно то количество лекарственного средства, которое прописал врач. Для реализации этой задачи необходима операция дозирования [11].

**Три способа дозирования**

В фармации приняты 3 способа дозирования: по массе, по объему и каплями.

**.1 Дозирование по массе**

**Дозирование по массе** - технологическая стадия деления общей массы лекарственного препарата на дозы, прописанные врачом.

По массе дозируют: порошки, растворы твердых и жидких лекарственных веществ в вязких и летучих растворителях, а также суспензии с концентрацией твердой фазы 3% и более, эмульсии, жирные и минеральные масла, глицерин, димексид, полиэтиленгликоли (полиэтиленоксиды), силиконовые жидкости, эфир, хлороформ, а также бензилбензоат, валидол, ванилин (бальзам Шостаковского), деготь березовый, ихтиол, кислоту молочную, масла эфирные, скипидар, метилсалицилат, нитроглицерин, пергидроль [13].

**.1.1** **Оборудование для дозирования по массе**

Любые весы, применяемые в фармации, характеризуются следующими параметрами:

**наибольший предел взвешивания** (НПВ) - максимальная масса взвешиваемого груза, при которой возможна точность измерения в пределах допустимой ошибки взвешивания. При попытке взвесить груз тяжелее НПВ прибор, скорее всего, покажет либо неправильный вес, либо выдаст сообщение об ошибке, либо разрушится.



**Рисунок 1.** Весы аптечные ручные

**наименьший предел взвешивания** (НмПВ,) - ограничение на минимальную массу, которую весы могут измерить в пределах допустимой ошибки взвешивания;

**шкала весов** - диапазон между НПВ и НмПВ;

**цена деления шкалы весов** - отрезок на числовой оси, равный наименьшему пределу взвешивания.



**Рисунок 2.** Весы тарирные ВКТ-1000



**Рисунок 3.** Весы настольные торговые

Весы являются годными к работе, если выдержали испытание по 4 метрологическим параметрам:

устойчивость; - верность;

чувствительность; - постоянство показаний.



**Рисунок 4.** Весы электронные

**Устойчивость** - способность весов, выведенных из состояния равновесия, возвращаться после 4-6 колебаний к первоначальному положению. Устойчивость прямо пропорциональна расстоянию от точки опоры до центра тяжести весов. Устойчивые весы обеспечивают быстроту дозирования по массе.

**Верность** - способность весов показывать правильное соотношение между массой взвешиваемого тела и массой стандартного груза-разновеса. Весы верны при условии равноплечести коромысла, симметричности плеч коромысла, равенстве массы чашек. Верность определяется взвешиванием стандартного эталонного груза.

**Постоянство показаний** - способность весов показывать одинаковые результаты при многократных определениях массы тела, проводимых на весах в одних и тех же условиях. На постоянство показаний весов влияет расположение граней призм (они должны быть строго параллельны), а также наличие трения в подвижных контактах весов. Определяют десятикратным взвешиванием одного и того же стандартного груза.

**Чувствительность** - способность весов показывать наличие минимальной разницы между грузами, лежащими на чашках. Чувствительность весов прямо пропорциональна длине плеча коромысла и обратно пропорциональна массе коромысла, нагрузке весов (массе чашек, груза, перегруза), величине прогиба коромысла, расстоянию от точки опоры до центра тяжести [7].

**Абсолютная чувствительность** - масса груза, выводящая весы из равновесия. **Относительная чувствительность** (точность дозирования) определяется отношением перегруза, вызвавшего стандартное отклонение, к грузу, массу которого определяют, выраженным в процентах [14].

Ручные и тарирные весы считаются чувствительными, если при нахождении весов в состоянии равновесия при нагрузках, равных максимальной и 1/10 максимальной, а также при ненагруженных весах, груз, соответствующий величине допустимой погрешности, прибавленной на одну из чашек весов, выведет весы из состояния равновесия настолько, что стрелка у ручных весов выйдет за пределы обоймицы не менее чем на половину своей ширины, а у тарирных весов отклонение от среднего деления будет не менее 5 мм.

**Допустимая погрешность** - это абсолютная погрешность, которая определяется конструкцией весов и зависит от нагрузки. Допустимая погрешность - наибольшая (без учета знака) погрешность весов, при которой они могут быть признаны годными и допущенными к применению [16].

**Относительная погрешность** - отношение абсолютной погрешности к массе взвешиваемого груза в процентах.

ГФ XI (вып. 2, с. 150) установлена минимальная масса взвешивания ядовитых и сильнодействующих веществ -0,05 г.

**Правила дозирования по массе**

. Правильный выбор оборудования для дозирования. Чем меньше класс точности весов и гирь, тем точнее дозирование.

. Правильные показания весы дают только при температуре их градуировки, обычно при 20 0С, и при отсутствии движения потока воздуха. Поэтому взвешивание лучше проводить при выключенной вентиляции и отсутствии сквозняка.

. При взвешивании спешка недопустима. Необходимо 2 раза смотреть на гири: перед установкой их на чашку весов и после помещения в пенал для хранения, проверяя правильность набора массы.

. Большое влияние на точность дозирования оказывает чистота весов. Весы необходимо обрабатывать не реже 1 раза в 7-10 дней спиртоэфирной смесью и хранить, накрыв сверху кожухом из полимерной пленки.

. Поверка весов осуществляется 1 раз в год.

Проверка правильности работы весов и возможности их использования для дозирования [17].

**A.** **Проверка чувствительности весов**

Устанавливают весы в состояние равновесия. Проверку чувствительности проводят для весов ВСМ и ВКТ в 3 диапазонах взвешивания:

для ненагруженных весов;

с грузом, соответствующим 1/10 максимальной нагрузки;

с грузом, соответствующим предельной нагрузке.

При проверке чувствительности нагруженных весов нагружают правую и левую чашки весов разновесами, при необходимости урав- новешивают весы кусочком бумаги. Затем на правую чашку устанавливают груз-допуск, равный соответствующему паспортному значению погрешностей, и определяют отклонение стрелки. Отклонение стрелки более чем на половину ширины, выходящей из обоймицы, или 5 мм (весы ВСМ и ВКТ соответственно) свидетельствует о чувствительности весов [8].

**Б. Проверка устойчивости весов**

На левую и правую чашки весов помещают разновесы, равные НПВ, и определяют количество колебаний, которое необходимо для успокоения. Весы устойчивы, если при выведении из состояния равновесия они способны возвращаться после 4-6 колебаний к первоначальному положению.

**B.** **Проверка верности весов**

На одну из чашек весов помещают гирю, равную НПВ, на другую - тарирный стакан с дробью или лист алюминиевой фольги и добиваются равновесия. Затем гирю и груз меняют местами. Если весы не приходят в состояние равновесия, добавляют груз-допуск, равный величине погрешности, на соответствующую чашку весов. Это должно привести весы в состояние равновесия или отклонить стрелку в противоположную сторону. Если этого не произойдет, то весы неверны.

**Г. Проверка постоянства показаний**

Взвешивают последовательно один и тот же груз 5 раз. Определяют среднее значение, минимальное и максимальное. Вычисляют разницу между максимальным результатом и средним результатом. Эта разница не должна превышать допустимую погрешность для взвешивания данной массы на весах данного типоразмера.

**Весы тарирные на колонке (ВКТ), или весы Мора**

Тарирными их называют потому, что дозированию по массе всегда предшествует операция тарирования - уравновешивание массы тары равноценной тарой (например, флакон с флаконом).

Весы состоят из основания с вертикальной стойкой, на которой размещено коромысло с центральной опорой и 2 боковыми грузоприемными призмами. К грузоприемным призмам подвешены серьги с держателями пластмассовых съемных чашек. Стальные призмы опираются на подушки, изготовленные из закаленной инструментальной стали. Острие опорной призмы обращено вниз, грузоприемных - вверх. На концах коромысла укреплены 2 винта (регуляторы тары) с навинчивающимися на них гайками, предназначенными для уравновешивания ненагруженных весов. В коромысле укреплена длинная указательная стрелка, которая показывает отклонение весов от нулевого положения по отсчетной шкале, прикрепленной у основания вертикальной стойки (колонки). Весы имеют арретир, при нерабочем состоянии которого призмы отделяются от подушек для предотвращения излишнего истирания. Для приведения весов в рабочее состояние арретир опускают. В результате призмы устанавливаются на подушки [10].

Метрологические характеристики весов представлены в таблице 1.

**Таблица 2.** Метрологические характеристики весов тарирных



**Гири**

Гири - меры массы, применяемые как единицы измерения массы грузов на весах. В торговле для взвешивания товаров и хозяйственных грузов применяют гири 5-го класса точности, для взвешивания драгоценных металлов - 3-го класса точности, для аналитических работ - 2-го класса точности.

**В фармации применяют гири 3 видов:**

2-го класса точности общего значения - для весов настольных, гирных и циферблатно-гирных;

условные - с радиальным вырезом для товарных весов;

образцовые - для поверки точности показаний весов и поверки гирь. Наборы гирь-разновесов обычно содержат гири в пределах от 1 до 50 г и разновесы от 10 до 500 мг. Гири хранят в специальной коробке. Работать с гирями пальцами не разрешается - только пинцетом, чтобы предотвратить загрязнение и коррозию металла [7].



**Рисунок. 5.** Набор гирь-разновесов

**.2 Дозирование по объему**

**Дозирование по объему** - технологическая операция, заключающаяся в отмеривании определенного объема жидкости при соблюдении заданной точности.

По объему дозируют растворы спирта различной концентрации, кислоты хлористоводородной и стандартные растворы, выписанные в рецепте под условным названием, **кроме пергидроля,** воду очищенную и для инъекций, водные растворы лекарственных веществ (в том числе сироп сахарный), галеновые и новогаленовые лекарственные средства (настойки, жидкие экстракты, адонизид и др.). Дозирование по объему является менее точным способом по сравнению с дозированием по массе [19].

**Правила дозирования по объему**

. Правильное определение уровня жидкости. Глаза работающего должны быть на уровне мениска. Если глаз смотрит под углом, возможна значительная ошибка дозирования за счет явления параллакса. Уровень бесцветной жидкости устанавливают по нижнему мениску, окрашенной - по верхнему.

. Правильный выбор оборудования для дозирования. Чем тоньше измерительная часть оборудования, тем точнее дозирование.

. Правильные показания приборы для дозирования дают только при температуре их градуировки, обычно при 20 ?С, так как при нагревании происходит изменение объема дозируемой жидкости. Колебания в объеме воды достигают 0,12-0,13% на каждые 5 ?С; эфира - 0,5%, поэтому отмеривать жидкости следует лишь при комнатной температуре.

. Необходимо дать возможность стечь оставшейся на стенках бюретки жидкости в течение 2-3 с.

. Последняя капля дозированию не подлежит, так как измерительные устройства отградуированы с учетом оставшейся последней капли в носике пипетки или бюретки.

. Большое влияние на точность дозирования оказывает чистота стекла. Бюретки и пипетки необходимо мыть не реже 1 раза в 7-10 дней взвесью горчичного порошка 1:20 в воде или раствором СМС.

. Малые (до 1 мл) объемы дозируют каплями [8].

**3.3 Дозирование каплями**

Стандартный каплемер, по определению ГФ, представляет собой прибор, дозирующий 20 капель воды в 1 мл при 20 0С. Каплеобразующая поверхность такого каплемера имеет наружный диаметр 3 мм, внутренний - 0,6 мм. Число капель в 1 мл (1,0 г) различных жидких средств в Таблице капель ГФ указано по стандартному каплемеру. На практике вместо стандартного каплемера используют «глазные» пипетки, которые предварительно калибруют в соответствии со стандартным каплемером. Калибровка «нестандартного» каплемера проводится путем 5- кратного взвешивания массы 20 капель дозируемой жидкости. Путем расчета определяют соотношение между стандартной и полученной каплями, что позволяет унифицировать дозирование каплями в соответствии со стандартным каплемером.

Стандартный каплемер имеет наружный диаметр выпускной трубки 3 мм, внутренний - 0,6 мм и калибруется по дистиллированной воде путем 5-кратного взвешивания 20 капель, масса которых должна быть от 0,95 до 1,05 г. Капли следует отмеривать путем свободного истечения жидкости, каплемер должен находиться в строго вертикальном положении [17].

**.4 Оборудование для дозирования по объему**

В зависимости от точности дозирования оборудование разделяют на 2 класса: градуированная стеклянная посуда и лабораторная мерная посуда.

**Градуированная стеклянная посуда**

Градуированная стеклянная посуда не является измерительным оборудованием. Метки установлены для облегчения выбора при изго- товлении данного объема. Метки устанавливают на стенках стаканов или на дне флаконов.

**Лабораторная мерная посуда**

Лабораторная мерная посуда имеет метки для измерения объема. Посуда отградуирована при 20 0С. Градуированная мерная посуда подлежит обязательной поверке не реже 1 раза в год [6].

дозирование фармация капли ***р***андомизация

**4. Валидация методов анализа в фармацевтической практике**

Лекарственные средства представляют собой сложные химические вещества как неорганической, так и органической природы, и для контроля их качества используют весь комплекс аналитических методов анализа.

Сборником обязательных общегосударственных стандартов и положений, нормирующих качество лекарственных средств, является Государственная Фармакопея (ГФ). Последнее издание Государственной Фармакопеи (ГФ XII, вып.1, 2008г.) включает не только классические химические методы определения подлинности препаратов, чистоты и их количественного содержания (гравиметрия, титриметрия), но в ней также широко представлены современные инструментальные методы анализа [8].

Аналитический контроль лекарственных средств или определенных ингредиентов в препарате необходим, чтобы гарантировать их безопасность и эффективность на протяжении всего срока годности, включая хранение, распределение и использование.

Аналитические методы начинают применяться на стадии разработки и испытания препаратов, технологий производства и продолжают использоваться при серийном выпуске лекарственных средств. В идеале такой контроль должен проводиться в соответствии со спецификациями, разработанными и валидированными во время разработки препарата. Это гарантирует, что спецификации качества применимы как к фармацевтической продукции, использованной для установления биологических характеристик действующих веществ, так и для дозированных лекарственных форм, предназначенных для продажи. После завершения биомедицинской экспертизы продукта качество всех последующих серий будет оцениваться только на основании этих спецификаций.

Для того чтобы аналитическая методика заняла достойное место в системе обеспечения качества, соответствовала своему назначению, то есть гарантировала достоверные и точные результаты анализа, предусмотрена процедура валидации аналитических методик.

**Валидация** - это процесс экспериментального подтверждения того, что аналитическая методика обеспечивает получение необходимой и достоверной информации об объекте анализа и пригодна для практического использования [12].

Необходимость валидации всех аналитических методик не вызывает сомнений - это один из элементов валидации всего процесса производства лекарств. Кроме этого, с практической точки зрения, валидация аналитических методик дает ряд существенных «вторичных» полезных эффектов.

Во-первых, при проведении валидации в процессе разработки новых методик можно своевременно выявить их недостатки и на ранних стадиях существенно улучшить методику.

Во-вторых, при грамотно и качественно выполненной работе появляется уверенность и в методике, и в качестве анализируемого препарата.

В третьих, в процессе валидации обязательно принимают практическое участие различные аналитические лаборатории. Практика валидационных экспериментов дает понимание сути методики и осознание необходимости строгого соблюдения ее параметров. В результате, при последующей эксплуатации валидированной методики значительно снижается вероятность ошибок.

**Нормативная база для проведения валидации**

Решением правительства РФ отечественные производители лекарственных средств должны полностью перейти на международный стандарт GMP. Стандарт GMP - это набор норм, правил и указаний в отношении производства, хранения и испытания фармацевтических ингредиентов, пищи и медицинских устройств.

Переход на стандарт GMP не только обеспечит население России качественными лекарствами, но и позволит отечественным инновационным препаратам выйти на международный рынок и конкурировать с лучшей зарубежной продукцией [9].

Впервые требования GMP были сформулированы в США в 1963 году. В настоящее время около 140 государств присоединились к системе удостоверения (сертификации) качества медикаментов в международной торговле, основанной на стандартах GMP.

Итак, мировая история GMP насчитывает уже более 40 лет, поэтому международная документальная база по одному из ее разделов - валидации методик хорошо развита. В первую очередь это нормативные документы: статья фармакопеи США «Validation of Compendial Methods» и документы Международной Конференции по Гармонизации (ICH). Они содержат, во-первых, четкое определение цели валидации методик, объект применения процедуры: «…методы испытаний, используемые для оценки соответствия фармацевтических продуктов определенным техническим требованиям (спецификациям)…» [16].

**Валидационные параметры**

Во всех нормативных документах по валидации методологическая часть начинается с определения параметров валидации.

Для валидации методик используются следующие параметры:

· **Правильность (accuracy).** Правильность методики - это близость получаемых с использованием данной методики результатов к истинному значению. Правильность методики может быть определена посредством выполнения анализа образцов материала, приготовленных с количественной точностью. При возможности такие образцы должны содержать все компоненты материала, включая анализируемые. Также должны быть приготовлены образцы, содержащие анализируемое вещество в количестве примерно на 10 % выше и ниже ожидаемого содержания. Правильность может быть также определена путем сравнения результатов с таковыми, полученными при использовании альтернативной методики, которая была провалидирована ранее.

· **Специальные приемы проверки и повышения правильности**

Помимо общего подхода к проверке правильности результатов анализа, основанного на их сравнении с независимыми данными при помощи статистических тестов, существует ряд специальных приемов, которые позволяют выявить, а во многих случаях и существенно снизить систематическую погрешность. Рассмотрим некоторые из них [11].

**1. Варьирование размера пробы.**

Этот прием основан на том, что для анализа используют серию проб различного размера (например, несколько аликвот разного объема) и исследуют зависимость найденного содержания от размера пробы.

**2. Релятивизация.**

Релятивизация - проведение отдельных аналитических операций в как можно более идентичных и строго контролируемых условиях с тем, чтобы возможные систематические погрешности взаимно скомпенсировать.

Например, если показания весов содержат систематическую погрешность, то следует на одних и тех же весах в течение как можно более короткого промежутка времени взвесить сначала стаканчик с навеской, затем пустой стаканчик и найти массу навески по разности.

По той же причине для отбора аликвот растворов следует пользоваться одной и той же мерной посудой.

**3. Рандомизация.**

В отличие от релятивизации здесь, наоборот, необходимо варьировать условия анализа случайным образом в достаточно широких пределах.

Например, если каждая пипетка содержит свою систематическую погрешность объема, то для выполнения серии параллельных анализов образца можно отобрать каждую аликвоту новой пипеткой.

При этом погрешность объема, применительно к каждой отдельной пипетке являющаяся систематической, по отношению ко всему множеству пипеток становится случайной, а среднее значение объема оказывается ближе к истинному, чем полученное при использовании только одной пипетки.

Таким образом, рандомизация - это способ превращения систематической погрешности в случайную. Рандомизацию обязательно используют, например, в ходе аттестации вновь разработанных стандартных образцов: порции СО рассылают по разным лабораториям и анализируют различными методами на протяжении достаточно длительного времени [12].

· **Точность (precision).** Точность методики - это степень согласованности между отдельными результатами испытаний. Она измеряется отклонением отдельных результатов от среднего значения и обычно выражается как стандартное отклонение или как коэффициент вариации (относительное стандартное отклонение), при условии использования полной методики для повторного анализа отдельных идентичных образцов, отобранных из одной и той же однородной серии материала.

· **Сходимость (внутрилабораторная вариация).** Это точность методики при ее выполнении одним и тем же аналитиком при одних и тех же условиях (те же реактивы, оборудование, задание каких-либо параметров и лаборатория) и в течение короткого промежутка времени. Сходимость методики оценивается проведением полных определений на отдельных идентичных образцах, отобранных из одной и той же однородной серии материала, и таким образом обеспечивает измерение точности методики в нормальных рабочих условиях.

· **Воспроизводимость (reproducibility).** Это точность методики, когда она проводится в различных условиях (обычно в разных лабораториях) на отдельных, предположительно идентичных образцах, отобранных из одной и той же однородной серии материала. Сравнение результатов, полученных разными аналитиками, при использовании разного оборудования или при проведении анализа в разное время, также может предоставить ценную информацию. Решающую роль в улучшении воспроизводимости результатов анализа играет строгий контроль условий эксперимента. Очевидно, что при выполнении серии анализов одного и того же образца в одной и той же лаборатории и на одном и том же приборе воспроизводимость будет выше, чем при работе с тем же образцом в разных лабораториях, на разных приборах. Поэтому любые численные характеристики воспроизводимости имеют смысл только тогда, когда указано, к каким условиям анализа они относятся.

Принято различать три основных типа таких условий, отличающихся по степени строгости их контроля [17].

. Работа в максимально строго контролируемых условиях. Это означает выполнение серии анализов в одной и той же лаборатории, на одной и той же аппаратуре, одним и тем же человеком и, что немаловажно, в течение как можно более короткого промежутка времени (максимум в течение одного дня). Воспроизводимость, рассчитанная применительно к таким условиям, носит специальное название сходимость.

. Выполнение серии анализов в одной лаборатории, на одном оборудовании, но, возможно, разными операторами и в разные дни. В этом случае воспроизводимость называется внутрилабораторной (по современной терминологии - промежуточной прецизионностью).

. Выполнение серии анализов в разных лабораториях, на разном оборудовании, разными людьми и в разное время, т.е. варьирование условий выполнения методики в максимально широких пределах. Такая воспроизводимость называется межлабораторной [18].

· **Надежность (robustness или ruggedness).** Надежность - это способность методики давать результаты анализа с приемлемой правильностью и точностью при изменении условий. Она является мерой степени влияния изменений условий работы или окружающей среды на получаемые результаты анализа отдельных, предположительно идентичных образцов из одной и той же однородной серии материала.

· **Линейность и диапазон (linearity и range).** Линейность аналитической методики - это ее способность давать результаты, которые прямо пропорциональны концентрации анализируемого вещества в образцах. Диапазон методики выражается как высшая и низшая концентрации, в пределах которых продемонстрировано, что анализируемое вещество определяется с приемлемой точностью, правильностью и линейностью. Эти характеристики определяются посредством применения данной методики для выполнения анализа серии образцов, имеющих концентрации анализируемого вещества, перекрывающие требуемый диапазон [15].

· **Избирательность (selectivity).** Избирательность или специфичность методики - это ее способность измерять анализируемое вещество так, чтобы быть свободной от влияния других компонентов анализируемого образца. Избирательность (или ее отсутствие) может быть выражена как отклонение результатов, полученных при применении методики для определения анализируемого вещества в присутствии ожидаемого количества других компонентов, по сравнению с результатами, полученными для этого же анализируемого вещества без добавления других веществ. Когда другие компоненты известны и доступны, избирательность может быть определена путем сравнения результатов испытания определяемого вещества в образце с добавлением и без добавления потенциально мешающих веществ.

· **Чувствительность (sensitivity).** Чувствительность - это способность методики испытания регистрировать небольшие изменения концентрации. Чувствительность есть наклон калибровочной кривой.

· **Предел обнаружения (limit of detection).** Предел обнаружения - это наименьшее содержание, при котором анализируемое вещество может быть обнаружено, но не обязательно определено количественно при использовании данной методики при требуемых экспериментальных условиях.

· **Предел количественного определения (limit of quantitation).** Предел количественного определения - это наименьшая концентрация анализируемого вещества в образце, которая может быть определена с подходящей правильностью и точностью при применении требуемой методики. Он измеряется путем анализа образцов, содержащих уменьшающиеся количества анализируемого вещества и определением наименьшего уровня содержания, при котором может быть достигнута приемлемая степень правильности и точности. Во многих случаях предел количественного определения приблизительно в два раза выше предела обнаружения [9].

**Ревалидацию (повторную валидацию)** методик проводят при:

изменении технологии получения объекта анализа;

изменении состава лекарственного средства (объекта анализа);

изменении ранее утвержденной методики анализа.

Материалы валидации отдельных аналитических методик, включаемых в проект нормативного документа, целесообразно представлять в виде объединенного отчета о валидации. Итоговый протокол валидации аналитической методики должен содержать:

ее полное описание, достаточное для воспроизведения и отражающее все условия, необходимые для выполнения анализа;

результаты статистической обработки данных, полученных экспериментально при разработке или проверке валидируемой методики;

иллюстративные материалы, такие как копии хроматограмм, полученных методами ВЭЖХ или ГХ; копии электронных и ИК-спектров; фотографии или рисунки хроматограмм, полученных методами тонкослойной или бумажной хроматографии; рисунки кривых титрования.

**Список использованной литературы**

1. Арзамасцев, А.П. Анализ лекарственных смесей / А. П. Арзамасцев, В. М. Печенников, Г. М. Родионова и др. - М.: Компания Спутник+, 2010 г.

. Арзамасцев А.П. Валидация аналитических методов / А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова, Ю.Я. Харитонов // Фармация. - 2014. - № 4.

. Аксенова Э.Н. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии: Э. Н. Аксенова, О. П. Андрианова, А. П. Арзамасцев и др. - М.: Медицина, 2011 г.

. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч. Ч 2. Специальная фармацевтическая химия: Учеб. для вузов / В.Г. Беликов. - М.: МЕДПРЕСС-информ, 2010. - С. 176 - 178.

. Гаврилов, А.С. Медицинская и биологическая физика: учебник / А. Н. Ремизов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 648 с.

. Гаврилова А.С. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов: учебник / А. С. Гаврилов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 624 с.

. Гармаш А.В. Курс лекций «Математическая статистика в аналитической химии» / А. В. Гармаш // Фармация, 2015. - С.12 - 17.

8. Государственная фармакопея РФ. 12-ое издание. Часть 1, 2. - М.: Научный центр экспертизы средств медицинского назначения, 2008 - 704 с. <http://www.fptl.ru/biblioteka/farmakopei/farmakopeya-RF-XII-1.rar>

. Краснюк, И.И. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм: учебник; под ред. И. И. Краснюка, Г. В.Михайловой. - М.: ГЭОТАР- Медиа, 2011. -656с.

. Краснюк, И.И. Практикум по технологии лекарственных форм: Учебное пособие / под ред. И. И. Краснюка, Г. В.Михайловой. - М.: Издательский центр «Ака- демия», 2012. - 432 с.

. Кулешова М. И. Пособие по качественному анализу лекарств / М.И. Кулешова, Гусева Л. Н., Сивицкая О. К. - М.: Медицина, 2012.

. Лукьянова Е.А. Медицинская статистика: Учебное пособие. - М.: Изд-во РУДН, 2012. - С.148-151.

. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. - М.: Химия, 2012 г.

. Максютина, Н.П. Методы анализа лекарств / Максютина Н. П., Каган Ф. Е., Кириченко Л. А. и др. Киев: Здоровья, 1914 г.

. Орлов А. И. Прикладная статистика. Учебник для вузов / А.И. Орлов. - М.: Экзамен, 2012. - 672 с.

. Погодина Л. И. Анализ многокомпонентных лекарственных форм / Л.И. Погодина. - Минск: Вышейшая школа, 2013 г.

. Синев, Д.Н. Справочное пособие по аптечной технологии лекарств / - СПб., Издание 2-е, Санкт- Петербург, 2011. - 316 с.

. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. Отраслевой стандарт 91500.05.001-00.

. Тюкавкина Н.А., Берлянд А.С., Елизарова Т.Е. и др. Стандартизация и контроль качества лекарственных средств. - М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2014. - 384 с.

. Шаповалова В.А. Фармацевтический анализ лекарственных средств / В. А. Шаповалова. - Харьков: ИМП Рубикон, 2012 г.

**Приложение**

Методики определения глюкозы основаны на ее свойствах как альдегида (реакции окисления) и как многоатомного спирта (реакция образования комплексных солей с тяжелыми металлами). В качестве реактивов-окислителей обычно используют реактив Фелинга или реактив Толленса. Реакцию проводят в слабощелочной среде, глюкоза в этих условиях окисляется до глюконовой ки- слоты, чтобы ускорить процесс - реакционную смесь нагревают. При действии концентрированных серной или хлороводородной кислоты глюкоза преобраз ется в оксиметилфурфурол, который одновременно взаимодействует с каким- 10 либо фенолом или ароматическим амином (резорцином, тимолом, нафтолами, нафтиламином и др.) с образованием окрашенных продуктов конденсации (имеющих синий или красный цвет в зависимости от структуры фенола или амина).

Методики**.** 1. Реакция окисления реактивом Фелинга. К раствору 0,2 г препарата прибавляют 10 мл реактива Фелинга и нагревают до кипения - выпадает кирпично-красный осадок меди (I) оксида.

. К нескольким кристалликам глюкозы прибавляют кристаллик резорци - на и смачивают концентрированной кислотой (серной или хлороводородной), образуется красно-фиолетовое окрашивание.

. Реакция образования комплексных солей. К 5 мл 5 % раствора меди (11) сульфата прибавляют 1-2 мл раствора натрия гидроксида до образования осадка меди гидроксида, затем прибавляют раствор глюкозы до растворения осадка. Получается раствор интенсивно синего цвета.

в) Провести реакции подлинности на хлоралгидрат. Методика**.** К 0,5 мл 10 % раствора препарата прибавляют 1 мл раствора натрия гидроксида и взбалтывают. Выделяется хлороформ, обнаруживаемый по запаху. Затем добавляют несколько кристалликов резорцина и нагревают. Появляется розовое окрашивание.

Раствора глюкозы 20% - 200,0 мл В этом случае натрия бромид определяют методом аргентометрии (титрант - 0,1 н. раствор нитрата серебра, индикатор - бромфенольный синий), магний сульфат - методом комплексонометрии (титрант - 0,05 М раствор трилона Б, индикаторная смесь кислотного хром-черного специального). Глюкозу в присутствии натрия бромида целесообразно определить **рефрактометрическим** методом. Расчет содержания глюкозы в процентах (С глк) выполняют по формуле:

С глк = [n - (n0 + C nabr \* F nabr + C mgso4)] / F глк,

где n - показатель преломления раствора n0 - показатель преломления воды очищенной, измеренный при той же температуре С nabr - концентрация натрия бромида в растворе, определенным методом F nabr - фактор показателя преломления раствора натрия бромида для найденной концентрации C mgso4 - концентрация магния сульфата (mgso4 \* 7H20) в растворе, определенным методом комплексонометрии F mgso4 - фактор показателя преломления раствора для найденной концентрации F глк - фактор показателя преломления раствора глюкозы

**Раствор глюкозы 10 % - 100 мл.**

Подлинность.

,05-1 г смеси растворяют в 1-2 мл воды, прибавляют по 2-3 капли пергидроля и раствора аммиака и кипятят 2-3 минуты. После охлаждения добавляют 1 мл реактива Фелинга и снова нагревают. Реактив Фелинга состоит из 2 растворов. Раствор №1 представляет собой водный раствор меди сульфата, подкисленный серной кислотой. Раствор №2 - это щелочной раствор калия-натрия тартрата. Реактивом служит смесь равных объемов обоих растворов. Образуется кирпично-красный осадок.



Количественное определение.

Проводят методом рефрактометрии.

Показатель преломления глюкозы: 1,3473.

По рефрактометрической таблице находим, что фактор преломления F для растворов глюкозы равен 0,00142, показатель преломления воды равен 1,333.

С = (1,3473 - 1,3330) /0,00142 = 10, 07 %

Относительное отклонение:

- 10/10 \*100% = 0,7 %

Допустимое отклонение + - 2%

Вывод.

В соответствии с приказом № 305 от 16.10.97 отклонение укладывается в норму допустимых отклонений. Лекарственная форма приготовлена удовлетворительно.

**Раствор Магния сульфата 25% - 100 мл.**

Подлинность.

Магний-ион:

К 2-3 каплям раствора прибавляют 1 мл воды, по 0,5 мл раствора аммония хлорида, натрия фосфата и аммиака; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в разведенной уксусной кислоте и нерастворимый в избытке раствора аммиака.



Сульфат-ион:

К 2-3 каплям раствора прибавляют 3-5 капель воды и 2-3 капли раствора бария хлорида; образуется осадок, нерастворимый в разведенных минеральных кислотах.



Количественное определение.

Измеренный показатель преломления составил 1,3551.