

УТВЕРЖДАЮ
Председатель Фармакопейного комитета
Евразийского экономического союза


_____ Е.И. Саканян

19 сентября 2019 г.

РУКОВОДСТВО
по разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи
Евразийского экономического союза

Часть 1. Субстанции для фармацевтического применения
химического происхождения

СОДЕРЖАНИЕ

	СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ	7
1.	ВВЕДЕНИЕ	8
1.1.	ЦЕЛЬ РУКОВОДСТВА	8
1.2.	МЕТОДИКИ ИСПЫТАНИЙ	9
1.3.	ОБОРУДОВАНИЕ	10
1.4.	КОЛИЧЕСТВА	11
1.5.	РЕАКТИВЫ	14
1.6.	ТОРГОВЫЕ НАИМЕНОВАНИЯ	16
1.7.	СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ	16
2.	ЧАСТНЫЕ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ СТАТЬИ НА СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ...	17
2.1.	НАЗВАНИЕ	18
2.2.	ОПРЕДЕЛЕНИЕ	20
2.2.1.	Комбинации	22
2.2.2.	Содержание	22
2.3.	СВОЙСТВА	24
2.3.1.	Описание	24
2.3.2.	Вкус	25
2.3.3.	Запах	25
2.3.4.	Растворимость	26
2.3.5.	Стабильность	26
2.3.6.	Гигроскопичность	27
2.3.7.	Свойства твердого состояния	27
2.3.8.	Другие характеристики	28
2.3.9.	Поведение в растворе	29
2.4.	ИДЕНТИФИКАЦИЯ	29
2.4.1.	Общие положения	29
2.4.2.	Вторая идентификация	31
2.4.3.	Абсорбционная спектрофотометрия в инфракрасной области	32

2.4.4.	Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях	34
2.4.5.	Температура плавления, температура замерзания и температура кипения	36
2.4.6.	Удельное оптическое вращение	37
2.4.7.	Тонкослойная хроматография	37
2.4.8.	Газовая хроматография и жидкостная хроматография	38
2.4.9.	Химические реакции	38
2.5.	ИСПЫТАНИЯ	39
2.5.1.	Общие положения	39
2.5.2.	Название испытаний и (или) показателей качества	41
2.5.3.	Раствор S	42
2.5.4.	Прозрачность и цветность раствора	44
2.5.4.1.	Прозрачность и интенсивность опалесценции жидкостей	45
2.5.4.2.	Окраска и интенсивность окраски жидкостей	45
2.5.5.	pH, кислотность или щелочность	46
2.5.6.	Оптическое вращение	49
2.5.7.	Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях	50
2.5.8.	Родственные примеси	51
2.5.8.1.	Тонкослойная хроматография	59
2.5.8.2.	Жидкостная хроматография	60
2.5.8.2.a.	Критерии пригодности системы	63
2.5.8.2.б.	Количественная оценка	68
2.5.8.3.	Газовая хроматография	69
2.5.8.4.	Капиллярный электрофорез	70
2.5.9.	Легко обугливающиеся (окисляемые) вещества	72
2.5.10.	Посторонние анионы и (или) катионы	73
2.5.11.	Тяжелые металлы – примеси элементов	74
2.5.12.	Потеря в массе при высушивании	74
2.5.13.	Термогравиметрия	75
2.5.14.	Определение воды полумикрометодом (потенциометрический метод К. Фишера)	76
2.5.15.	Определение воды микрометодом (кулонометрический метод К. Фишера)	76

2.5.16.	Газохроматографический метод определения воды	77
2.5.17.	Определение воды методом дистилляции	78
2.5.18.	Сульфатная зола	78
2.5.19.	Остаток при испарении	78
2.5.20.	Остаточные растворители	78
2.5.21.	Бактериальные эндотоксины	79
2.6.	КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ	80
2.6.1.	Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях	81
2.6.1.1.	Прямое измерение	82
2.6.1.2.	Измерение после реакции окрашивания	82
2.6.2.	Объемный анализ	82
2.6.3.	Хроматография	84
2.6.4.	Определение азота после минерализации серной кислотой	84
2.7.	ХРАНЕНИЕ	85
2.8.	МАРКИРОВКА	86
2.9.	ПРИМЕСИ	86
2.10.	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	87
3.	ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК	87
3.1.	ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ	87
3.1.1.	Типы аналитических методик, подлежащих валидации.....	88
3.1.2.	Валидационные характеристики и требования	89
3.1.3.	Термины и определения	91
3.2.	МЕТОДОЛОГИЯ	93
3.2.1.	Специфичность	94
3.2.1.1.	Идентификация	95
3.2.1.2.	Количественное определение и испытания на примеси	95
3.2.2.	Линейность	97
3.2.3.	Диапазон применения (аналитическая область)	98
3.2.4.	Правильность	99
3.2.4.1.	Количественное определение	99
3.2.4.2.	Примеси (количественная оценка)	100

3.2.4.3.	Рекомендации	100
3.2.5.	Прецизионность	101
3.2.5.1.	Повторяемость	101
3.2.5.2.	Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность	101
3.2.5.3.	Воспроизводимость	101
3.2.5.4.	Рекомендации	102
3.2.6.	Предел обнаружения	102
3.2.6.1.	Подход на основе визуальной оценки	102
3.2.6.2.	Подход на основе отношения «сигнал/шум»	102
3.2.6.3.	Подход на основе стандартного отклонения аналитического сигнала и наклона калибровочной кривой	103
3.2.6.4.	Рекомендации	103
3.2.7.	Предел количественной оценки	104
3.2.7.1.	Подход на основе визуальной оценки	104
3.2.7.2.	Подход на основе отношения «сигнал/шум»	104
3.2.7.3.	Подход на основе стандартного отклонения аналитического сигнала и наклона калибровочной кривой	104
3.2.7.4.	Рекомендации	105
3.2.8.	Устойчивость (робастность)	105
3.2.9.	Оценка пригодности системы	106
3.3.	ОСОБЕННОСТИ ВАЛИДАЦИИ ИСПЫТАНИЙ И МЕТОДИК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ФАРМАКОПЕЕ СОЮЗА ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ ХИМИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	107
3.3.1.	Оптическое вращение	107
3.3.1.1.	Идентификация	107
3.3.1.2.	Испытания	108
3.3.2.	Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой области	109
3.3.2.1.	Идентификация	109
3.3.2.2.	Испытания на предельное содержание примесей	109
3.3.2.3.	Количественное определение	109

3.3.3.	Неинструментальные испытания на предельное содержание примесей	110
3.3.3.1.	Цветность раствора	110
3.3.3.2.	Кислотность или щелочность	110
3.3.3.3.	Испытания на предельное содержание анионов и катионов	110
3.3.4.	Атомно-абсорбционная спектрометрия	112
3.3.4.1.	Специфичность	112
3.3.4.2.	Калибровка	112
3.3.4.3.	Влияние матрицы испытуемого образца	114
3.3.4.4.	Предел количественного определения (на основе стандартного отклонения для контрольного раствора)	114
3.3.5.	Методы разделения	115
3.3.5.1.	Тонкослойная хроматография	115
3.3.5.2.	Жидкостная хроматография	117
3.3.5.2.а.	Идентификация	117
3.3.5.2.б.	Испытание на предельное содержание	117
3.3.5.2.в.	Количественное определение	119
3.3.5.3.	Газовая хроматография	120
3.3.5.3.а.	Идентификация	120
3.3.5.3.б.	Испытание на предельное содержание примесей	120
3.3.5.3.в.	Испытание пригодности системы	121
3.3.5.3.г.	Количественное определение	122
3.3.5.3.д.	Идентификация и контроль остаточных растворителей	122
3.3.6.	Определение воды полумикрометодом	122
3.3.7.	Объемные методы титрования	123
3.3.8.	Идентификация пептидов методом спектрометрии ядерного магнитного резонанса	127

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

ГХ	GC	Газовая хроматография
ЕФ	Ph. Eur.	Европейская фармакопея
ЖХ	LC	Жидкостная хроматография
ИК	IR	Инфракрасная(ый) (область, спектроскопия, спектр)
ИЮПАК	IUPAC	Международный союз по теоретической и прикладной химии
КЭ	CE	Капиллярный электрофорез
ПГП	PGI	Потенциальные генотоксические примеси
ПК	CF	Поправочный коэффициент
ТГА	TGA	Термогравиметрический анализ
ТСХ	TLC	Тонкослойная хроматография
УФ	UV	Ультрафиолетовая(ый) (область, спектр)
Фармакопея Союза	EAEU Pharmasorieia	Фармакопея Евразийского экономического союза
ФХ	FRC	Функциональные характеристики (вспомогательных веществ)
ФК Союза	EAEU PC	Фармакопейный комитет Евразийского экономического союза
ЯМР	NMR	Ядерный магнитный резонанс
	CAS	Химическая реферативная служба
	ppm	Миллионная доля или часть на миллион (миллиграмм на килограмм)

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1. ЦЕЛЬ РУКОВОДСТВА

Настоящее руководство предназначено для разработки частных фармакопейных статей Фармакопеи Союза.

Документ необходим также для пользователей Фармакопеи Союза, главным образом, из сферы промышленности, регуляторных и экспертных органов, лабораторий по контролю качества лекарственных средств для понимания принципов и подходов ее разработки. Поскольку правила и рекомендации, приведенные для разработки частных фармакопейных статей, аналогичны применяемым при регистрации лекарственных средств, данное руководство может быть использовано при составлении спецификаций качества, предназначенных для включения в регистрационные досье, и нормативных документов по качеству лекарственных средств.

В настоящем руководстве представлены требования и рекомендации для разработки частных фармакопейных статей Фармакопеи Союза на субстанции для фармацевтического применения, имеющие химическое происхождение (часть I), а также на растительные лекарственные средства, гомеопатические лекарственные средства, биологические лекарственные средства, радиофармацевтические лекарственные средства и др.

Настоящее руководство (часть I) разработано с учетом документа Европейского директората по качеству лекарственных средств и здравоохранению «Technical Guide for the Elaboration of Monographs» (7 издание, 2015 год) и документа ВОЗ «Good Pharmacopoeial Practices» (WHO Technical Report Series, No. 996, 2016, Annex 1).

Принципы разработки фармакопейных статей Фармакопеи Союза позволяют достичь понимания сущности фармакопейных требований. Требования Фармакопеи Союза устанавливают предельный допустимый уровень качества лекарственных средств на фармацевтическом рынке Союза и должны применяться в качестве критериев допуска по качеству лекарственных средств при их регистрации в рамках Союза.

Тексты Фармакопеи Союза различаются по характеру требований и могут иметь обязательный, рекомендательный или информационный

характер. Характер требований указывается либо во вводной части фармакопейной статьи, либо непосредственно в ее тексте.

Требования частных фармакопейных статей должны рассматриваться во взаимосвязи с соответствующими общими фармакопейными статьями с учетом общих сведений и приложений.

1.2. МЕТОДИКИ ИСПЫТАНИЙ

При выборе методик идентификации, испытаний на чистоту и количественное определение, составляющих основную часть частной фармакопейной статьи, предпочтительно использовать методы, которые уже описаны и используются в Фармакопее Союза. В связи с этим при разработке частной фармакопейной статьи следует приводить ссылки не только на общие фармакопейные статьи, посвященные методам испытаний, но и на существующие частные фармакопейные статьи Фармакопеи Союза, содержащие аналогичную информацию. Данное условие направлено на обеспечение необходимой степени гармонизации в рамках Фармакопеи Союза и должно применяться только в тех случаях, когда методики признаны пригодными для конкретных целей. Необходимо также уделить внимание разработке новых методик, которые обеспечивают значительное повышение чувствительности, прецизионности, правильности или избирательной способности (селективности) определения.

Методики, предназначенные для включения в частные фармакопейные статьи, должны быть валидированы в соответствии с указаниями раздела 3. *Валидация аналитических методик* и других разделов настоящего руководства. Отчеты о валидации методик предоставляются в ФК Союза, но не публикуются и не предоставляются другим пользователям.

Методики испытаний, предназначенные для включения в частные фармакопейные статьи, должны быть верифицированы не менее чем в 2 лабораториях, а отчеты о верификации должны быть предоставлены в ФК Союза для обеспечения последующей прослеживаемости.

Методики анализа должны предусматривать все факторы, способные влиять на результаты и считающиеся необходимыми для того, чтобы опытный аналитик, работающий в соответствии с требованиями Надлежащей лабораторной практики, но не обязательно

обладающий знаниями о проводимом исследовании, смог выполнить анализ. При описании аналогичных методик следует избегать вариабельности изложения текста.

Если предполагается, что аналитическая методика является общей для многих случаев, или требует подробного описания, или используется неоднократно, целесообразно ее включение в общие фармакопейные статьи Фармакопеи Союза, на которые затем могут приводиться ссылки в частных фармакопейных статьях. Методики Фармакопеи Союза предусматривают выполнение анализа с обычными количествами материалов, за исключением случаев, когда оправдано их уменьшение вследствие труднодоступности, или токсичности, или высокой стоимости анализируемого материала.

В ряде случаев для определения одного и того же показателя качества в одну частную фармакопейную статью может включаться несколько различных методик. Приведенные методики являются дополнительными, но не заменяют друг друга и не обеспечивают получение эквивалентных результатов по одному и тому же показателю качества. Они могут иметь различные критерии приемлемости, для которых должно быть подтверждено отсутствие влияния на качество лекарственного средства.

Методики, учитывающие указанные выше различия, имеют другие возможности и объективнее отражают качество лекарственных средств на фармацевтическом рынке, чем общие (единые) методики.

Применение таких методик обосновано разными причинами, к которым относятся различный профиль примесей в активных фармацевтических субстанциях ввиду различных путей их синтеза, различное содержание кристаллизационной воды (или растворителей) в субстанциях для фармацевтического применения, различные полиморфные модификации действующего вещества, различный состав воспроизведенных лекарственных препаратов и другие.

Указанные методики могут иметь особое значение для биологических лекарственных средств.

1.3. ОБОРУДОВАНИЕ

Если оборудование, необходимое для выполнения анализа, отсутствует в испытательных лабораториях государств-членов Союза,

должна быть возможность его приобретения в том виде, который соответствует принципам его конструирования согласно описанию, приведенному в Фармакопее Союза.

1.4. КОЛИЧЕСТВА

При указании количеств, т. е. массы и объемов фармацевтических субстанций, реактивов и растворителей, используемых для идентификации, испытаний и количественного определения, в Фармакопее Союза указывают точность, с которыми они должны быть измерены (общий раздел Фармакопеи Союза *Общие сведения*).

Масса. Выражение «взвешивание по разности» (например, до и после высушивания или прокаливания при определении потери в массе при высушивании; золы общей; золы, нерастворимой в хлороводородной кислоте, и др.) проводят при одинаковых условиях (температура, давление, влажность), используя одни и те же средства измерения и лабораторную посуду. Интервал времени между двумя взвешиваниями определяется свойствами и количеством высушиваемого или прокаливаемого остатка.

После прокаливания или тигель или бюкс следует охлаждать в эксикаторе до температуры окружающей среды. Промежутки времени с момента извлечения тигля или стаканчика для взвешивания из эксикатора до момента взвешивания должны быть одинаковыми.

Массу считают постоянной, если разность результатов двух последующих взвешиваний не превышает 0,0005 г.

Для высушивания испытуемых образцов в вакууме используют вакуумный сушильный шкаф, вакуумный пистолет или другие аналогичные приборы. Термин «вакуум» означает, что давление составляет от 1,5 кПа до 2,5 кПа, а термин «высокий вакуум» – что давление не превышает 0,1 кПа при отсутствии других указаний.

Точность измерения. В методиках количественного определения или в испытаниях на предельное содержание вещества количество образца, необходимое для проведения испытания, указывают приблизительно, то есть учитывая, что оно может отклоняться в пределах $\pm 10\%$ от указанного в частной фармакопейной статье количества. Испытуемый образец точно взвешивают или отмеривают, и все вычисления производят с использованием полученного точного

количества. Если пределы испытания не заданы численно, а определяются путем сравнения со стандартным образцом при тех же условиях, в испытаниях используют строго указанное в частной фармакопейной статье количество испытуемого образца. Реактивы всегда применяют в указанных количествах.

Точность измерений следует обозначать числом десятичных знаков после запятой данного числового значения. Точность взвешивания должна быть ± 5 единиц после последней указанной цифры; например, навеску 0,25 г следует понимать как лежащую в интервале от 0,245 до 0,255 г. Объемы отмеривают следующим образом. Если после запятой стоит «0» или число, заканчивающееся нулем (например, 10,0 мл или 0,50 мл), требуемый объем отмеряют с помощью пипетки, мерной колбы или бюретки. В остальных случаях можно использовать градуированный мерный цилиндр или градуированную пипетку. Требуемый объем в микролитрах отмеряют с помощью микропипетки или микрошприца.

Точная навеска. Выражение «точная навеска» означает взвешивание на аналитических весах с погрешностью $\pm 0,0002$ г. При определении массы в граммах следует пользоваться весами с метрологическими или техническими характеристиками, обеспечивающими требуемую точность взвешивания.

Время. Выражение «сразу» означает отрезок времени не более 30 с.

Приготовление растворов. Для минимизации ошибок при приготовлении аналитических растворов с использованием мерной посуды класса точности А рекомендуется учитывать расчеты относительной неопределенности, приведенные в таблице 1.

Во избежание использования крайне малых количеств, либо излишне больших расходов растворителей для приготовления разбавленных растворов, особенно для спектрофотометрических измерений, необходимо указывать серии разведений. При этом не все (обычно 2 или 3) шага разведения будут в равной степени способствовать случайной ошибке разведения. В случае, когда это важно, оптимальное разведение указывают с учетом относительной погрешности (допустимое отклонение, деленное на номинальный объем), связанной с различными размерами градуированных пипеток и мерных колб, используемых для анализов. Для оценки относительной

погрешности разведения применяют общепринятую формулу (корень квадратный из суммы квадратов отдельных относительных погрешностей).

Таблица 1. Относительная неопределенность при приготовлении аналитических растворов с использованием мерной посуды класса точности А*

Концентрация раствора	Приготовление раствора	Относительная неопределенность (%)		
		Масса	Объем	Всего
10 г/1000 мл	10 г /1000 мл	< 0,01	0,05	0,05
	1 г /100 мл	0,02	0,12	0,12
	0,5 г /50 мл	0,04	0,17	0,17
	0,25 г/25 мл	0,08	0,23	0,24
	0,1 г/10 мл	0,02	0,50	0,54
1 г/1000 мл	1 г /1000 мл	0,02	0,05	0,05
	0,5 г/500 мл	0,04	0,07	0,08
	0,25 г/25 мл	0,08	0,23	0,24
	100 мг/100 мл	0,2	0,12	0,23
	50 мг /50 мл	0,4	0,17	0,43
	10 мг/10 мл	2,0	0,50	2,06
0,1 г/1000 мл	100 мг /1000 мл	0,2	0,05	0,21
	50 мг /500 мл	0,4	0,07	0,41
	25 мг /250 мл	0,8	0,08	0,80
	10 мг/100 мл	2,0	0,12	2,0
	5 мг /50 мл	4,0	0,17	4,0
	1 мг /10 мл	20,0	0,50	20,0
0,01 г/1000 мл	10 мг /1000 мл	2,0	0,05	2,0
	5 мг /500 мл	4,0	0,07	4,0
	1 мг /100 мл	20,0	0,12	20,0

* Расчет относительной неопределенности в процентах выполнен в предположении неопределенности при взвешивании 0,2 мг.

Необходимое число и характер шагов разведения, которые требуются для достижения заданного коэффициента разведения, основанного на спецификациях для допускаемой мерной стеклянной посудой погрешности, приведены в виде таблицы в литературе. При выполнении разведения следует использовать таблицу 2. Указанные данные не включают погрешности, возникающей при визуальной отметке измеряемых значений.

Таблица 2. Относительная погрешность разведения при использовании аналитической стеклянной посуды с использованием мерной посуды класса точности А (пипетки – Р, колбы – F)

Соотношение концентрации	Число шагов разведения	Шаг 1		Шаг 2		Относительная погрешность
		Р	F	Р	F	
1/2	1	25	50			0,16
1/2,5	1	20	50			0,18
1/5	1	20	100			0,17
1/10	1	25	250			0,13
1/12,5	1	20	250			0,16
1/30	1	15	500			0,20
1/50	1	20	1000			0,15
1/100	1	25	250	25	250	0,18
1/125	2	20	250	25	250	0,20
1/160	2	25	1000	25	100	0,19
1/200	2	25	500	25	100	0,18
1/250	2	20	250	25	500	0,20
1/400	2	25	250	25	1000	0,18
1/500	2	20	500	25	500	0,20
1/1000	2	20	1000	25	500	0,20

1.5. РЕАКТИВЫ

Когда качество реактива в одном или нескольких аспектах является критичным для его предполагаемого применения, оно должно быть тщательно охарактеризовано, при необходимости должны быть указаны подходящие испытания для определения его пригодности. Обычно используют реактивы аналитической степени чистоты, где достаточно указать название реактива, регистрационный номер CAS и его формулу.

Название реактива или раствора реактива, выделенное курсивом и отмеченное буквой «Р» означает, что реактив включен в общий раздел Фармакопеи Союза *Реактивы* и обладает фармакопейным статусом. Первичные стандартные образцы для установки титра титрованных растворов обозначают буквами «РО». В описании реактивов также курсивом выделяются названия характеристик, свойств, допустимых примесей реактивов, названия общих и частных фармакопейных статей и их номера. Спецификации, приведенные для реактивов, необязательно гарантируют их качество для испытаний лекарственных средств.

В описании красителей (индикаторов) после показателя *Цветной индекс* перед номером в скобках приводится сокращенное обозначение «C.I.» справочника Color Index.

Если в фармакопейной статье не указано название растворителя, подразумевают водный раствор. Водные растворы реактивов готовят с использованием *воды Р*. Если раствор реактива готовят разведением *водой Р* более концентрированного раствора реактива, приведенного в общем разделе Фармакопеи Союза *Реактивы*, то приготовленный из него раствор не выделяют курсивом и буквой «Р». Растворы реактивов, используемые для испытаний на предельное содержание бария, кальция и сульфатов, готовят с использованием *воды дистиллированной Р*.

Для испытаний на предельное содержание примесей, по возможности, должны использоваться реактивы, растворы реактивов, титрованные растворы и стандартные растворы, описанные в общем разделе Фармакопеи Союза *Реактивы*. Простые растворы реактивов или растворы, которые готовят для одноразового использования, должны быть описаны в частной фармакопейной статье.

В стандартных растворах для испытаний на предельное содержание примесей в скобках указывается количественное содержание ионов (элементов). Для ионов указывают числовое значение заряда, а затем знак заряда («+» или «-»), например, палладия иона стандартный раствор (500 ppm Pd²⁺) в случае раствора палладия хлорида. Для элементов, входящих в состав сложных ионов (комплексных соединений), указывают их степень окисления, то есть знак условного заряда («+» или «-»), а затем числовое значение. Например, палладия стандартный раствор (20 ppm Pd⁺²) в случае раствора комплексного соединения H₂[PdCl₄].

Реактивы всегда используют в строго указанных количествах.

Некоторые из реактивов могут быть токсичными, что требует при работе с ними соблюдения соответствующих мер предосторожности. Не следует использовать реактивы, которые считаются чрезвычайно токсичными или опасными (например, канцерогенные), особенно в тех случаях, когда их опасные свойства трудно контролировать, например, при использовании в виде тонкоизмельченных порошков или аэрозолей. Не следует также использовать реактивы, запрещенные или имеющие ограниченное применение в одном или нескольких государствах-членах Союза (например, ртутьсодержащие реактивы).

Реактивы и растворы реактивов хранят в плотно закрытых контейнерах. Маркировка должна соответствовать требованиям национального законодательства и международным соглашениям.

1.6. ТОРГОВЫЕ НАИМЕНОВАНИЯ

Торговые наименования систематически приводятся на хроматографические колонки (пластинки) в виде сносок к проектам частных фармакопейных статей, также в качестве информации для аналитиков и в других случаях (например, наборы для испытаний, реактивы, которые доступны у одного поставщика и т.д.). Торговые наименования не указываются в текстах, опубликованных в Фармакопее Союза, но предоставляются в ФК Союза.

1.7. СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Принципы и процедуры по аттестации и применению стандартных образцов описаны в общей фармакопейной статье *Стандартные образцы* и приведены для информации.

Многие стандартные образцы, в частности стандартные образцы примесей, доступны лишь в ограниченных количествах, в связи с чем количество таких образцов, указанное для приготовления растворов, должно быть минимальным. Использование примесей, имеющих в ограниченном количестве, в качестве стандартных образцов требует разработки определенной стратегии по его оптимизации для каждой частной фармакопейной статьи. Предпочтительным подходом следует считать использование стандартных образцов, полученных путем добавления примесей в образцы субстанции или содержащих смесь различных примесей, чем стандартных образцов, представляющих собой индивидуальную примесь. Предоставление рекомендаций для разработчиков частных фармакопейных статей по наилучшей стратегии использования стандартных образцов в каждом отдельном случае, а также их одобрение должно проводиться ФК Союза одновременно с утверждением частной фармакопейной статьи или, в крайнем случае, не позднее ее публикации.

Для идентификации методом абсорбционной спектрометрии в ИК-области предпочтение следует отдать стандартным образцам

химических веществ, чем стандартным спектрам, за исключением особых случаев, когда, например, предоставление стандартного образца вещества сложно осуществить практически ввиду его химической неустойчивости, высокой стоимости или др.

2. ЧАСТНЫЕ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ СТАТЬИ НА СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Частные фармакопейные статьи основаны на спецификациях субстанций для фармацевтического применения, используемых для производства лекарственных препаратов, зарегистрированных в рамках Союза. Поэтому при подготовке частной фармакопейной статьи на субстанцию разработчиками должны быть учтены все необходимые материалы производителей по данной субстанции, которые затем прилагаются для утверждения проекта частной фармакопейной статьи ФК Союза.

Материалы по рассматриваемой субстанции, собранные перед подготовкой проекта частной фармакопейной статьи, должны включать следующие вопросы:

- является ли субстанция природного, синтетического или полусинтетического происхождения;
- является ли субстанция смесью веществ или индивидуальным веществом;
- детальное описание метода (методов) получения;
- существуют ли разные кристаллические формы, так как свойства субстанции могут изменяться в соответствии с этим фактором;
- существует ли субстанция в виде энантиомера, рацемата или смесей энантиомеров;
- существуют ли субстанция в виде различных гидратов вещества;
- существуют ли субстанция в виде различных соединений (кислота, основание, соль и т. д.).

Фармакопейные тексты и методические материалы Фармакопеи Союза должны быть проверены, чтобы выявить наличие существующих

или требующих разработки частных фармакопейных статей на сходные по структуре субстанции для фармацевтического применения. В этом случае важно, чтобы аналогичные частные фармакопейные статьи придерживались одного и того же подхода при разработке аналитических методик, если веские основания для отклонения от него отсутствуют.

Как правило, субстанции для фармацевтического применения рассматриваются как субстанции, содержащие индивидуальное вещество, и требуют разработки отдельных частных фармакопейных статей, если используются в безводной форме и в виде гидрата (гидратов) с различным содержанием воды. Это же правило применяется и в отношении других сольватов.

Субстанции для фармацевтического применения, описываемые в частной фармакопейной статье, могут быть членами группы (семейства) близких по структуре субстанций. Это особенно справедливо в отношении вспомогательных веществ, таких как макроголы. Частная фармакопейная статья на семейство субстанций должна быть разработана с четким указанием свойств, общих для всех субстанций семейства, и в то же время может использоваться для идентификации отдельных его членов.

Субстанции для фармацевтического применения, описанные в Фармакопее Союза, подпадают под действие положений общей фармакопейной статьи *Субстанции для фармацевтического применения*, за исключением лекарственного растительного сырья, в том числе для гомеопатических препаратов, растительных фармацевтических субстанций, лекарственных растительных экстрактов, матричных настоек для гомеопатических препаратов, химических прекурсоров для радиофармацевтических лекарственных препаратов, а также фармацевтических субстанций биологического происхождения.

2.1. НАЗВАНИЕ

В качестве названия частной фармакопейной статьи на субстанцию для фармацевтического применения используют международное непатентованное наименование (МНН), а при его отсутствии – общепринятое (группировочное) наименование.

Если субстанция представляет собой соль органического основания и органической кислоты (например, Кеторолака трометамол, Амлодипина безилат, Доксазозина мезилат), неорганического основания и органической кислоты (например, Диклофенак натрия), органического основания и неорганической кислоты (например, Кетамина гидрохлорид), название частной фармакопейной статьи должно включать и катион, и анион. Число анионов и катионов выражают греческими числительными моно-, ди-, три- и т. д.

Если субстанция представляет собой сольват (в частности, гидрат), следует указать это в названии частной фармакопейной статьи. Степень гидратации выражают греческими числительными моно-, ди-, три- и т. д.

При указании степени гидратации применяют следующие правила:

- если частная фармакопейная статья распространяется на субстанцию, используемую в виде гидрата с точно известным составом, в названии статьи указывают точное название гидрата, например, дигидрат, гексагидрат;
- если частная фармакопейная статья распространяется на субстанцию, используемую в виде гидрата с переменным составом, в названии статьи указывают общий термин «гидрат». Необходимая информация о степени гидратации субстанции может быть добавлена в раздел *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* соответствующей частной фармакопейной статьи (раздел 2.2 настоящего руководства);
- если частная фармакопейная статья распространяется на безводную субстанцию, в названии статьи данную информацию не указывают, за исключением случаев, когда она имеет общепринятое наименование и (или) применяется в научной литературе, например, этанол безводный;
- если частная фармакопейная статья распространяется на субстанцию, которая может быть либо безводной, либо содержать воду и иметь определенную или переменную степень гидратации, в названии статьи данную информацию не указывают. Необходимая информация может быть добавлена в раздел *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* соответствующей частной фармакопейной статьи (раздел 2.2 настоящего руководства).

Если субстанция используется в производстве лекарственных препаратов для специального применения, в название частной фармакопейной статьи включают соответствующее указание, например, «для ветеринарного применения», «для гомеопатического применения».

2.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Во вводной части частной фармакопейной статьи на субстанцию для фармацевтического применения приводят химическую структуру действующего вещества.

Химическая структура действующего вещества должна быть определена с максимально возможной тщательностью для точного установления:

- структурной формулы;
- эмпирической формулы и относительной молекулярной массы. Расчет относительной молекулярной массы проводится следующим образом: в первую очередь, складывают относительные атомные массы, используя все цифры Международной таблицы относительных атомных масс; затем полученную сумму округляют до 4 значащих цифр, если начальная цифра равна 1, 2, 3, 4 или 5 и до 3 значащих цифр, если начальная цифра равна 6, 7, 8 или 9; последнюю цифру увеличивают на 1, если отбрасываемая часть превышает половину единицы. Если отбрасываемая часть равна или меньше половины единицы, последняя принятая цифра не изменяется;
- химическое название по номенклатуре ИЮПАК, которое может указывать, в частности:
 - а) на возможное существование изомеров для определения в процессе экспертной оценки того, какой изомер используется или что заявленный лекарственный препарат представляет собой смесь изомеров;
 - б) на недостаточность учета только направления оптического вращения для оптического изомера. Абсолютная конфигурация задается с помощью R/S-системы при асимметрическом центре или любой другой

соответствующей системы (например, для углеводов и аминокислот);

в) на состояние гидратации для четкого различия субстанции с одной степенью гидратации (моно-, ди-, три- и т. д. гидраты) и субстанциями, содержащими переменное количество воды. При переменной степени гидратации в химическое название вводится термин «х-гидрат».

Если субстанция содержит переменное количество воды или относится как к безводной, так и гидратной форме, в раздел *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи добавляется указание для точного обоснования области применения частной фармакопейной статьи.

Некоторые химические субстанции, в частности, полученные из сырья природного происхождения, и субстанции, образующиеся при ферментации, не могут быть легко отделены от определенных родственных примесей (например, хининовых солей). Такие субстанции можно рассматривать как:

- химическую субстанцию высокой чистоты, которая может быть количественно проанализирована физико-химическим методом;
- субстанцию, содержащую определенную долю родственных примесей, что требует точного определения только основного компонента (например, неомицин);
- смесь нескольких компонентов, иногда сложных для определения, что позволяет ограничиться лишь общим описанием (например, нистатин).

В случае применимости, необходимо указать происхождение субстанции (название и штамм микроорганизма, из которого получена субстанция). В частной фармакопейной статье указывают, если применимо, что субстанция является полусинтетической и получена из продукта ферментации (для уточнения применения общей фармакопейной статьи *Субстанции для фармацевтического применения*).

2.2.1. Комбинации

Иногда в терапевтических целях используются более или менее хорошо известные комбинации химических веществ (например, теofilлин – этилендиамин) или даже смеси. В таких случаях необходимо точно указать каждый компонент комбинации или смеси с ее химической структурой и соотношением присутствующих в ней компонентов.

2.2.2. Содержание

Субстанция для фармацевтического применения, описанная в частной фармакопейной статье, не является абсолютно чистым веществом и содержит ограниченное количество примесей. Поэтому содержание действующего вещества в субстанции является важной частью раздела *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи. В данном разделе указывают пределы количественного определения, между которыми должно находиться содержание действующего вещества в субстанции.

При установлении пределов содержания действующего вещества в субстанции учитывают:

- способ получения, определяющий необходимую степень чистоты субстанции;
- воспроизводимость и правильность аналитической методики;
- результаты анализа примерно 10 производственных серий субстанции при выпуске;
- оценку результатов исследования стабильности серий;
- достаточное количество экспериментальных результатов, полученных на нескольких сериях (не менее 3), по возможности, различного происхождения и срока выпуска.

Для неспецифического количественного определения методом титриметрии пределы устанавливают в соответствии с таблицей, представленной в разделе 3.3.7 настоящего руководства и, как правило, составляют от 99,0 % до 101,0 %. Некоторые частные фармакопейные статьи могут включать количественное определение методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях, для которого характерны более широкие пределы.

Для специфического количественного определения с использованием методов разделения (например, ЖХ или ГХ) верхний предел количественного определения обычно составляет 102,0 %; для установления нижнего предела количественного определения приемлемы любые результаты расчета содержания присутствующих примесей на основе имеющихся данных по испытанию серий и утвержденных спецификаций. В связи с этим указанный предел может быть ниже 98,0 %.

Если рассматриваемая субстанция содержит лишь те примеси, которые не влияют на количественное определение, или содержит крайне незначительное количество примесей, препятствующих анализу, результаты количественного определения могут использоваться непосредственно. В этом случае будет указано, что «субстанция содержит не менее x % и не более y % (по крайней мере, 100,5 %, но часто немного больше) действующего вещества». Содержание действующего вещества обычно выражают в пересчете на сухую субстанцию и (или) субстанцию, не содержащую растворителей. Согласно общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения* содержание остаточного растворителя должно учитываться при количественном определении действующего вещества в субстанции, поэтому ссылка на данную общую фармакопейную статью не приводится в разделе *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи.

При значительных количествах воды в гидрате (например, динатрийфосфата додекагидрат, магния хлорида гексагидрат) пределы содержания могут быть выражены в пересчете на гидратную форму вещества с учетом ее молекулярной массы (только для гидратов с точно известным составом) или в пересчете на безводную (сухую) субстанцию в сочетании с определением содержания воды (потери в массе) при высушивании.

Если рассматриваемая субстанция содержит относительно значительную долю (несколько процентов) примесей, которые определяются одновременно с действующим веществом, используют соответствующую формулировку, например, в случае хининовых солей: « x % от общего количества алкалоидных солей, выраженных в виде хининовых солей».

В исключительных случаях пересчет проводят только на часть молекулы или на элемент, например, при количественном определении магния оксида в легком магния карбонате или количественном определении магния в магния стеарате.

В случае антибиотиков, количественное определение которых проводится микробиологическими методами, содержание действующего вещества выражают в Международных единицах (при наличии) в виде минимального значения (раздел 2.6 настоящего руководства).

2.3. СВОЙСТВА

В соответствии с указаниями общего раздела Фармакопеи Союза *Общие сведения* положения раздела *СВОЙСТВА* частной фармакопейной статьи, не должны рассматриваться в качестве аналитических требований и, как правило, носят информационный характер, хотя они и могут опосредованно способствовать предварительной оценке качества лекарственного средства.

В данный раздел могут входить следующие основные подразделы.

2.3.1. Описание

Как правило, описание субстанции включает ее цвет и физическое состояние. Термин «белый» не используют без соответствующего уточнения, поскольку при сравнении со стандартным образцом белого цвета лишь незначительное число материалов, используемых в фармацевтических целях, окажется действительно белым. Обычно такое сравнение не проводят, но опыт показывает, что некоторые пользователи Фармакопеи Союза могут настоятельно утверждать это в рамках коммерческих договоров по поставкам субстанций. Поэтому вместо термина «белый» может использоваться термин «белый или почти белый». При необходимости описания цвета образцов субстанции приводят основные цвета или их комбинации.

Основные цвета выражают терминами: черный, оранжевый, синий, розовый, коричневый, красный, фиолетовый, зеленый, белый (почти белый), серый, желтый и т.п.

Допускается использование сложносоставных цветов: зеленовато-голубой, голубовато-зеленый, фиолетово-красный, красновато-фиолетовый, коричневатокрасный, красноватокоричневый и другие. При этом на первом месте указывают тот цвет, который содержится в меньшей доле, а затем через дефис – преобладающий цвет.

Слабоокрашенные образцы имеют оттенок цвета, название которого характеризуют суффиксом «-оват» (например, желтоватый) или добавляют приставку «светло-» (например, «светло-желтый»).

Не допускается использование таких выражений, как лимонно-желтый, желтовато-бежевый, лососево-розовый. Спектральные цвета с подходящими названиями приводятся в общеизвестных словарях.

Основные цвета и их сочетания, допускаемые для образцов субстанций, также могут применяться для описания изменений цвета индикаторов в испытаниях на кислотность (щелочность) или при количественном определении методом титриметрии.

Цвет твердых веществ следует определять на матово-белом фоне (белая плотная или фильтровальная бумага) при рассеянном дневном свете в условиях минимального проявления тени. Небольшое количество образца (от 0,5 г до 2,0 г) помещают на белую бумагу и без нажима равномерно распределяют по поверхности бумаги, осторожно разравнивая шпателем или другим приспособлением, так, чтобы поверхность оставалась плоской.

2.3.2. Вкус

Вкус не подлежит описанию.

2.3.3. Запах

Как правило, запах не указывают, особенно для тех материалов, которые могут представлять опасность при вдыхании. В других случаях описание запаха должно быть обоснованным с использованием следующих терминов: «без запаха», «с характерным запахом», «со слабым характерным запахом». Если запах не охарактеризован, то подразумевается его отсутствие у испытуемого образца субстанции.

При необходимости, испытание проводят сразу после вскрытия упаковки. Образец массой от 0,5 г до 2,0 г равномерно распределяют на

часовом стекле диаметром от 4 см до 6 см или делают вывод об отсутствии запаха. В случае легколетучих жидких субстанций 0,5 мл испытуемого образца наносят на фильтровальную бумагу и определяют запах сразу же после нанесения, при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье.

2.3.4. Растворимость

Методика, рекомендуемая для определения растворимости, приводится в общей фармакопейной статье *Раздел «Свойства» в частных фармакопейных статьях*. Как правило, перечень используемых растворителей ограничивается водой, спиртом и липофильным растворителем (например, гептаном). Растворимость в хлороформе и эфире не указывается, использование гексана не рекомендуется. В особых случаях растворимость различных образцов субстанции может значительно изменяться, хотя их состав находится в пределах, установленных частной фармакопейной статьей. В связи с этим растворимость субстанции в растворителях может охватывать более чем одну степень растворимости, например, от степени «умеренно растворим» до степени «растворим».

Допускается также указывать растворимость или смешиваемость субстанции с другими растворителями, с которыми ее часто комбинируют на практике, например, жирными маслами и т. д. В некоторых случаях целесообразно указать растворимость в щелочах или кислотах, а в случае субстанций, которые не растворяются в этих растворителях, может быть указан специальный растворитель, например, диметилформамид или диметилсульфоксид. Нет необходимости указывать растворимость субстанции в каждом растворителе, который используется при проведении испытаний в рамках самой частной фармакопейной статьи.

2.3.5. Стабильность

Указывают признаки нестабильности субстанции под воздействием воздуха, света и влаги, например, физостигмина сульфат становится красным при воздействии воздуха и света. Подобные

указания в разделе *СВОЙСТВА* частной фармакопейной статьи приводят отдельно от описания фармакопейной субстанции.

2.3.6. Гигроскопичность

Методика, рекомендуемая для определения на практике способности субстанции к поглощению атмосферной влаги (в отличие от истинного определения гигроскопичности), приводится в общей фармакопейной статье *Раздел «Свойства» в частных фармакопейных статьях*. Некоторые субстанции гигроскопичны или разлагаются, что вызывает у аналитика затруднения при взвешивании. Данное свойство субстанции характеризуют с помощью терминов, определения которых представлены в общей фармакопейной статье *Раздел «Свойства» в частных фармакопейных статьях*.

Указания в отношении гигроскопичности служат предупреждением для аналитика о необходимости принятия мер предосторожности при обращении с субстанцией.

2.3.7. Свойства твердого состояния

Свойства твердого состояния включают кристалличность, полиморфизм, плотность, размер частиц и удельную площадь поверхности. Свойства твердого состояния могут влиять на биодоступность действующего вещества и производство лекарственного препарата.

Кристалличность субстанции описывают с помощью выражений: «кристаллический», «мелкокристаллический» или «аморфный порошок». Методика, рекомендуемая для определения кристалличности, приведена в общей фармакопейной статье *Раздел «Свойства» в частных фармакопейных статьях*.

При проявлении веществом полиморфизма и псевдополиморфизма следует руководствоваться положениями общей фармакопейной статьи *Полиморфизм*.

Сведения о полиморфизме, представленные в частной фармакопейной статье на субстанцию, предназначены указать пользователям на необходимость проведения оценки этого явления при разработке лекарственной формы. Если субстанция проявляет

полиморфизм, информация должна быть представлена в виде отдельного положения: «субстанция проявляет полиморфизм».

При наличии полиморфизма различают следующие случаи:

- частная фармакопейная статья не исключает ни одной из возможных кристаллических форм;
- в исключительных случаях, когда субстанция используется только для твердых лекарственных форм и одна полиморфная форма представляется более предпочтительной с точки зрения биодоступности или лучшего профиля безопасности (эффективности), частная фармакопейная статья может ограничиваться описанием данной полиморфной формы. Методики, необходимые для идентификации полиморфной формы, включают в раздел *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи.

Свойства вспомогательных веществ в твердом состоянии, определяющие их функциональность, могут рассматриваться в разделе *ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ* частной фармакопейной статьи (раздел 2.10 настоящего руководства).

2.3.8. Другие характеристики

Другие физические характеристики, которые могут быть полезными в качестве информации, но недостаточно точными для указания их в разделах *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* или *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи, могут приводиться в разделе *СВОЙСТВА*. К таким характеристикам относится температура плавления, являющаяся недостаточно точной характеристикой, чтобы указать диапазон ее значений. Однако при возможности указания диапазона значений она может приводиться в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи. Если в процессе измерения температуры плавления происходит разложение испытуемого образца, это должно обязательно указываться. Другими общими характеристиками, которые могут включаться в раздел *СВОЙСТВА* частной фармакопейной статьи, являются направление оптического вращения в определенном растворителе или в случае радиоактивных веществ сведения о периоде

полураспада установленного радионуклида и типе испускаемого им излучения.

2.3.9. Поведение в растворе

В тех случаях, когда известно, что в растворе может происходить быстрая деградация вещества, данную информацию приводят для предупреждения. Кроме того, растворы должны использоваться сразу после приготовления.

Понятие «свежеприготовленный раствор» означает раствор, приготовленный не более чем за 8 ч до его применения, при отсутствии других указаний.

2.4. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

2.4.1. Общие положения

Целью раздела *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи является подтверждение подлинности испытуемой субстанции. Согласно Фармакопее Союза, идентификация, как правило, имеет гораздо более ограниченную область применения, чем установление структуры неизвестного вещества или определение состава неизвестной смеси. Задачу подтверждения подлинности субстанции не следует смешивать с оценкой ее чистоты или количественным определением действующего вещества, хотя в итоге все 3 аспекта являются взаимодополняющими.

Таким образом, физические и (или) химические испытания и реакции, приведенные в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи, обеспечивают, по возможности, специфичность. Специфичность идентификации должна быть такой, чтобы отличать действующие вещества и сходные по структуре вспомогательные вещества. Испытания не должны быть слишком чувствительными, то есть необходимо избегать ложных реакций, вызванных присутствием допустимых примесей. Испытания не должны требовать дополнительных экспериментальных затрат, чем это необходимо для отличия испытуемой субстанции от других имеющихся на рынке фармацевтических субстанций. При рассмотрении экспериментальных затрат также следует учитывать время для проведения испытаний.

Как правило, для идентификации приводится один набор испытаний, который предназначен для субстанций, используемых в производстве лекарственных препаратов. Однако для некоторых субстанций, используемых в аптеках для изготовления лекарственных препаратов, предоставляется второй набор испытаний для идентификации (раздел 2.4.2 настоящего руководства).

Некоторые из испытаний на чистоту в частной фармакопейной статье могут быть также пригодны для целей идентификации, возможно, в модифицированной форме. Целесообразно использование системы перекрестных ссылок на раздел *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи, особенно в случаях, когда различие между родственными веществами зависит от свойств, также характеризующих чистоту или состав, например, содержание воды в различных гидратах, оптическое вращение различных изомеров, вязкость гомологов полимера с различной длиной цепи. Раздел *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* является самодостаточным в частной фармакопейной статье, даже если он включает перекрестные ссылки на другие разделы.

Частная фармакопейная статья на субстанцию не должна рассматриваться изолированно. При изучении наборов испытаний для идентификации целесообразно одновременное рассмотрение сходных по структуре субстанций, независимо от того, являются ли они предметом частных фармакопейных статей. Данный подход позволяет обеспечить достаточное отличие одной сходной по структуре субстанции от другой благодаря конкретному сочетанию испытаний в наборе. Такая валидация испытаний, включаемых в раздел *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи, должна выполняться постоянно.

В случае частной фармакопейной статьи на семейство субстанций раздел *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* может быть дополнен неспецифичными, но при этом избирательными испытаниями для подтверждения подлинности отдельных членов семейства.

Примеры методов идентификации перечислены ниже, а подробные указания относительно некоторых из них приведены в разделе 2.4 настоящего руководства.

Испытания с помощью инструментальных методов:

- спектрофотометрический анализ на основе ИК- или ЯМР-спектров;
- хроматографическое исследование методами ГХ или ЖХ.

Испытания с помощью других методов:

- определение физических констант, таких как температура плавления, температура замерзания, температура кипения, удельное оптическое вращение, угол оптического вращения, ультрафиолетовый спектр, удельный показатель поглощения, относительная плотность, показатель преломления и вязкость;
- химические реакции, например, цветные реакции или реакции осаждения (включая образование производных или продуктов деградации, которые в последующем могут быть предметом физического исследования), и определение числовых химических показателей (число омыления, эфирное число, гидроксильное число, йодное число и др.);
- хроматографическое исследование методом ТСХ.

2.4.2. Вторая идентификация

С целью предоставления пользователям Фармакопеи Союза выбора между методами, требующими применения сложного оборудования, и другими методами в частные фармакопейные статьи может включаться, при наличии обоснования, два набора испытаний для идентификации. В этом случае частные фармакопейные статьи имеют подразделы *Первая идентификация* и *Вторая идентификация*. Испытания для второй идентификации, описанные в частных фармакопейных статьях, должны быть адаптированы к средствам, имеющимся в аптеках, в том числе внутрибольничных аптеках, которые изготавливают лекарственные препараты, не подлежащие регистрации. Второй набор испытаний не предназначен для обеспечения качества лекарственных препаратов, подлежащих регистрации (что подразумевает выполнение требований Надлежащей производственной практики) и применяется в аптеках. Испытания для второй идентификации могут использоваться вместо испытаний для первой идентификации при подтверждении, что субстанция или лекарственный

препарат полностью прослеживаются до серии, сертифицированной на соответствие требованиям частной фармакопейной статьи, что указано в сертификате анализа.

Испытания для второй идентификации должны быть нацелены на подтверждение подлинности на основе доступного аналитического оборудования и приемлемых методов, а не на основе сложных технологий. Рекомендуется, по возможности, использовать совместное определение температуры плавления, показателя преломления и ТСХ, дополненные, при необходимости, «мокрым» химическим испытанием. Испытания для второй идентификации должны предоставить пользователю как минимум два результата, подтверждающих подлинность субстанции. Эти результаты могут быть получены двумя независимыми испытаниями или одним испытанием, которое предоставляет два или несколько сведений о подлинности субстанции. Сочетание показателя преломления с относительной плотностью является примером первого; примером последнего является метод ТСХ с применением реактива для обнаружения.

2.4.3. Абсорбционная спектрофотометрия в инфракрасной области

Как правило, наличие единственного метода считают достаточным для подтверждения подлинности неионизированных органических веществ, кроме солей органических кислот или оснований. Этот метод всегда требует использования стандартного образца или стандартного спектра вещества. Применение стандартных образцов веществ является более предпочтительным, чем стандартных спектров. Последние используются при наличии практических трудностей, связанных с предоставлением стандартных образцов веществ.

Органические соли органических веществ и некоторые неорганические соли органических веществ (например, фосфатов и сульфатов) можно легко отличить друг от друга. Однако в случае сульфатов необходимо расширить обычный диапазон регистрации спектра поглощения от $4000\text{-}600\text{ см}^{-1}$ до $4000\text{-}400\text{ см}^{-1}$.

Метод подготовки образца (диск, пластинка из солей-галогенидов, взвесь и т.д.) не указывают при отсутствии необходимости в ходе разработки частной фармакопейной статьи для получения удовлетворительного спектра.

В определенных случаях, когда один ИК-спектр недостаточен для подтверждения подлинности, необходимо дополнить его другими испытаниями. К таким случаям относятся следующие:

- **соли органических кислот или оснований.** Наряду с общими методами приводят два и более испытаний для идентификации нескольких ионов или групп, входящих в состав органического вещества (противоион). Однако обычно используют только одно из них;
- **химически родственные вещества.** В случае веществ, родственных испытуемому веществу, когда изменения в ИК-спектрах считают недостаточными для однозначной идентификации, дополнительно проводят еще одно простое испытание, например, определение температуры плавления или ТСХ с использованием стандартного образца вещества;
- **полиморфизм.** В соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Абсорбционная спектрофотометрия в инфракрасной области* считается возможным проведение перекристаллизации до записи спектра. Если в частной фармакопейной статье приводятся указания на проявление веществом полиморфизма, описывают метод перекристаллизации, за исключением, когда область применения частной фармакопейной статьи ограничена кристаллической формой, представленной стандартным образцом химического вещества. В последнем случае в частной фармакопейной статье указывают, что запись спектра проводится без перекристаллизации вещества. В исключительных случаях, когда частная фармакопейная статья описывает конкретную кристаллическую форму (формы), для которой ИК-спектр не характерен, вводят дополнительное испытание;
- **оптические изомеры.** Для идентификации конкретного энантиомера или рацемата добавляют испытание на удельное оптическое вращение или угол оптического вращение.

2.4.4. Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях

В отличие от ИК-спектрофотометрии данный метод менее специфичен для целей идентификации, если только кривая поглощения не имеет несколько максимумов и минимумов, необычно сильные или слабые области поглощения и т. д.

При УФ-спектрометрии могут использоваться стандартные образцы. Однако УФ-спектры веществ редко выступают в качестве единственного критерия идентификации.

Концентрация испытуемого раствора должна быть такой, чтобы поглощение (оптическая плотность), измеренное в кювете толщиной 1 см, предпочтительно находилось в интервале от 0,5 до 1,5.

Необходимо указать диапазон длин волн, подлежащий исследованию; как правило, он не распространяется на область, где можно ожидать влияния растворителя на поглощение раствора. Длины волн резких максимумов и минимумов обозначают одним числом с отклонением ± 2 нм, тогда как для более широких полос дается диапазон. При необходимости указания длины волны плеча и т. д. можно использовать выражение «около».

Удельные показатели поглощения также приводят в виде интервала (обычно шириной ± 5 %), чтобы охватить изменения в содержании поглощающего вещества и ошибки эксперимента. Следует отметить, что погрешность прибора для измерения показателя поглощения составляет $\pm 0,01$, следовательно, относительное отклонение в процентах, обусловленное этим источником вариабельности, будет зависеть от абсолютных уровней поглощения. Кроме того, содержание поглощающего вещества будет изменяться в зависимости от допустимого содержания воды (или других растворителей); если значение допустимого содержания воды (или других растворителей) не превышает 1 % или находится внутри четко установленных пределов, обычно оказывается достаточным рассчитать удельный показатель поглощения для вещества «как есть» и соответствующим образом установить пределы. Если в спектре присутствует более одного максимума, отношение значений их поглощения может быть заменено на индивидуальные значения удельных показателей поглощения при условии, что указанное

отношение меньше или равно 5, что позволяет избежать коррекции поглощения на присутствующий растворитель вещества.

При выборе растворителя соответствующей чистоты, необходимого для УФ-спектрофотометрии, должны быть приняты меры предосторожности во избежание присутствия примесей, способных оказывать влияние на поглощение испытуемых веществ.

В некоторых случаях разрешающая способность прибора может быть критическим фактором при получении необходимых спектральных характеристик (например, спектры ароматического типа, указывающие на тонкую структуру). Минимальное требуемое разрешение может быть указано в частной фармакопейной статье. Для определения этой величины, настройку ширины спектральной щели намеренно изменяют таким образом, чтобы полученный спектр отвечал требованию для разрешения. Разрешение, соответствующее установленной ширине спектральной щели, затем экспериментально определяют на основе отношения значений поглощения для 0,02 % (об/об) раствора *толуола Р* в *гексане Р*, как указано в общей фармакопейной статье *Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях*. Минимальное отношение значений поглощения в частной фармакопейной статье указывают до 2 значащих цифр.

В таблице 3 представлена приблизительная зависимость разрешающей способности спектрофотометра (отношения значений поглощения) от ширины спектральной щели.

Таблица 3. Разрешающая способность спектрофотометра (отношение значений поглощения) в зависимости от ширины спектральной щели

Ширина щели (нм)	Отношение $A_{\max 269 \text{ нм}} / A_{\max 266 \text{ нм}}$
0,25	2,3
0,5	2,2
1,0	2,0
2,0	1,4
3,0	1,1
4,0	1,0

2.4.5. Температура плавления, температура затвердевания и температура кипения

Определение температуры плавления применяют для характеристики твердых субстанций. Определение температуры затвердевания и температуры кипения (температурные пределы дистилляции) вводят для характеристики жидких субстанций.

Температура плавления, температура затвердевания и температура кипения имеют значение при идентификации только в том случае, если они четко определены и их определение не сопровождается разрушением до такой степени, что делает их чрезвычайно зависимыми от реального режима работы. Необходимо также учитывать возможный полиморфизм; разница в температуре плавления должна указываться, даже если она описана в разделе *СВОЙСТВА* частной фармакопейной статьи. В исключительных случаях, когда необходимо отличить конкретную кристаллическую форму от других полиморфных форм, определение температуры плавления может помочь в исключении нежелательной формы (форм).

Тем не менее, следует иметь в виду, что при испытании может измеряться кажущаяся температура плавления, которая является температурой плавления полиморфной формы, образовавшейся в результате полиморфного перехода твердой фазы.

Для первой идентификации температура плавления, так же как и дополнительное проведение химической реакции являются недостаточными при подтверждении подлинности субстанции. Тем не менее, часто бывает достаточным дополнительное проведение другого испытания для идентификации, например, ТСХ. Особенности второй идентификации освещены в части 2.4.2 настоящего руководства.

Температура плавления, определяемая капиллярным методом, описана в Фармакопее Союза (общая фармакопейная статья *Температура плавления – капиллярный метод*) как температура, при которой последняя твердая частичка уплотненного столбика вещества переходит в жидкую фазу (т.е. температура наступления прозрачности или температура сжижения). Не следует ее путать с интервалом плавления, даже если она указана в виде диапазона температур.

2.4.6. Удельное оптическое вращение

Если в частной фармакопейной статье описывается энантиомер, приводят испытание на оптическое вращение в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* или предоставляют перекрестную ссылку на испытание на энантиомерную чистоту в разделе *ИСПЫТАНИЯ*.

При наличии не только энантиомера, но и рацемата (или рацемической смеси), в частной фармакопейной статье на рацемат указывают угол оптического вращения в разделе *ИСПЫТАНИЯ* и приводят ссылку в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ*. При наличии только рацемата угол оптического вращения указывают в разделе *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи при условии, что известно удельное оптическое вращение хиральной формы, которое имеет достаточную величину для проведения значимого испытания на рацемический характер субстанции.

2.4.7. Тонкослойная хроматография

Данный метод идентификации требует использования стандартных образцов веществ. Селективность может быть улучшена путем сочетания ТСХ с химическими реакциями *in situ*, то есть с использованием соответствующих реактивов-опрыскивателей. В последнем случае такую же или подобную реакцию не следует повторять в пробирках.

Разделение критической пары веществ в испытании для идентификации играет второстепенную роль в отличие от испытания на родственные примеси, где обеспечение такого разделения имеет исключительно важное значение. Тем не менее, при разработке и валидации необходимо подтвердить разделение вещества от сходных по структуре веществ.

Испытание методом ТСХ-разделения на пластинках описано в общем разделе Фармакопеи Союза *Реактивы* при проверке пригодности соответствующего типа пластинки. Испытание является процедурой контроля качества, выполняемой время от времени пользователем ТСХ-пластинок. Понятно, что такая общая методика не подходит для ТСХ-разделения в каждом конкретном случае и что описание критерия разделения может быть необходимым для подтверждения подлинности

вещества. Для таких исключительных случаев критерий разделения приводят в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи.

Система ТСХ, применяемая для проверки фармацевтической субстанции на чистоту в частной фармакопейной статье, является в случае ее пригодности предпочтительной при идентификации. С этой целью испытуемый раствор и соответствующий раствор сравнения обычно готовят в такой концентрации, чтобы на пластинку или лист наносилось от 5 до 20 мкг каждого раствора. При этом может потребоваться также переход от общей к более избирательной системе обнаружения.

Дополнительные технические требования к данным хроматографическим методам приведены в разделе 2.5.8 настоящего руководства для родственных примесей.

2.4.8. Газовая хроматография и жидкостная хроматография

Основные принципы, изложенные при идентификации методом ТСХ, применяются с учетом соответствующих изменений. Методы ГХ и ЖХ редко используют для идентификации как самостоятельные методы. Как правило, в случае их применения приводят ссылки на разделы *ИСПЫТАНИЕ* или *КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ* частной фармакопейной статьи, где их используют с соответствующими целями. Указанные методы применяют только при отсутствии подходящего альтернативного метода, причем не в качестве единственного испытания на подлинность.

Дополнительные технические требования к ГХ и ЖХ приведены в разделе 2.5.8 настоящего руководства для родственных примесей.

2.4.9. Химические реакции

В общие фармакопейные статьи Фармакопеи Союза включают несколько общих реакций для подтверждения подлинности химической структуры, которые должны использоваться при необходимости. В тех случаях, когда приведено несколько реакций на ион или функциональную группу в общей фармакопейной статье *Реакции идентификации на ионы и функциональные группы*, как правило, в частной фармакопейной статье необходимо указать только одну из них.

Необходимо точно указывать количества веществ или растворов, которые должны быть взяты для соответствующего испытания на подлинность. Это также относится к испытаниям, которые должны быть полностью описаны в частной фармакопейной статье. Реакции идентификации с использованием токсичных реактивов должны постепенно сокращаться вплоть до их отмены; особую осторожность следует проявлять при выборе такой химической реакции для включения в частную фармакопейную статью.

Не рекомендуется использовать критерии идентификации, требующие распознавания запаха или вкуса.

Для подтверждения присутствия различных частей идентифицируемой молекулы следует выбирать отдельную химическую реакцию.

Для дифференцирования веществ внутри семейства (класса, группы), которые отличаются либо степенью конденсации, либо длиной углеводородной цепи (например, жирные кислоты), необходимо приводить перекрестные ссылки на соответствующее испытание (испытания) на чистоту по определению числовых химических показателей (например, йодное число, число омыления и т. д.).

2.5. ИСПЫТАНИЯ

2.5.1. Общие положения

Показатели качества и пределы их нормирования, вводимые в раздел *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи, должны соответствовать назначению субстанции для фармацевтического применения, например, для производства стерильных лекарственных препаратов, или стерильных неинъекционных лекарственных препаратов, или нестерильных лекарственных препаратов, или нестерильных лекарственных препаратов для местного и наружного применения и т.д.

Показатели качества *Прозрачность раствора*, *Цветность раствора*, *Пирогенность* или *Бактериальные эндотоксины*, а также *Стерильность* (если не предусмотрена последующая стерилизация) всегда вводят для субстанций, предназначенных для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.

Раздел *ИСПЫТАНИЯ* частной фармакопейной статьи, в основном, направлен на ограничение содержания примесей в субстанциях химического происхождения. Общая фармакопейная статья *Контроль примесей в субстанциях для фармацевтического применения* предоставляет подробную информацию о применяемых подходах.

Хотя частная фармакопейная статья должна обеспечивать необходимую чистоту лекарственных средств в интересах здоровья пациента, Фармакопея Союза не ставит своей целью устанавливать чрезмерно жесткие требования, которые неоправданно ограничивают способность производителей выпускать лекарственные препараты соответствующего качества.

В целях прозрачности приведенная информация включает, по возможности, примеси, контролируемые испытанием и приблизительное содержание (% , ppm и т.д.) определенных примесей или класса примесей от указанного предела. Данный предел может представлять собой номинальное содержание, полученное из условий испытания, или может основываться на результатах опытов по определению величины открываемости.

Критерии приемлемости и допустимые пределы содержания устанавливаются на основе имеющихся аналитических данных, то есть результатов испытаний серийной продукции, предоставленных производителями, и данных, полученных в ходе разработки частной фармакопейной статьи испытательными лабораториями. Для установления допустимых пределов в испытаниях (например, потеря в массе при высушивании, остаточная вода и т. д.) может использоваться эмпирическое правило «3-сигма». При нормальном распределении значений доверительный интервал, определяемый средним значением утроенного стандартного отклонения $\pm 3\sigma$, составляет 99,74 % от совокупности данных. Для расчета среднего значения должно быть в наличии не менее 10 результатов испытаний.

Пример 1. Установление допустимого предела содержания воды:

- *результаты испытания серийной продукции для содержания воды, предоставленные производителем: 10 серий;*
- *минимальное значение: 3,2 %, максимальное значение: 5,4 %;*
- *среднее значение + 3 сигма = 6,1 %.*

Вывод: допустимый предел содержания воды устанавливают на уровне 6,1 % в соответствии с правилом «3-сигма».

Однако правило «3-сигма» не применяется систематически для всех испытаний. Исключением из данного правила является испытание на родственные примеси. Решение о необходимости контроля той или иной примеси и установление допустимых пределов ее содержания для включения в частную фармакопейную статью должно быть основано на результатах испытаний серийной продукции и требованиях спецификаций производителей. Требования частной фармакопейной статьи к контролю родственных примесей должны более точно отражать их реальное содержание в субстанциях, используемых в зарегистрированных лекарственных препаратах.

Пример 2. Установление допустимого предела содержания примеси X:

- *результаты испытания серийной продукции для содержания примеси X, предоставленные производителем: 57 серий;*
- *52 серии около или менее 0,05 %, 4 серии – около 0,08%, 1 серия – 0,09 %;*
- *среднее значение + 3 сигма = 0,11 %.*

Вывод: правило «среднее значение + 3 сигма» не применяют. Допустимый предел содержания примеси X устанавливают на уровне 0,10 % на основе результатов испытания серийной продукции.

Некоторые испытания могут применяться к специальным категориям лекарственных средств (парентеральные, диализные растворы и т. д.) или испытание может иметь допустимый предел, соответствующий конкретному применению. Следует указывать конкретное применение и допустимые пределы испытания.

2.5.2. Название испытаний и (или) показателей качества

По возможности, название испытания и (или) показателей качества должно включать название примеси или класса примесей (например, испытания *Щавелевая кислота, Калий, Медь, Хлориды* и т. д.). Неспецифичные испытания имеют более общее название, выбранное из стандартной терминологии Фармакопеи Союза (например, испытания *Цветность раствора, рН, Кислотность или*

щелочность и т. д.), или аналогичное название. По возможности, нецелесообразно использование названий, содержащих обычную ссылку на методологию, используемую в испытании (например, спектр поглощения, удельное оптическое вращение).

2.5.3. Раствор S

Раствор испытуемой субстанции, названный раствором S, готовят каждый раз, когда его используют для проведения более чем одного испытания и (или) идентификации.

При необходимости могут быть приготовлено несколько растворов S (обозначенных S1, S2 и т. д.) различными способами, каждый из которых используется не менее чем для двух испытаний.

Для нерастворимых субстанций раствор S может быть получен путем экстракции.

Используемые растворители выбирают в зависимости от цели испытаний, растворимости испытуемой субстанции и растворимости ее потенциальных примесей. К таким растворителям относятся:

– вода (обычно):

а) *вода, свободная от углерода диоксида, P*, в тех случаях, когда присутствие углерода диоксида может существенно повлиять на результат испытания, например, на pH, кислотность или щелочность (раздел 2.5.5 настоящего руководства);

б) *дистиллированная вода P*, если раствор S используют в испытаниях на барий, кальций и сульфаты;

в) *вода, свободная от углерода диоксида, P*, полученная из дистиллированной воды, если применимы оба предыдущих случая;

– разбавленный кислотный или щелочной раствор;

– другие растворители (спирты, тетрагидрофуран и т. д.), которые дают растворы с более узкой областью применения, чем водные растворы.

Растворитель должен позволять проводить указанные испытания либо непосредственно, либо после подходящих разведений, четко указанных в каждом испытании. Обычно концентрация составляет приблизительно от 20 г/л до 50 г/л, но может быть меньше (например,

10 г/л) или больше (100 г/л и, в исключительных случаях, больше). Количество готового раствора S должно быть достаточным для проведения каждого из испытаний, для которых он был приготовлен. При необходимости фильтрования раствора S следует учитывать потери при фильтрации, а при использовании нерастворимой части, разделенной таким образом, для другого испытания следует это четко указывать.

Одна и та же часть раствора S может использоваться для проведения нескольких испытаний, что требует обоснования для экономного расхода субстанций (высокая стоимость или ограниченное использование лекарственных препаратов) и обязательно указывается в частной фармакопейной статье.

В зависимости от конкретных испытаний концентрацию раствора S определяют с различной точностью:

- для испытаний *Цветность раствора*, *pH* и некоторых испытаний на подтверждение подлинности достаточна точность от 5 % до 10 %;
- для большинства испытаний на предельное содержание точность составляет около 2 %;
- для некоторых случаев, например, определения удельного вращения, удельной оптической плотности, различных числовых химических показателей и, в общем, для испытаний, где результат получают путем расчета, требуется более высокая точность.

Концентрацию раствора S определяют с точностью, предъявляемой наиболее жестким испытанием, для которого предназначен раствор. Таким образом, при описании приготовления раствора S указывают:

- количество испытуемой субстанции с требуемой точностью (общий раздел Фармакопеи Союза *Общие сведения*);
- объем с точностью до первого десятичного знака (10,0 мл, 25,0 мл и т. д.), если концентрация должна быть с точностью не менее 1 %, и без десятичного знака (10 мл, 25 мл и т. д.), если достаточна точность менее 1 %.

2.5.4. Прозрачность и цветность раствора

Испытание позволяет установить общую чистоту субстанции путем обнаружения примесей, нерастворимых в выбранном растворителе, или окрашенных примесей.

Испытание практически всегда вводят для субстанций, предназначенных для парентеральных, глазных, назальных и ушных лекарственных препаратов, применяемых в жидких лекарственных формах. Кроме того, испытание применяют только в том случае, если оно дает необходимую информацию о специфических примесях.

Испытание может состоять из одного или двух следующих испытаний:

- прозрачность и интенсивность опалесценции жидкостей;
- интенсивность окраски жидкостей.

Оба испытания практически всегда выполняют в идентичных растворах, обычно растворе S, но они могут также выполняться в других растворах.

Испытания обычно проводят в водных растворах субстанции, но возможно использование органических и смешанных растворителей в зависимости от растворимости испытуемой субстанции. При использовании органического растворителя для приготовления раствора S, может потребоваться обеспечить соответствие качества растворителя требованиям испытания, особенно в случаях с очень строгими требованиями.

Как правило, концентрация испытуемых растворов должна быть приближена к концентрации производимого (изготавливаемого) из этой субстанции лекарственного препарата.

Чем более концентрированный раствор, тем более строгими являются условия испытания. Для очень чистых субстанций или субстанций, используемых в больших дозах, выбранная концентрация должна составлять от 50 г/л до 100 г/л, тогда как для менее чистых субстанций или субстанций, вводимых в малых дозах, концентрация составляет от 10 г/л до 20 г/л.

2.5.4.1. Прозрачность и степень опалесценции жидкостей

Испытание, в основном, выполняют на бесцветных субстанциях или субстанциях, образующих слегка окрашенные растворы, чтобы обеспечить достоверное сравнение с суспензиями сравнения. Более новые приборы с использованием соотношения сигналов в Ratio-варианте метода (относительная турбидиметрия и нефелометрия) способны измерять степень мутности окрашенных растворов субстанции.

Количество требуемого раствора зависит от диаметра используемых пробирок для сравнительных испытаний; оно варьирует от 7 мл до 20 мл для пробирок с внутренним диаметром от 15 мм до 25 мм, описанных в общих фармакопейных статьях по методам испытаний. Поэтому необходимо учитывать последний объем.

Чаще всего испытуемый раствор должен быть прозрачным (в соответствии с требованиями Фармакопеи Союза). Однако в некоторых случаях для субстанций, не предназначенных для использования в растворе, иногда допускается более выраженная опалесценция.

2.5.4.2. Окраска и интенсивность окраски жидкостей

Испытание применяют, по существу, к бесцветным субстанциям, содержащим окрашенные примеси или способным подвергаться деградации с образованием таких примесей, которые можно контролировать путем регламентирования цвета раствора субстанции.

В общей фармакопейной статье *Окраска и интенсивность окраски жидкостей* описываются следующие методы:

- метод I, требующий для испытания только 2 мл раствора; метод применяется редко, за исключением субстанций, образующих сильноокрашенные растворы;
- метод II, требующий для испытания больший объем раствора за счет необходимости его использования для испытания на прозрачность; метод применяется более часто ввиду большей избирательной способности.

Результаты, полученные двумя методами, не обязательно совпадают. Поэтому в частной фармакопейной статье приводят метод, используемый на практике.

Раствор описывают как бесцветный, если интенсивность окраски раствора не превышает интенсивность окраски раствора сравнения В₉. Если раствор слегка окрашен, указывают соответствующий раствор сравнения. В случае изменения оттенка цвета в зависимости от образцов, допускается указывать два или более растворов сравнения той же интенсивности окраски или только степень окраски без указания фактического цвета.

Для лекарственных препаратов, предназначенных для парентерального применения, и для сильноокрашенных растворов, особенно при использовании метода I, предпочтительно регламентировать предельное значение поглощения, измеренное на спектрофотометре при соответствующей длине волны (обычно от 400 нм до 450 нм). Необходимо указать концентрацию раствора и предельное значение поглощения. Условия испытания и допустимые пределы поглощения должны устанавливаться на основе кривой поглощения в диапазоне длин волн от 400 нм до 450 нм и результатов испытания соответствующих образцов, в том числе и образцов, находящихся на хранении и подвергшихся деградации (при необходимости).

2.5.5. рН, кислотность или щелочность

Испытание позволяет регламентировать предельное содержание кислотных или щелочных примесей в зависимости от применяемого способа получения и очистки или примесей, образующихся в результате деградации (например, вследствие ненадлежащего хранения) субстанции. Испытание может также использоваться для проверки стехиометрического состава некоторых солей.

В Фармакопее Союза используют 1 из 2 типов испытаний на протолитические примеси:

- испытание на кислотность или щелочность, выполняемое с помощью полуколичественного титрования с использованием

индикаторов или электрометрических методов для определения предельного содержания;

- испытание на рН, выполняемое путем потенциометрического измерения активной концентрации ионов водорода в растворе.

Измерение рН включают, если вещество обладает буферной способностью, в противном случае рекомендуется использовать титриметрическое определение.

Выбор типа испытаний для частной фармакопейной статьи проводится на основе оценки буферных свойств субстанции. Для этого можно построить кривую титрования для водного раствора (или, при необходимости, экстракта) предпочтительно чистого образца испытуемой субстанции в предполагаемой концентрации (от 10 г/л до 50 г/л), используя 0,01 М хлороводородную кислоту и 0,01 М раствор натрия гидроксида, соответственно, и проведя потенциометрическое измерение рН.

Точка перегиба кривой титрования является истинным значением рН раствора и для чистой субстанции будет находиться в точке пересечения с осью рН. Мерой буферной способности испытуемого раствора является полный сдвиг рН (Δ рН) на кривой титрования в результате добавления, с одной стороны, 0,25 мл 0,01 М раствора натрия гидроксида в 10 мл раствора, а с другой стороны, 0,25 мл 0,01 М хлороводородной кислоты в другую порцию 10 мл того же раствора. Буферная способность обратно пропорциональна Δ рН. Для образца, который является не совсем чистым, проводят параллельное смещение кривой титрования так, чтобы истинное значение рН раствора находилось на оси рН до того, как Δ рН будет считываться с кривой.

Величина Δ рН испытуемого раствора определяет выбор типа испытания на протолитические примеси в соответствии с таблицей 4. Классификация основана на наблюдении цвета большинства индикаторов, изменение которого происходит в диапазоне рН, равном двум единицам.

Изменение концентрации испытуемого раствора может менять в определенной мере класс субстанций, основанный на буферных свойствах, вследствие изменения формы кривой титрования. Указанный выше диапазон концентраций не должен быть превышен, за

исключением случаев, когда низкая растворимость в воде обосновывает использование более разбавленного раствора.

Таблица 4. Тип испытаний на протолитические примеси в зависимости от величины ΔpH

Класс субстанций на основе буферных свойств	ΔpH	Тип используемого испытания на протолитические примеси
Класс А	$\Delta pH > 4$	Испытание на кислотность или щелочность с использованием двух подходящих индикаторов
Класс В	$4 > \Delta pH > 2$	Испытание на кислотность или щелочность с использованием одного подходящего индикатора
Класс С	$2 > \Delta pH > 0,2$	Прямое измерение pH
Класс D	$\Delta pH < 0,2$	Протолитическая чистота не может контролироваться в достаточной степени. К данному классу относятся субстанции, представляющие собой соли, состоящие из ионов с более чем одной кислотной и (или) основной функцией; для таких субстанций измерение pH может способствовать обеспечению предполагаемого состава, если пределы содержания примесей достаточно узкие

В некоторых случаях испытание на кислотность или щелочность не может быть выполнено с использованием индикаторов ввиду окрашенности испытуемого раствора или других осложнений, что приводит к необходимости электрометрического контроля пределов. С другой стороны, если добавление стандартного раствора кислоты или основания приводит к разложению или осаждению испытуемой субстанции, может потребоваться испытание на pH независимо от буферных свойств.

Если по особым причинам, как описано выше, измерение pH должно быть предписано для растворов со слабой или отсутствующей буферной способностью, испытуемый раствор готовят с использованием *воды, свободной от углерода диоксида, Р*. Напротив, для приготовления растворов с достаточной буферной способностью не требуется использование *воды, свободной от углерода диоксида, Р*, при прямом измерении pH ввиду отсутствия влияния на необходимую точность, которая редко превышает 1/10 единицы pH. Если требование к показателю кислотности составляет не более 0,1 мл 0,01 М раствора

натрия гидроксида на 10 мл испытуемого раствора, последний должен быть приготовлен с использованием *воды, свободной от углерода диоксида, Р*. Изложенное выше следует иметь в виду при описании состава раствора *S*, если он должен использоваться в испытании на протолитические примеси.

2.5.6. Оптическое вращение

Испытание на оптическое вращение, необходимое в ряде случаев для целей идентификации, в основном, используют в качестве испытания на чистоту в одном из следующих случаев:

- для оценки общей чистоты оптически активной субстанции (жидкости или раствора твердого вещества) путем расчета удельного оптического вращения (испытание *Удельное оптическое вращение*);
- для ограничения присутствия оптически активных примесей в любой оптически неактивной субстанции (рацемате или рацемических смесях) при условии, что удельное оптическое вращение при длине волны 589,3 нм является достаточным для обеспечения соответствующей чувствительности. В этом случае обычно задаваемый диапазон должен составлять от $-0,10^\circ$ до $+0,10^\circ$ (включает субстанции, не являющиеся истинными рацематами). В этом случае при определенных условиях измеряют угол оптического вращения жидкости или раствора твердого вещества (испытание *Угол оптического вращения*).

Обычно указанные примеси более целесообразно контролировать методами хирального разделения, поскольку удельное оптическое вращение часто недостаточно для ограничения присутствия нежелательного энантиомера (дистомера) в присутствии активного энантиомера (эутомера).

Испытание не подходит для сильноокрашенных или опалесцирующих растворов (в последнем случае фильтрация иногда позволяет сделать определение возможным).

При описании испытания учитывают следующие факторы:

- растворитель, выбор которого зависит от растворимости испытуемой субстанции и способности вращения плоскости поляризованного света в этом растворителе. В случае неводных растворителей часто следует тщательно определять их чистоту и особенно содержание в них воды;
- концентрацию раствора, которая должна быть достаточно высокой, чтобы обеспечить надежное определение угла оптического вращения;
- количество используемой субстанции, которая должна быть определена с достаточной точностью (обычно 1 %), а также объем, который должен быть получен с точностью до первого десятичного знака;
- требуемый объем, который зависит от используемого прибора; но поскольку он редко превышает 25,0 мл, его обычно указывают;
- степень гидратации или органическую сольватацию субстанции при расчете результата;
- результат, который представляет собой среднее значение, по меньшей мере, 5 измерений при визуальной оценке, при этом используемый прибор должен давать показания с точностью 0,01°;
- измеренные углы вращения (редко более 2°), которые приводят с точностью до второго десятичного знака;
- значения удельного оптического вращения, которые приводят с точностью до 2 или 3 значащих цифр. Если эти значения составляют менее 10, приводят 2 значащие цифры, если значения составляют 10 и более, приводят 3 значащие цифры;
- допустимые пределы для состава рацематов или рацемической смеси.

Величину удельного оптического вращения рассчитывают в пересчете на сухую или безводную субстанцию.

2.5.7. Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях

Поглощение электромагнитного излучения можно использовать в испытаниях на чистоту в качестве испытания на предельное содержание

определенных примесей. К типичному случаю относятся примеси, поглощающие в области, в которой испытываемая субстанция является прозрачной. Испытание сводится к измерению поглощения раствора испытываемой субстанции.

Испытание может проводиться следующими способами:

- путем прямого измерения максимального поглощения раствора при заданной длине волны или в диапазоне длин волн;
- после проведения химической реакции с примесью с образованием вещества, поглощающего при длине волны, при которой испытываемая субстанция является прозрачной; при этом указывают максимальное значение поглощения для заданной длины волны.

Для измерений в ультрафиолетовой области не рекомендуется использование длин волн менее 230 нм.

Необходимо точно описать условия выполнения испытания для последующего их соблюдения, в частности, приготовления растворов путем последовательных разведений.

2.5.8. Родственные примеси

Принципы контроля примесей описаны в общей фармакопейной статье *Контроль примесей в субстанциях для фармацевтического применения* и в общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения*. Частные фармакопейные статьи должны быть разработаны с использованием соответствующих принципов. Частные фармакопейные статьи предназначены для учета субстанций, используемых в лекарственных препаратах, зарегистрированных на фармацевтическом рынке Союза, и должны обеспечивать надлежащий контроль всех примесей, содержащихся в этих субстанциях, при наличии всей необходимой информации и образцов (субстанций и примесей), поступающих от производителей. Если требуемая информация и образцы субстанции, синтезированной по определенной технологии, не представлены, частная фармакопейная статья не будет включать профиль примесей, соответствующий этой технологии.

Положения общей фармакопейной статьи *Субстанции для фармацевтического применения* по родственным примесям используют для всех активных субстанций химического происхождения, описанных в Фармакопее Союза, при отсутствии других указаний.

Если исключение должно быть сделано для какой-либо другой субстанции, в частную фармакопейную статью включают следующее положение: «Пороги содержания, указанные в испытании на родственные примеси в общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения*, не применяются».

Частные фармакопейные статьи должны включать критерии приемлемости:

- для содержания каждой специфицированной примеси;
- для содержания неспецифицированных примесей (ранее называемых «любые другие примеси»), обычно устанавливаемые на уровне порога идентификации;
- для общего содержания примесей.

Примеси, подлежащие контролю, включают промежуточные продукты и побочные продукты синтеза, совместно экстрагируемые вещества в продуктах природного происхождения, продукты деградации. Частные фармакопейные статьи на органические субстанции химического происхождения обычно включают испытание *Родственные примеси* (или испытание с той же целью под другим названием), предназначенное для контроля органических примесей. Неорганические примеси обычно проверяют, в случае применимости, другими испытаниями. Остаточные растворители контролируют в соответствии со специальными положениями (см. ниже и в общей фармакопейной статье *Контроль остаточных растворителей* и в общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения*).

Генотоксичные примеси. При разработке или пересмотре частных фармакопейных статей используют подходы, основанные на положениях Руководства Союза по предельному содержанию генотоксичных примесей. Новые фармакопейные статьи должны основываться на оценке присутствия ПГП при регистрации лекарственных средств в соответствии с принципами данного руководства. Требования для ПГП включают в частные фармакопейные

статьи только при наличии результатов исследований, подтверждающих генотоксичность примеси. Существование одной только структуры вещества, обуславливающей потенциальную генотоксичность, считают недостаточным для инициирования соответствующих фармакопейных требований к субстанциям. При использовании новой технологии синтеза субстанции, которая может привести к увеличению различных ПГП или более высокому уровню содержания ранее признанных ПГП, результаты экспертной оценки такой субстанции, проведенной уполномоченным органом, должны использоваться в качестве основы для указанных ПГП при разработке частной фармакопейной статьи.

Необходимость введения фармакопейных требований на ПГП может быть иницирована уполномоченным органом, в частности, при пересмотре частной фармакопейной статьи, на основе предоставленных им для этой цели результатов экспертной оценки.

Изложенные выше принципы в отношении контроля ПГП относятся к субстанциям, используемым в производстве лекарственных препаратов для медицинского применения. Если субстанция применяется для производства ветеринарных лекарственных средств, требования, предъявляемые к ПГП, устанавливаются уполномоченным органом в каждом конкретном случае.

Контроль примесей. Наиболее распространенным и предпочтительным методом контроля органических примесей является ЖХ; в некоторых случаях предпочтительным могут быть ГХ или КЭ. Несмотря на существование частных фармакопейных статей с применением ТСХ перспективное использование данного метода связано с контролем лишь специфических примесей, которые не могут контролироваться методами ЖХ или ГХ. Существующие в настоящее время испытания методом ТСХ, не соответствующие этому положению, постепенно заменяются на подходящие испытания методами ЖХ, ГХ и другими современными методами.

Если противоион активной фармацевтической субстанции образован более слабой органической кислотой, обычно не считают необходимым проводить испытание на родственные примеси органической части молекулы (например, магния лактат, используемый в качестве источника магния).

Частные фармакопейные статьи должны разрабатываться с учетом различного профиля примесей, полученного в результате

использования производителями различных технологий синтеза и очистки. Обычной практикой является включение общего испытания методом ЖХ, дополненного, при необходимости, другими испытаниями (ЖХ, ГХ, КЭ, ТСХ или др.) для конкретных примесей. Однако, если в некоторых случаях становится нецелесообразной разработка одного общего испытания, включают несколько испытаний и область применения различных испытаний указывают в самих испытаниях с перекрестными ссылками в разделе *ПРИМЕСИ* частной фармакопейной статьи.

Частные фармакопейные статьи распространяются на ряд специфицированных примесей, описанных в разделе *ПРИМЕСИ*. К специфицированным примесям относят те примеси, которые присутствуют в выпускаемых сериях субстанций, используемых для производства зарегистрированных лекарственных препаратов, и для которых предусмотрены индивидуальные критерии приемлемости. По возможности, частная фармакопейная статья также должна включать критерии приемлемости для других примесей (на уровне порога идентификации вещества) и допустимый предел общего содержания всех примесей (или допустимый предел общего содержания всех примесей за исключением содержания некоторых идентифицированных специфицированных примесей) выше порога информирования. Критерии приемлемости для специфицированных примесей могут устанавливаться на уровне порога идентификации для данной субстанции.

Критерии приемлемости для специфицированных примесей должны учитывать следующее:

- результаты квалификации примесей, позволяющие устанавливать, в случае применимости, допустимый предел на уровне, не превышающем уровень, при котором квалифицирована примесь; сведения о квалификации предоставляются производителем, а сопоставимость допустимого предела с результатами квалификации и утвержденными спецификациями проверяется уполномоченными органами при разработке и (или) общественном обсуждении проекта частной фармакопейной статьи;

- результаты анализа серии, позволяющие устанавливать критерии приемлемости с учетом постоянства производства; результаты предоставляются производителем для типовых серий и проверяются не менее чем на 3 сериях при разработке частной фармакопейной статьи.

Все решения по критериям приемлемости примесей должны основываться на реальном содержании примесей, за которое принимается значение после применения ПК для репрезентативных серий испытуемой субстанции.

Необходимо указывать название примеси и ее расположение на хроматограмме, если подлежащие информированию значения содержания примеси для серии испытуемой субстанции:

- выше допустимого предела для неспецифицированных примесей до введения поправки с переходом в область значений ниже этого предела после введения поправки (завышенное значение, $ПК < 1$) или
- ниже допустимого предела для неспецифицированных примесей до введения поправки с переходом в область значений выше этого предела после введения поправки (заниженное значение, $ПК > 1$).

Обычно значения ПК не приводят, если подлежащие информированию значения содержания примеси при испытаниях серийной продукции ниже допустимого предела для неспецифицированных примесей до введения поправки и ниже порога информирования (неучитываемый предел) после введения поправки.

В любом случае значения ПК от 0,8 до 1,25 (что соответствует коэффициентам чувствительности от 1,2 до 0,8) в частных фармакопейных статьях не приводят. Дополнительная информация относительно ПК приводится в части 2.5.8.2.б настоящего руководства.

Коэффициент чувствительности и ПК. В соответствии с положениями общей фармакопейной статьи *Хроматографические методы разделения*, относительный коэффициент чувствительности детектора, обычно называемый коэффициентом чувствительности, выражает чувствительность детектора для данного вещества относительно стандартного образца вещества. Величина ПК, указанная

в частной фармакопейной статье, является величиной, обратной коэффициенту чувствительности. Коэффициент чувствительности (RRF) можно вычислить по следующей формуле:

$$\text{RRF} = \frac{S_i}{S_s} \times \frac{C_s}{C_i}$$

где S_i – площадь пика примеси;

S_s – площадь пика испытуемого вещества;

C_s – концентрация испытуемого вещества в миллиграммах на миллилитр;

C_i – концентрация примеси в миллиграммах на миллилитр.

Для расчета допускается использование средних значений отношения площадей пиков во всем диапазоне линейности или отношения наклонов (тангенсов угла наклона) из соответствующих уравнений линейной регрессии.

Коэффициент чувствительности можно определить по приведенной выше формуле путем приготовления растворов определенных концентраций примеси и испытуемого вещества и последующего измерения с помощью метода ЖХ с УФ-детектором при заданной длине волны и скорости потока. Концентрация примеси и испытуемого вещества должна быть величиной одного порядка, а измерение должно проводиться с использованием калибровочной кривой, определенной по нескольким точкам около значения концентрации, которое соответствует критерию приемлемости для содержания примеси. Значения массы примеси и испытуемого вещества следует откорректировать с учетом чистоты. В идеальном случае хроматографическая чистота и содержание воды (растворителя) в примеси и испытуемом веществе должны быть определены заранее. Предварительное значение содержания примеси может быть определено по выражению:

Содержание примеси (%) =

$$= [100 - (\text{содержание воды} + \text{содержание растворителей})] \times \frac{\text{хроматографическая чистота (\%)}}{100}$$

Для малых количеств примеси следует выбирать подходящие методы, например, термогравиметрический анализ (ТГА),

кулонометрическое титрование для определения воды (растворителей) и ЖХ для оценки чистоты путем ввода концентрированного раствора примеси. Если имеющееся количество примеси слишком мало, могут использоваться значения, указанные в сертификате анализа.

Важно также рассмотреть форму (основание, кислота или соль) как примеси, так и испытуемого вещества и ввести дополнительный ПК для отношения молекулярных масс, если используемые для определения примесь и испытуемое вещество присутствуют в разных формах. Определение коэффициентов чувствительности предпочтительно проводить в 2 лабораториях по одному и тому же протоколу. При наличии разных типов детекторов, например, диодно-матричного детектора и детектора с переменной длиной волны, они также могут использоваться для измерения коэффициентов чувствительности.

Методы разделения. В задачу фармакопейного испытания на чистоту с использованием метода разделения обычно входит контроль примесей, полученных в одном или нескольких производственных процессах и путем разложения. Однако подбор экспериментальных условий для испытания, особенно для системы обнаружения, проводят так, чтобы не сделать их слишком узкими для данной области применения. Как правило, хроматографические испытания на чистоту могут быть наилучшим средством обеспечения общего скрининга органических примесей, полученных при использовании новых методов производства или случайном загрязнении. Целесообразно дополнить хроматографическое испытание другими хроматографическими или нехроматографическими испытаниями.

В соответствии с изложенным выше (раздел 2.4.8 настоящего руководства) хроматографическая система, применяемая для испытания на чистоту, в случае пригодности, может применяться также и для идентификации.

Как правило, репрезентативные хроматограммы, полученные при испытаниях на родственные примеси хроматографическим методом, не включают в частные фармакопейные статьи, но предоставляют в ФК Союза.

Если индивидуальная примесь не доступна в качестве стандартного образца или если в субстанции может быть обнаружено большое число разных примесей, предоставляют репрезентативную

хроматограмму с имеющимся в наличии стандартным образцом (например, испытуемой субстанции с добавленными примесями).

Частные фармакопейные статьи должны предоставлять достоверные средства обнаружения всех специфицированных примесей на хроматограмме. Идентификация неспецифицированных примесей необходима при использовании ПК. Пики могут быть идентифицированы с помощью:

- стандартных образцов каждой примеси;
- стандартного образца испытуемой субстанции, содержащей некоторые или все специфицированные примеси, и приложенной к нему хроматограммы.

Как правило, использование значений относительного удерживания для идентификации пиков не считают достаточным для фармакопейных целей, особенно для градиентного элюирования. При необходимости использования стандартного образца, содержащего смесь примесей, образец каждой специфицированной примеси должен быть предоставлен в ФК Союза для аттестации его как стандартного образца.

Как правило, величину относительного удерживания выражают с точностью до десятичного знака. Однако точность до сотого знака задают при необходимости указания порядка элюирования близко элюирующихся пиков.

Общие положения, применяемые к методам разделения:

- обычно используют высокие концентрации (навески), поскольку симметрия основного пика или форма пятна не имеют решающего значения при испытании на примеси при отсутствии мешающих факторов. При использовании внешнего стандарта в количественных определениях сигнал основного пика не обязательно должен находиться в линейном диапазоне детектора;
- при проведении общих испытаний на родственные примеси испытуемая субстанция не должна подвергаться химической модификации (например, дериватизации) перед проведением испытаний на чистоту, поскольку структура примесей может быть модифицирована;

- аналогично следует избегать экстракции свободного основания или кислоты перед проведением испытаний на примеси.

2.5.8.1. Тонкослойная хроматография

Методы ТСХ следует использовать только для контроля специфицированной примеси и в тех случаях, когда методы ЖХ, ГХ или КЭ неприемлемы (как правило, ввиду отсутствия подходящей системы детектирования).

Для этих целей должны использоваться доступные пластинки с предварительно обработанной поверхностью, описанные в общем разделе Фармакопеи Союза *Реактивы*; торговые наименования подходящих пластинок указывают в примечании к проекту частной фармакопейной статьи и предоставляют в ФК Союза после ее утверждения. В общем разделе Фармакопеи Союза *Реактивы*, помимо информации об используемом материале для покрытия пластинки (тип материала, тип связующего вещества), приводится методика проверки пригодности для *ТСХ-пластинки со слоем силикагеля Р*. В частной фармакопейной статье должны быть описаны тип пластинки и требования к пригодности системы. Вещества, наиболее подходящие для испытания пригодности системы, часто оказываются труднодоступными в индивидуальном виде; в этих случаях рекомендуется использование образца испытуемой субстанции, содержащего эти вещества в качестве примесей, или даже образца субстанции с преднамеренно добавленной примесью. Допустимые отклонения хроматографических характеристик приводятся в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*.

При необходимости предварительной обработки пластинок или хроматографирования в условиях ненасыщенности для удовлетворительного проведения испытания данные указания включают в частную фармакопейную статью (особенно для пластинок с обращенной фазой).

Одно или несколько разведений испытуемой субстанции часто оказываются достаточными для сравнения при условии, что сравниваемые примеси проявляют сходное поведение в выбранных хроматографических условиях. Это означает, что сравниваемые зоны

адсорбции (пятна) должны быть достаточно близкими по значению R_F , чтобы минимизировать ошибки, возникающие при различной диффузии веществ во время их миграции. В противном случае используют растворы сравнения, содержащие специфицированные примеси. Необходимо инструктировать аналитика о возможности не учитывать зону адсорбции (пятно), оставшееся на линии старта, что часто происходит вследствие неспособности противоиона соли к миграции.

Суммирование аналитических сигналов, происходящих от каждой отдельной зоны адсорбции (пятна), возможно лишь при указании соответствующего оборудования. Не рекомендуется устанавливать предел (пределы) концентрации примесей без ограничения их числа, в противном случае теоретическое значение общего содержания примесей будет неприемлемо высоким. Этому положению можно избежать путем ограничения содержания примесей на двух или более уровнях, позволяя только определенному числу примесей находиться на уровне выше верхней границы, а остальным – на уровне ниже нижней границы. В качестве примеров требований испытания могут указываться следующие:

- ни одна примесь не может превышать относительную концентрацию 1 % и лишь одна примесь может быть более 0,25 %, или
- ни одна примесь не может превышать относительную концентрацию 1 %, только одна примесь может быть более 0,5 % и не более четырех примесей – более 0,25 %.

2.5.8.2. Жидкостная хроматография

Определение подходящей хроматографической системы часто является одной из основных проблем, требующих решения при разработке фармакопейного испытания на чистоту на основе хроматографического разделения. В ЖХ проблема еще более усложняется наличием многочисленных вариантов неподвижных фаз, особенно среди химически связанных материалов с обращенной фазой, для которых существуют различия не только между производителями, но иногда и между сериями одного производителя, способные влиять на данное разделение. Как только найден тип неподвижной фазы,

показывающий удовлетворительное разделение, должны быть определены следующие характеристики:

- тип частиц (сферической или неправильной формы);
- размер частиц;
- удельная площадь поверхности ($\text{м}^2/\text{г}$);
- размер пор (нм).

При использовании колонок с обращенной фазой приводят также степень связывания активных центров, например, содержание углерода (%), и эндкепирование или же любую другую обработку для инактивации остаточных силанольных групп, что особенно важно при испытаниях субстанций основного характера и при риске образования размытых пиков. Торговые наименования неподвижной фазы (фаз) или колонки (колонок), оказавшихся подходящими при разработке частной фармакопейной статьи, указывают в примечании к проекту частной фармакопейной статьи и предоставляют в ФК Союза после ее утверждения.

При описании хроматографической системы следует привести размеры колонки (длина и внутренний диаметр), характер неподвижной фазы (как подробно описано выше), включая любые этапы ее подготовки или предварительной обработки, состав и скорость потока подвижной фазы, включая программу элюирования (при наличии), температуру колонки и автоматического пробоотборника (при отличии от комнатной температуры или, особенно, при термостатировании), метод ввода проб (если это важно), объем введенной пробы и метод детектирования.

В зависимости от выбранной длины волны детектирования аналитик должен выбрать подходящую квалификацию растворителя при подготовке подвижной фазы. В таблице 5 представлены рекомендации для наиболее часто используемых растворителей (метанол и ацетонитрил). При выборе воды в качестве компонента подвижной фазы следует использовать *воду для хроматографии Р*.

Допустимые отклонения хроматографических характеристик приводятся в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*.

Испытуемые растворы и растворы сравнения, по возможности, готовят с использованием подвижной фазы в качестве растворителя для минимизации несоответствия пиков.

Таблица 5. Квалификация часто используемых растворителей в зависимости от длины волны детектирования

Интервалы длин волн (нм)	Квалификация ацетонитрила	Квалификация метанола
$\lambda \geq 250$	<i>Ацетонитрил P</i>	<i>Метанол P</i>
$220 \geq \lambda < 250$	<i>Ацетонитрил для хроматографии P</i>	<i>Метанол P1</i>
$\lambda < 220$	<i>Ацетонитрил P1</i>	<i>Метанол P2</i>

Поскольку многие активные фармацевтические субстанции синтезируют разными путями, перечень потенциальных примесей, подлежащих ограничению, может быть большим, в связи с чем проблема их аналитического разделения становится чрезвычайно сложной. Для устойчивости и воспроизводимости фармакопейной методики предпочтительным при ее разработке является изократическое элюирование. Однако изократические методы ЖХ могут быть недостаточно селективными, поэтому возрастает потребность в использовании градиентных методов.

При описании градиентной системы должны быть четко приведены все необходимые характеристики, например, состав подвижных фаз, условия равновесия, условия градиента (линейные или ступенчатые) и т. д. Как правило, в частных фармакопейных статьях не указывают способ возврата к исходным условиям ввиду специфичности каждого измерения. Если данная информация имеет важное значение (например, в ионообменной хроматографии), ее приводят в виде примечания в проекте частной фармакопейной статьи и в дальнейшем предоставляют в ФК Союза.

Для градиентного элюирования в ЖХ важным параметром, который следует учитывать, является объем между камерой для смешивания растворителя и верхней частью колонки. Этот объем называют объемом градиентной задержки D (другие используемые термины: объем задержки эффективной системы, мертвый объем и

объем задержки). Объем задержки зависит от конфигураций насосной системы, включая размеры капиллярной трубки, смесительной камеры для растворителя и инъекционной петли. Большие различия в объеме задержки из одной насосной системы в другую приводят к различиям в элюировании пиков. Наибольшее влияние различных объемов задержки на время удерживания проявляется в случае субстанций, которые удерживаются незначительно. Таким образом, градиентные системы должны разрабатываться с начальной изократической фазой, так чтобы определяемые вещества не элюировались слишком близко к пику ввода образца, что позволяет скорректировать значительные различия в объеме задержки из одной градиентной насосной системы в другую. Объем задержки насосной системы, используемой для разработки методики, должен быть равен или меньше 1,0 мл. Если методика разработана с использованием системы с объемом задержки более 1,0 мл, существенным является наличие подходящего начального изократического режима. При разработке методики необходимо указывать объем задержки для прибора, используемого в экспериментальной работе. Этот объем задержки указывают в примечании к проекту частной фармакопейной статьи и предоставляют в ФК Союза после ее утверждения. Методика определения объема задержки приводится в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*.

2.5.8.2.a. Критерии пригодности системы

В испытание должны быть включены один или более критериев пригодности системы. Применимы также требования, изложенные в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*.

Селективная способность. Данный критерий необходим при использовании методов разделения для количественных определений и испытаний на родственные примеси. Для проверки пригодности системы на селективность приемлемы подходы, большинство из которых требуют разделения или частичного разделения критической пары. К ним относятся следующие:

- **разрешение.** Рассчитывают по формуле, приведенной в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы*

разделения с использованием двух близко элюирующихся пиков. В тех случаях, если присутствует несколько близко элюирующихся примесей, может быть целесообразным описать более чем одно требование к разрешению. Тем не менее, если времена удерживания двух пиков сильно различаются, т.е. если разрешение велико ($> 5,0$), его использование в качестве критерия эффективности имеет небольшое значение. Предпочтительно использовать другую примесь или другое вещество, химически родственное испытуемому веществу, что дает меньшее разрешение. Для расчета разрешения могут использоваться пики разной высоты при условии, что детектор не насыщен;

- **отношение «пик/впадина».** Используют, если полное разделение между двумя близкими пиками не может быть достигнуто, то есть при значении коэффициента разрешения менее 1,5. Минимальный предел для отношения «пик/впадина» должен составлять не менее 1,5. Часто необходимо даже более четкое разделение для обеспечения значимой интеграции пиков примесей.

Деградация *in situ*, вызванная окислением, гидролизом, термической цис-транс-изомеризацией или замыканием в кольцевую структуру, представляет собой альтернативный подход для определения пригодности системы при условии, что раствор субстанции может деградировать при умеренных стрессовых условиях в течение достаточно короткого времени с образованием продуктов разложения, пики которых могут использоваться для определения разрешения или отношения «пик/впадина». Указанный подход может оказаться целесообразным для отказа от использования стандартных образцов примесей.

Для определения пригодности системы можно также использовать хроматограмму субстанции с добавленной в нее примесью или неочищенной субстанции. Такой подход может использоваться, когда трудно выделить примесь, элюирующуюся вблизи основного пика, в достаточном количестве для аттестации ее в качестве стандартного образца. В этом случае хроматограмма может прилагаться к стандартному образцу (для пригодности системы или для

идентификации пика) или описываться в тексте испытания на родственные примеси. Такие хроматограммы не приводят в частных фармакопейных статьях, но сохраняют в ФК Союза.

Использование субстанции с добавленной в нее примесью или неочищенной субстанции требует приобретения достаточного количества материала для аттестации стандартного образца и применения его в перспективе, замены материала при проверке на пригодность системы на другой материал с теми же характеристиками.

Для определения эффективности системы может быть выбран расчет величины разрешения и отношения «пик/впадина», и такое же требование должно быть включено при использовании стандартного образца химического вещества на основе добавленной примеси или неочищенной субстанции. При описании градиентного элюирования предпочтительно приводить требование к пригодности системы для каждого критического этапа градиента.

Следует отметить, что значения времен удерживания или относительного удерживания включают только для идентификации пиков, но не для использования в качестве альтернативных критериев пригодности системы.

Чувствительность. Неучитываемый предел и порог информирования предназначены для использования в качестве следующих критериев:

- критерия принятия решения пользователем о включении площади пика примеси или площади ее пика, умноженной на величину ПК, в сумму всех примесей;
- общего критерия для пользователя об установлении соответствия его фактической хроматографической системы требованиям общей фармакопейной статьи *Хроматографические методы разделения* (отношение «сигнал/шум» (S/N) должно быть не менее 10 для неучитываемого предела или порога информирования).

Неучитываемый предел для примесей в субстанциях, описываемых частной фармакопейной статьей, обычно устанавливают в соответствии с порогом информирования, приведенным в общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения*, указывая, как правило, соответствующий раствор

сравнения в частной фармакопейной статье. Если указаны допустимые пределы содержания для нескольких примесей и суммы примесей, порог информирования должен быть включен в испытание на родственные примеси. Указанный порог способствует компенсации различий в чувствительности, которые могут наблюдаться при использовании разных аналитических систем. В случае ограничения содержания только одной примеси включение порога информирования нецелесообразно (только внешняя стандартизация).

Для специфицированных примесей с ПК более 1,25 (т.е. коэффициенты чувствительности менее 0,8) пик должен подлежать количественной оценке не только на уровне его допустимого предела, но и ниже неучитываемого предела и порога информирования. Последнее представляется важным для определения общего содержания примесей. Поэтому в случае неприменимости общего требования, когда отношение S/N равно 10, для такой примеси может потребоваться конкретный критерий чувствительности.

Пример 1. Примесь X контролируется на уровне 0,15 % с ПК 5 и общим неучитываемым пределом 0,05 %. Для рассматриваемой примеси X чувствительность методики достаточна, если:

(1) отношение S/N с минимальным значением 10 получают с 0,05 % (относительно испытуемого раствора) раствором примеси X, если примесь X доступна в виде реактива или химического стандартного образца или

(2) отношение S/N с минимальным значением 50 получают с 0,05 % раствором активной субстанции, если примесь X не доступна.

Вариант (2) предпочтительнее только при ограниченных количествах отдельной примеси и значении ПК специфицированной примеси не более 5. В случае варианта (2), поскольку ПК примеси находится между значениями 1,25 и 5 (т.е. коэффициент чувствительности составляет от 0,8 до 0,2) и для количественной оценки используется разведение испытуемого раствора, рекомендуется проверять чувствительность методики в процессе ее валидации. Отношение S/N пика примеси на уровне порога информирования должно быть не менее 10 для количественной оценки. Для учета различной чувствительности применяемого прибора минимальное значение отношения S/N должно указываться в частных фармакопейных статьях, где наблюдаемое отношение S/N пика

примеси не превышает 50 на уровне порога информирования. Приведенное требование для отношения S/N должно быть не менее чем в 10 раз больше значения ПК (например, если ПК равен 4, требование для отношения S/N должно быть не менее 40).

Пример 1.1. Розувастатин кальция: примесь С, ПК 1,4, допустимый предел 0,8 %, порог информирования 0,05%, количественная оценка при разведении 0,2 % испытуемого раствора (раствор сравнения (б)).

S/N примеси С на уровне порога информирования составляет 55 (минимальное требование 10 для количественной оценки, минимальное значение 50 для учета чувствительности различных приборов);

S/N основного пика раствора сравнения (б) составляет 361, то есть 90 на уровне порога информирования 0,05 %.

Вывод: методика обладает высокой чувствительностью, что не требует указания минимального значения отношения S/N в частной фармакопейной статье.

Пример 1.2. Корректопролол (теоретический случай): примесь А, ПК 2,2, допустимый предел 0,2 %, порог информирования 0,05 %, количественная оценка при разведении 0,1 % испытуемого раствора (раствор сравнения (б)).

S/N примеси А на уровне порога информирования составляет 35 (минимальное требование 10 для количественной оценки, минимальное значение 50 для учета чувствительности различных приборов);

S/N основного пика раствора сравнения (б) составляет 154, т.е. на уровне порога информирования 0,05 % (минимальное значение $2,2 \times 10 = 22$).

Вывод: методика обладает достаточной чувствительностью, однако при использовании менее чувствительного прибора минимальные требования могут не выполняться; рекомендуется включить в частную фармакопейную статью минимальное требование к отношению S/N , равное 44, для раствора сравнения (б).

Повторяемость. В ЖХ с УФ-детектированием принято считать, что относительное стандартное отклонение сигнала пика при трех вводах раствора сравнения, соответствующего концентрации испытуемого раствора 0,1 %, не должно превышать 5,0 %.

2.5.8.2.б. Количественная оценка

Количественная оценка необходима для установления пределов, применяемых к специфицированным примесям, неспецифицированным примесям и сумме примесей. Такая оценка проводится с использованием чаще всего методом внешнего стандарта и реже – методом нормализации.

Метод внешнего стандарта. Разведение испытуемого раствора или испытуемой субстанции проводят, если не существует значительной разницы в чувствительности детектора в отношении специфицированной (или, в исключительном случае, неспецифицированной) примеси, что требует применения конкретного внешнего стандарта. В качестве внешнего стандарта может использоваться:

- раствор примеси, обычно в виде стандартного образца (предпочтительный вариант);
- раствор испытуемой субстанции, содержащей известное количество примеси.

При использовании разбавленного раствора испытуемой субстанции в качестве внешнего стандарта эксперт должен определить значения ПК для примесей, приведенных в фармакопейных статьях, если только они находятся за пределами диапазона от 0,8 до 1,25 и считаются релевантными с учетом результатов анализа серии (раздел 2.5.8 настоящего руководства). Значения ПК обычно указывают только с точностью до первого десятичного знака.

Рекомендуется не применять значения ПК более 5 для специфицированных примесей и использовать по возможности в этих случаях внешние стандарты.

При контроле конкретных примесей для учета различных сигналов можно использовать длину волны, отличающуюся от длины волны, при которой отсутствует сигнал. Принято, что испытуемый раствор и раствор сравнения регистрируют при той же длине волны, при отсутствии других указаний.

Критерии приемлемости в испытаниях на родственные примеси могут выражаться одним из следующих способов:

- сравнение площадей пиков примесей (сравнительный подход);
- использование численного значения предельного содержания примесей (количественный подход), являющееся более предпочтительным.

На основе требований общей фармакопейной статьи *Субстанции для фармацевтического применения*:

- в частных фармакопейных статьях, использующих сравнительный подход, обычно устанавливают неучитываемый предел относительно разбавленного испытуемого раствора;
- в частных фармакопейных статьях, использующих количественный подход, определяют порог информирования.

Метод нормализации. Количественная оценка методом нормализации площади требует, чтобы все растворенные вещества были известны, элюированы и детектированы, предпочтительно с одинаковыми коэффициентами чувствительности, и чтобы сигнал детектора изменялся линейно примерно до 120 % используемых концентраций. Линейность должна быть подтверждена при валидации методики.

В соответствии с указаниями общей фармакопейной статьи *Хроматографические методы разделения* пики растворителей и реактивов, пики, возникающие от подвижной фазы или образца матрицы, а также пики, соответствующие уровню или ниже порога информирования, исключают перед расчетом содержания вещества в процентах методом нормализации. Для определения порога информирования указывают дополнительный раствор сравнения. В частной фармакопейной статье приводят соответствующее численное значение.

2.5.8.3. Газовая хроматография

При определении подходящей хроматографической системы в испытаниях на чистоту в ГХ встречаются те же сложности, что и в ЖХ, хотя особое внимание должно быть уделено другим факторам. Поэтому отдельные детали эксперимента, описанные в фармакопейном испытании, необходимо также представить в виде примера, что

позволяло бы изменять хроматографические параметры для достижения требуемой эффективности. Необходимо в общем виде привести также характеристику неподвижной фазы, то есть состав материала покрытия (включая его концентрацию) и инертный носитель (включая размер частиц и любую предварительную обработку). Однако более подробные и тщательно описанные сведения должны быть предоставлены в ФК Союза после утверждения частной фармакопейной статьи.

При описании хроматографической системы должны быть указаны, по существу, те же факторы, которые указаны в ЖХ с соответствующими изменениями, например, режим программирования температуры (при наличии) вместо программы градиентного элюирования, температуры блока ввода проб и детектора и т. д. Нецелесообразно использование набивных колонок. Допустимые отклонения различных параметров приводятся в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*.

Для обеспечения устойчивости (робастности) и воспроизводимости предпочтительны изотермические рабочие условия. Количественная оценка обычно основана на методах внутреннего стандарта или нормализации площади. В данном случае применяют те же требования к установлению пределов для суммирования сигналов пиков, что и для ЖХ.

Для выражения критериев приемлемости используют подходы, описанные в разделе 2.5.8.2 настоящего руководства для ЖХ. При использовании капиллярных колонок значение разрешения принимают более 5.

2.5.8.4. Капиллярный электрофорез

Метод КЭ все чаще используется для разделения и контроля большого числа примесей со значительно различающимися полярностями. Он подходит также для контроля содержания нежелательного энантиомера в хиральных субстанциях для фармацевтического применения. При разделении в капиллярной кварцевой колонке проблема различия в эффективности хроматографирования вследствие разных неподвижных фаз, возникающая в обращенно-фазовой ЖХ, исключается.

Во время разделения в результате эффекта Джоуля происходит нагревание, в связи с чем для получения удовлетворительной воспроизводимости поддерживают определенную температуру с помощью термостата; для приборов без термостата следует использовать низкое напряжение.

На предел обнаружения отрицательно влияют малый объем вводимой пробы и малая длина пробега в капилляре даже при использовании методик концентрирования. При контроле примесей или количественном определении рекомендуется использование метода внутреннего стандарта для достижения соответствующей прецизионности. Рекомендации по использованию этого метода аналогичны ранее представленным для ЖХ.

Для хирального анализа в рабочий буферный раствор добавляют хиральный реактив. Хиральный реактив следует подробно описать в частной фармакопейной статье, особенно при использовании в качестве реактива производных циклодекстрина. Поскольку у многих производных циклодекстрина замещение происходит случайным образом, важно указать точную или среднюю степень и место замещения. При валидации методики следует использовать несколько серий производного циклодекстрина.

При включении в частную фармакопейную статью следует учитывать следующие экспериментальные характеристики:

- инструментальные параметры: напряжение, полярность, температура, размер капилляра (диаметр и длина – общая и эффективная – до детектора);
- материал покрытия капилляра (если применимо);
- буферный раствор: рН, молярная концентрация, состав;
- образец растворителя;
- разделение: полюсный выход, напряжение (U), ток (I);
- ввод пробы: время (t), напряжение (U) для электрокинетического ввода или разность давлений Δp для гидродинамического ввода;
- детектирование: длина волны, прибор;
- температура;
- срок хранения растворов;

- процедуры промывки (время, реактивы, Δp), необходимые для стабилизации времени миграции и разрешения пиков:
 - а) предварительная обработка нового капилляра;
 - б) предварительная обработка капилляра перед проведением серии измерений;
 - в) между измерениями.

Дополнительно приводят следующие сведения, которые предоставляются в ФК Союза после утверждения частной фармакопейной статьи:

- торговое наименование капилляра, использованное при разработке частной фармакопейной статьи (в случае капилляра с покрытием);
- торговое наименование хирального реактива (циклодекстрина или другого), использованное при разработке частной фармакопейной статьи для хирального разделения.

Для минимизации сигнала электроосмотического потока испытуемые растворы и растворы сравнения, по возможности, готовят с использованием в качестве растворителя воды для инъекций или рабочего буферного раствора.

2.5.9. Легко обугливающиеся (окисляемые) вещества

Значение данного неспецифического испытания значительно уменьшилось благодаря внедрению хроматографических методов, обеспечивающих дополнительную информацию об органических примесях. Основным преимуществом испытания на легко обугливающиеся (окисляемые) вещества является его высокая чувствительность, при необходимости. С другой стороны, практика показала, что примеси, окрашивающиеся в условиях испытания, зачастую в одинаковой степени проявляют себя в испытаниях на интенсивность окрашивания в обычном водном или спиртовом растворах, что позволяет в таких случаях исключить ненужное дублирование.

Если при разработке частной фармакопейной статьи установлена возможность присутствия примесей, не определяемых другими

испытаниями, проводят испытание и, если приемлемо, включают его в частную фармакопейную статью.

2.5.10. Посторонние анионы и (или) катионы

Поскольку сильные неорганические кислоты и основания широко используются в синтезе, содержание посторонних анионов и (или) катионов в субстанции может указывать на степень ее очистки. Их присутствие позволяет выявить загрязнение субстанции родственными примесями. С другой стороны, обычно примеси ионов часто удаляются из плохо растворимых в воде субстанций путем обработки водой без необходимости удаления органических примесей. Поэтому испытания на анионы и катионы не могут заменить испытание на родственные примеси в органических субстанциях, но они могут использоваться в качестве дополнительных испытаний водорастворимых органических субстанций. Для неорганических субстанций, обычно получаемых из других неорганических субстанций, необходимо предусмотреть гораздо более широкий диапазон испытаний на посторонние ионы.

При введении испытаний на посторонние анионы для органических субстанций, как правило, достаточным является одно из них – испытание на хлориды, или сульфаты, или реже на нитраты, даже если теоретически может присутствовать несколько посторонних анионов. В таком случае должно проводиться испытание на наиболее распространенный анион. В случае хлоридов с содержанием до 1000 ppm (0,10 %) предпочтительным считают испытание на предельное содержание, но не титрование.

Содержание некоторых катионов должно быть строго ограничено ввиду их токсичности или каталитической активности. Их испытания проводят отдельно, как описано в разделе 2.5.11 настоящего руководства. При отсутствии особых причин для ограничения содержания катионов, индивидуально или в узких группах, в органических субстанциях, большинство из них удовлетворительно контролируют путем определения сульфатной золы (раздел 2.5.18 настоящего руководства).

2.5.11. Тяжелые металлы – примеси элементов

Испытание на тяжелые металлы не включают в частные фармакопейные статьи на лекарственные средства для медицинского и ветеринарного применения. Испытание на тяжелые металлы заменяют испытаниями на примеси элементов.

Примеси элементов и методы их определения в лекарственных средствах рассматриваются в общей фармакопейной статье *Примеси элементов* и общей фармакопейной статье *Определение примесей элементов*.

Перекрестные ссылки на указанные общие фармакопейные статьи приводятся в общих фармакопейных статьях *Субстанции для фармацевтического применения* и *Лекарственные препараты*.

Для субстанций, предназначенных только для ветеринарного применения, испытание на примеси элементов указывают в документе, прилагаемом к упаковке производителя, а в последующем – и в соответствующей частной фармакопейной статье.

2.5.12. Потеря в массе при высушивании

Испытание на потерю в массе при высушивании распространяется на определение как воды, так и других веществ, проявляющих свойство летучести при указанной температуре высушивания.

Как правило, приводят только верхний предел потери в массе при высушивании. Если субстанция является гидратом (или сольватом), указывают верхний и нижний пределы. Высушивание проводят до постоянной массы, если в частной фармакопейной статье не определено время высушивания. Если время высушивания указано, должны быть предоставлены соответствующие результаты валидации. Если температура высушивания выражена одним значением, допускается отклонение ± 2 °C. При температурах выше 105 °C, при необходимости, в частной фармакопейной статье следует указывать большее отклонение. Температура 105 °C является наиболее подходящей для данного испытания.

В общей фармакопейной статье *Потеря в массе при высушивании* приводится 2 способа определения, первый из которых основан на высушивании испытуемого образца в сушильном шкафу, а другой – на

высушивании над фосфора пентоксидом (P_2O_5). Высушивание в сушильном шкафу (способ 1) предпочтительно выполняют при температуре $105\text{ }^\circ\text{C}$ с допустимым отклонением $\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$. Использование фосфора пентоксида в качестве осушителя (способ 2) может выполняться при трех условиях:

а) в эксикаторе при атмосферном давлении и комнатной температуре;

б) в вакууме при давлении от 1,5 кПа до 2,5 кПа и комнатной температуре или температуре, указанной в частной фармакопейной статье или нормативном документе по качеству;

в) в высоком вакууме при давлении не более 0,1 кПа и температуре, указанной в частной фармакопейной статье или нормативном документе по качеству.

При проведении испытания в других условиях их полностью описывают в частной фармакопейной статье. Несмотря на то, что фосфора пентоксид является традиционно используемым осушителем, при разработке частной фармакопейной статьи вследствие его токсичности рекомендуется подбор альтернативного осушающего средства (например, молекулярное сито 0,5 нм).

Пределы ниже 10 % должны быть выражены с точностью до 2 значащих цифр, а пределы, равные 10 % или более – до 3 значащих цифр. Размер образца подбирают так, чтобы получить разницу от 5 мг до 50 мг перед (или после) высушиванием и выражают его массу с точностью до 4 значащих цифр.

Испытание может быть проведено с помощью полумикроаналитических весов, что соответственно требует указания точности взвешивания испытуемого образца.

Способ 1 является более предпочтительным в случае достаточной стабильности образца при $105\text{ }^\circ\text{C}$. В противном случае обычно применяют способ 2 при условии «б». Тем не менее, необходимо иметь в виду, что органические растворители не всегда легко удаляются при высушивании (например, органические растворители в колхицине).

2.5.13. Термогравиметрия

Определение потери в массе при высушивании может проводиться данным методом при необходимости использования ограниченного

количества субстанции, например, для уменьшения воздействия на аналитика вследствие ее токсичности или высокой стоимости (например, винкристина сульфат, винбластин сульфат).

2.5.14. Определение воды полумикрометодом (потенциометрический метод К. Фишера)

Для определения воды полумикрометодом в настоящее время вместо *йодсернистого реактива Р* используют доступные реактивы без пиридина; стехиометрический состав и отсутствие мешающих определению факторов должны быть проверены (данные могут предоставляться поставщиком реактива для испытуемой субстанции).

Торговое наименование титранта, используемого при разработке частной фармакопейной статьи, следует указывать в примечании в частной фармакопейной статье, которое должно быть предоставлено в ФК Союза после ее утверждения.

Допустимые пределы ниже 10 % должны быть выражены с точностью до 2 значащих цифр, а пределы, равные 10 % или более – до 3 значащих цифр. Если содержание воды составляет менее 0,5 %, рекомендуется проводить микроопределение воды. Размер образца выбирают так, чтобы объем титранта составлял около 1 мл, а его значение выражают с точностью до 3 значащих цифр.

В случае гидратов с точно известным составом допустимое содержание воды выражают в виде диапазона, а для гидратов, содержащих переменное количество воды, обычно указывают максимально допустимое содержание воды. При идентификации более одной формы гидратов перекрестную ссылку на данное испытание указывают в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи.

2.5.15. Определение воды микрометодом (кулонометрический метод К. Фишера)

В Фармакопее Союза не приводится подробное описание состава электролита (анолита и католита), используемого в качестве реактива, так как почти все лаборатории используют доступные готовые реактивы.

Торговые наименования электролитов, используемых при разработке частной фармакопейной статьи, следует указывать в примечании к частной фармакопейной статье, которое должно быть предоставлено в ФК Союза после ее утверждения.

В частной фармакопейной статье должен быть описан метод приготовления образца. Необходимо указать растворитель и объем, если для растворения используют безводный растворитель. При применении метода, предусматривающего использование специального оборудования для количественного извлечения воды, указывают температуру процесса. Информация о времени процесса, выбранном газе и скорости потока газа предоставляется в ФК Союза. Прямое введение твердого вещества в реакционный сосуд должно проводиться только в исключительных случаях, например, если не найден подходящий растворитель или происходит деградация вещества при нагревании.

Допустимые пределы должны быть выражены с точностью до 2 значащих цифр. В случае гидратов с точно известным составом допустимое содержание воды выражают в виде диапазона, а для гидратов, содержащих переменное количество воды, обычно указывают максимально допустимое содержание воды. При идентификации более одной формы гидратов перекрестную ссылку на данное испытание указывают в разделе *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи.

Обычно выбирают величину навески таким образом, чтобы содержание воды в ней составляло от 100 мкг до 10 мг. Титрование при количествах менее 10 мкг проводят только в том случае, если содержание воды очень низкое или размер образца ограничен стоимостью субстанции. Расчет основан на максимальном значении, указанном в частной фармакопейной статье. Величина навески должна быть указана с точностью до 3 значащих цифр.

2.5.16. Газохроматографический метод определения воды

Данный метод, основанный на детектировании по теплопроводности, также может применяться для определения воды.

2.5.17. Определение воды методом дистилляции

Данный метод используют, главным образом, для лекарственного растительного сырья. Метод применяют для количества субстанции, из которого выделяется от 2 мл до 3 мл воды.

2.5.18. Сульфатная зола

Данное испытание обычно предназначено для общего определения посторонних катионов, присутствующих в органических субстанциях и тех неорганических субстанциях, которые проявляют свойство летучести в условиях испытания. В связи с этим испытание не имеет существенного значения при использовании его в качестве требования к чистоте для большинства неорганических солей органических субстанций ввиду его низкой точности.

Допустимый предел на сульфатную золу обычно устанавливают на уровне 0,1 % при отсутствии другого обоснования. Количество субстанции, указанное для испытания, должно быть таким, чтобы остаток, соответствующий пределу, имел массу не менее 1,0 мг. В этом случае указанная навеска субстанции задается с соответствующей точностью (1,0 г).

Определение сульфатной золы во фторсодержащих субстанциях проводится с использованием платинового тигля.

2.5.19. Остаток при испарении

Количество жидкой субстанции, указанное для испытания, должно быть таким, чтобы остаток, соответствующий пределу, имел массу не менее 1,0 мг. Соответствующая навеска или объем субстанции обычно находятся в диапазоне от 10 г до 100 г (или мл).

2.5.20. Остаточные растворители

Контроль остаточных растворителей описывается в общей фармакопейной статье *Остаточные растворители* и общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения*.

Испытание на растворители класса 1 включают в частную фармакопейную статью при возможном их присутствии в зарегистрированном лекарственном препарате.

Испытания на растворители класса 2 не включают в частную фармакопейную статью, поскольку допустимый предел может устанавливаться с использованием способа 2, приведенного в общей фармакопейной статье *Остаточные растворители*, что позволяет учитывать все ингредиенты лекарственного препарата.

Испытание на растворители класса 3 включают при возможном их присутствии в зарегистрированном лекарственном препарате в количестве более 0,5 %.

2.5.21. Бактериальные эндотоксины

Если субстанция для фармацевтического применения используется в лекарственных формах, предназначенных для парентерального применения и орошения, она должна выдерживать испытание на бактериальные эндотоксины. Рекомендации по установлению допустимых пределов приведены в общей фармакопейной статье *Применение испытания на бактериальные эндотоксины*. Как правило, данное испытание не вводят в частные фармакопейные статьи, поскольку необходимость его проведения регламентируется общей фармакопейной статьей *Субстанции для фармацевтического применения*. Испытание включают лишь при необходимости описания особой методики, например, при особой подготовке образцов или применении особой методики испытания. Если испытание вводят в частную фармакопейную статью, допустимые пределы при этом не указывают.

При пересмотре частных фармакопейных статей решение об исключении испытания и (или) допустимого предела, принимают в каждом конкретном случае.

При разработке и, если применимо, пересмотре частных фармакопейных статей, проводят сбор и оценку данных для решения о включении особой методики подготовки образцов в частную фармакопейную статью или достаточности освещения вопроса о бактериальных эндотоксинах в общей фармакопейной статье *Субстанции для фармацевтического применения*. Эти данные

включают, но не ограничиваются результатами валидации испытания на бактериальные эндотоксины, результатами анализа серии и подтверждением отсутствия мешающего влияния субстанции на испытание.

В случае, если испытание на пирогенность заменено испытанием на бактериальные эндотоксины, решение о включении испытания в частную фармакопейную статью, должно быть основано на описанных выше положениях. Информацию о замене методик испытания предоставляют в ФК Союза.

2.6. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Количественное определение включают в соответствующий раздел частной фармакопейной статьи, кроме следующих случаев:

- если могут быть обнаружены все предполагаемые примеси, а их содержание ограничено с достаточной точностью и прецизионностью;
- если некоторые количественные испытания, аналогичные количественному определению, выполняются с достаточной точностью и прецизионностью (удельное оптическое вращение, удельный показатель поглощения и т. д.);
- если установлены специфические профили соответствующих субстанций, такие как состав фракции жирных кислот (общая фармакопейная статья *Определение состава жирных кислот методом газовой хроматографии*) или состав стериновой фракции жира или жирного масла (общая фармакопейная статья *Стерины в жирных маслах*);
- если проведенные испытания достаточны для определения качества субстанции, как правило, неактивной субстанции, например, этанола или воды.

В ряде случаев требуется более одного количественного определения:

- если испытуемая субстанция состоит из двух компонентов, которые необязательно присутствуют в точно определенных пропорциях, так что количественное определение только

одного из них не обеспечивает правильного выполнения количественного анализа субстанции как целого (например, теофиллин и этилендиамин);

- если результаты количественных испытаний не полностью отражают терапевтическую активность, что обосновывает включение в таких случаях количественного определения биологическими методами.

В случае солей с точно известным составом количественное определение только одного из ионов, предпочтительно фармакологически активного компонента, обычно считают достаточным. Редко возникает необходимость в определении всех ионов и, практически всегда считают излишним определение одного из них двумя методами, даже если они основаны на разных принципах.

Если идентификация и испытания на чистоту являются достаточно характеристическими, возможно проведение неспецифичного, но прецизионного количественного определения, вместо специфичного и менее прецизионного количественного определения.

Каждая предложенная методика количественного определения должна быть валидирована в соответствии с указаниями, приведенными для различных методик в разделе 3. *Валидация аналитических методик* настоящего руководства.

2.6.1. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях

Количественное определение методом спектрофотометрии может проводиться непосредственно в ультрафиолетовой или видимой области или после подходящей химической реакции, хотя последнее является менее точным и прецизионным методом. Как правило, предпочтение отдают другим методам. При разработке и последующем пересмотре частных фармакопейных статей количественные определения, основанные на УФ-спектрофотометрии, следует заменять на методы ЖХ или титриметрии.

2.6.1.1. Прямое измерение

Прямое измерение не является специфичным, но может иметь приемлемую точность и прецизионность. Обычно оно не требует использования стандартного образца вещества: поглощение раствора измеряют в максимуме поглощения при указанной длине волны, а содержание действующего вещества в испытуемой субстанции рассчитывают на основе удельного показателя поглощения, указанного в частной фармакопейной статье.

Значение удельного показателя поглощения должно быть проверено для новой субстанции. Производитель должен предоставить результаты валидации, подтверждающие приемлемость «истинного» значения. Предоставляемая информация включает, например, чистоту субстанции, используемой для определения этого значения. Приемлемость значения удельного показателя поглощения подтверждают с помощью нескольких методов, включая методы разделения, абсолютные методы, коэффициенты чувствительности для возможных примесей и т. д.

При использовании стандартного образца вещества содержание активной части рассчитывают путем сравнения поглощения испытуемого раствора с раствором стандартного образца вещества.

Подробное описание методики и оценка результатов освещаются в общей фармакопейной статье *Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях*.

2.6.1.2. Измерение после реакции окрашивания

Данное измерение проводят путем сравнения со стандартным образцом вещества. Результаты могут быть менее точными и менее прецизионными ввиду предварительной обработки образца.

2.6.2. Объемный анализ

При использовании стандартного прибора для титрования количество субстанции, используемое для количественного определения должно быть таким, чтобы расход титранта при окончательном титровании с помощью автоматического прибора

составлял менее 10 мл, предпочтительно от 7 мл до 8 мл. Кроме того, в случае обратного титрования фиксированный объем добавляемого первого титранта должен быть соответствующим, чтобы результат количественного определения не основывался на незначительной разнице объемов.

При необходимости должно быть указано проведение контрольных испытаний, если они не предусмотрены в соответствующей общей фармакопейной статье. Контрольное испытание можно не проводить, если состав среды, в которой стандартизирован титрованный раствор такой же, как и тот, в котором он должен использоваться.

В частной фармакопейной статье можно указать один из способов определения конечной точки титрования – потенциометрический или визуальный по изменению окраски индикатора. Потенциометрическое определение конечной точки титрования (общая фармакопейная статья *Потенциометрическое титрование*) применяют практически во всех случаях. По возможности не следует использовать визуальный способ определения. При потенциометрическом определении только при необходимости следует указывать в частной фармакопейной статье соответствующий индикаторный электрод, используемый для этой цели (специальный тип электрода). Необходимо приводить число точек перегиба, подлежащих оценке. В исключительных случаях могут применяться другие способы определения конечной точки титрования, например, амперометрический метод (общая фармакопейная статья *Амперометрическое титрование*). Независимо от используемого способа определения он должен быть воспроизводимым и предпочтительно стехиометрически точным. При визуальном способе определения изменение окраски указывают только в случае ее отличия от описанной в общем разделе Фармакопеи Союза *Реактивы*.

Для титрования солей-галогенидов органических оснований и некоторых субстанций четвертичного аммония рекомендуются следующие методы:

а) алкалиметрическое титрование в спиртовой среде (предпочтительное для потенциометрического титрования солей-галогенидов). При проведении алкалиметрического титрования может быть необходимым добавление 5 мл 0,01 М хлороводородной кислоты перед титрованием и измерение объема титранта, требуемого между

двумя точками перегиба. Однако целесообразно вначале проверить осуществимость титрования без добавления 0,01 М хлороводородной кислоты;

б) титрование хлорной кислотой. Образец растворяют в безводной уксусной кислоте перед добавлением уксусного ангидрида или смеси уксусного ангидрида и безводной муравьиной кислоты;

в) аргентометрическое титрование;

г) методы «а» (с добавлением 5 мл 0,01 М хлороводородной кислоты) и «б» часто подходят для субстанций, содержащих четвертичный аммоний.

2.6.3. Хроматография

Хроматографические методы, на которых основаны количественные определения, встречающиеся в фармакопейной практике, обычно ограничиваются методами ЖХ и ГХ. Рекомендации по применению ЖХ и ГХ для определения родственных примесей, содержащиеся в разделе 2.5.8 настоящего руководства, подходят также для разработки методик количественного определения. Рекомендуется использование внешнего стандарта в ЖХ и внутреннего стандарта в ГХ. Такие методы требуют применения химического стандартного образца, с помощью которого определяют содержание действующего вещества в испытуемой субстанции (раздел 1.7 настоящего руководства).

2.6.4. Определение азота после минерализации серной кислотой

Любая субстанция, подлежащая количественному определению данным методом, имеет время минерализации, установленное после определения профиля минерализации субстанции.

Профиль минерализации можно определить следующим способом. Несколько отдельно взвешенных частей указанного количества субстанции анализируют в соответствии с указаниями по данному методу испытания, изменяя время обычно до 120 мин, в течение которого реакционную смесь кипятят для очистки. По кривой зависимости полученного содержания азота от времени кипячения можно определить минимальное время минерализации, необходимое для получения постоянных значений. Если необходимое время

минерализации превышает 30 мин, его указывают в частной фармакопейной статье.

2.7. ХРАНЕНИЕ

Положения, приведенные в разделе *ХРАНЕНИЕ* частной фармакопейной статьи, не устанавливают фармакопейных требований. Однако для обеспечения качества фармакопейных материалов в процессе хранения, при необходимости, должны указываться соответствующие сведения.

В данном разделе частной фармакопейной статьи должны использоваться термины, приведенные в общем разделе Фармакопеи Союза *Общие сведения* и общем разделе Фармакопеи Союза *Упаковка*. Понятие «плотно закупоренный контейнер» не подразумевает защиту от потери или поглощения компонентов в газообразном состоянии. Для обозначения контейнера, предотвращающего это явление, используют термин «воздухонепроницаемый контейнер». Термин «герметично закупоренный контейнер» включает также понятие «контейнер с контролем первого вскрытия». Однако применение указанных терминов в обратном порядке не всегда является верным, то есть термин «контейнер с контролем первого вскрытия» не означает, что он является герметично закупоренным контейнером.

Рекомендации по хранению основаны на данных о стабильности, предоставленных производителями. При составлении рекомендаций, приводимых в частной фармакопейной статье, следует учитывать поведение материала под воздействием атмосферного воздуха, влаги, различных температур и актиничного света. Если субстанция описана в разделе *СВОЙСТВА* частной фармакопейной статьи как гигроскопичная, расплывающаяся или чувствительная к воздуху, рекомендуется использование термина «воздухонепроницаемый контейнер». Если известно, что субстанция чувствительна к актиничному свету, приводят указание «в защищенном от света месте».

В связи с изложенным выше необходимо понимать, что методика определения гигроскопичности, приведенная в общей фармакопейной статье *Раздел «Свойства» в частных фармакопейных статьях* не может использоваться для установления условий хранения. Этот быстрый способ определения гигроскопичности субстанции является

вспомогательным средством для аналитика в принятии надлежащих мер предосторожности при испытаниях субстанции в лабораторных условиях.

2.8. МАРКИРОВКА

Поскольку маркировка лекарственного средства в рамках Союза регламентируется нормативными правовыми актами Союза, указания, приведенные в разделе *МАРКИРОВКА* частной фармакопейной статьи, не являются исчерпывающими. Указания могут иметь характер как обязательных требований (необходимых для применения частных фармакопейных статей), так и рекомендаций. Как правило, для активных фармацевтических субстанций (активных ингредиентов) в виде нерасфасованной продукции требования данного раздела частной фармакопейной статьи, должны быть согласованы с требованиями других ее разделов. Например, если исходный материал соответствует дополнительным требованиям (стерильность и т. д.), на этикетке должно быть указано, в случае применимости, что содержимое упаковки пригодно для предполагаемых целей. Кроме того, если частной фармакопейной статьей регламентировано включение определенных стабилизаторов или других добавок, их присутствие, как правило, должно быть указано на этикетке.

2.9. ПРИМЕСИ

Частные фармакопейные статьи на органические химические субстанции должны включать раздел *ПРИМЕСИ*, в котором приводится описание примесей, обнаруживаемых указанными испытаниями и рассматриваемых ранее при определении критериев приемлемости для родственных примесей. Раздел содержит под названием «Специфицированные примеси» и «Другие обнаруживаемые примеси» сведения о всех специфицированных примесях, охватываемых частной фармакопейной статьей, и других обнаруживаемых примесях (примеси, которые обнаруживаются испытаниями, приведенными в частных фармакопейных статьях, но не встречаются в выпускаемых производственных сериях в количествах выше порога идентификации).

В разделе *ПРИМЕСИ* частной фармакопейной статьи приводят перечень примесей с указанием для каждой из них химической структуры и химического названия (основания или кислоты, в случае применимости). Примеси обозначают заглавной буквой (А, В, С, D и т. д.). Тривиальные названия могут указываться в круглых скобках, если их считают информативными.

Раздел *ПРИМЕСИ* частной фармакопейной статьи может также включать информацию об испытаниях на предельное содержание данной примеси, например, если они не относятся к испытаниям на родственные примеси (например, энантиомерная чистота) или в случае существования более одного испытания на родственные примеси.

2.10. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Частные фармакопейные статьи на вспомогательные вещества могут иметь раздел *ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ*. Вводная часть раздела содержит указание о необязательном статусе представленных положений. В разделе также приводится назначение вспомогательных веществ, которое определяется соответствующей ФХ.

В частной фармакопейной статье для ФХ вспомогательных веществ может приводиться:

- только название;
- название и рекомендуемый метод их определения, описанный в общих фармакопейных статьях Фармакопеи Союза;
- название, рекомендуемый метод их определения и типичные значения;
- название и перекрестная ссылка на испытание, приведенное в обязательной части частной фармакопейной статьи.

3. ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК

3.1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Вопросы данного раздела рассмотрены в общей фармакопейной статье *Валидация аналитических методик* Фармакопеи Союза и Руководстве по валидации аналитических методик проведения

испытаний лекарственных средств, утвержденном Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113.

В настоящем руководстве приведены характеристики, подлежащие оценке при валидации аналитических методик, включаемых в частные фармакопейные статьи на субстанции для фармацевтического применения и лекарственные препараты. Раздел 3.1 настоящего руководства содержит только перечень понятий и их определений и не является руководством по процедуре валидации аналитических методик.

Целью валидации аналитической методики является документированное подтверждение ее пригодности для предполагаемого применения. Валидационные характеристики, используемые в испытаниях для идентификации, контроль примесей и количественного определения приводятся в таблице 6.

3.1.1. Типы аналитических методик, подлежащих валидации

В разделе 3. *Валидация аналитических методик* настоящего руководства рассматриваются подходы к валидации наиболее распространенных типов аналитических методик:

- а) испытания для идентификации (подтверждение подлинности);
- б) испытания для количественного определения примесей;
- в) испытания на предельное содержание для контроля примесей;
- г) количественные испытания (содержание или активность) для определения активной части в испытуемых образцах активной фармацевтической субстанции, или лекарственного препарата, или другого выбранного компонента лекарственного препарата.

В данном разделе настоящего руководства не рассматривается валидация аналитических методик для иных видов испытаний, например, испытание на растворение или определение размера частиц (дисперсности) фармацевтической субстанции.

Виды испытаний, приведенные в данном разделе настоящего руководства, включают следующие:

- а) испытания для идентификации, которые заключаются, как правило, в сравнении свойства (например, спектральных характеристик, хроматографического поведения, химической активности и т.д.) испытуемого и стандартного образцов;

б) испытания на примеси (чистоту), которые делятся на испытание для определения их количественного содержания и испытание их предельного содержания в испытуемом образце. Перечисленные выше виды испытаний направлены на правильное описание показателей чистоты испытуемого образца. Требования к валидации методик количественного определения примесей отличаются от требований к валидации методик на предельное содержание примесей;

в) методики количественного определения, которые направлены на измерение содержания определяемого вещества в испытуемом образце. Под количественным определением понимают количественное измерение основных компонентов в субстанции для фармацевтического применения. Сходные валидационные параметры применимы в отношении количественного определения действующего вещества или других компонентов в лекарственном препарате. Те же валидационные параметры количественного определения также допускается использовать в других аналитических методиках (например, испытании на растворение).

3.1.2. Валидационные характеристики и требования

Назначение аналитических методик должно быть четко определено, так как от этого зависит выбор валидационных характеристик, которые должны быть оценены в ходе валидации. К типичным валидационным характеристикам, подлежащим оценке, относятся следующие:

- правильность или точность (accuracy, trueness);
- прецизионность (precision):
 - а) повторяемость (repeatability);
 - б) промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность (intermediate precision);
- специфичность (specificity);
- предел обнаружения (detection limit);
- предел количественного определения (quantitation limit);
- линейность (linearity);
- диапазон применения (аналитическая область) (range).

В таблице 6 перечислены наиболее важные валидационные характеристики различных типов аналитических методик. Данный

перечень следует рассматривать как типовой при валидации аналитических методик. Возможны исключения, требующие отдельного обоснования производителем лекарственного средства. Такая характеристика аналитической методики, как устойчивость (робастность), не приведена в таблице, но ее следует рассматривать на соответствующем этапе разработки аналитической методики.

Таблица 6. Валидационные характеристики различных типов аналитических методик

Валидационные характеристики	Тип аналитической методики			
	Испытания для идентификации	Испытания на примеси		Количественные испытания
		Количественное содержание	Предельное содержание	Растворение (только измерение). Содержание (активность)
Правильность	–	+	–	+
Прецизионность: повторяемость	–	+	–	+
промежуточная прецизионность	–	+*	–	+*
Специфичность **	+	+	+	+
Предел обнаружения	–	–***	+	–
Предел количественного определения	–	+	–	–
Линейность	–	+	–	+
Диапазон применения	–	+	–	+

Примечание:

«–» – данную характеристику не оценивают;

«+» – данную характеристику оценивают;

* – если определена воспроизводимость, определение промежуточной прецизионности не требуется;

** – недостаточная специфичность одной аналитической методики может быть компенсирована использованием одной или нескольких дополнительных аналитических методик;

*** – валидационная характеристика может потребоваться в некоторых случаях (например, когда предел обнаружения и нормируемый предел содержания определяемой примеси близки).

Повторная валидация (ревалидация) может быть необходима в следующих случаях (но не ограничивается ими):

- изменение схемы синтеза фармацевтической субстанции;
- изменение состава лекарственного препарата;
- изменение аналитической методики.

Повторная валидация может не проводиться, если производителем представлено соответствующее обоснование. Объем повторной валидации зависит от характера внесенных изменений.

3.1.3. Термины и определения

Для целей настоящего руководства используют понятия, которые означают следующее:

«аналитическая методика» (analytical procedure) – подробное описание проведения испытания. Аналитическая методика должна подробно описывать последовательность действий, необходимых для выполнения аналитического испытания, включая в себя описание подготовки испытуемых образцов, стандартных образцов, реактивов, использования оборудования, построения калибровочной кривой, используемых расчетных формул и т. д.;

«воспроизводимость» (reproducibility) – характеристика прецизионности в межлабораторных испытаниях;

«диапазон применения (аналитическая область)» (range) – интервал между наибольшей и наименьшей концентрациями (количеством) определяемого вещества в испытуемом образце (включая эти концентрации), для которого показано, что аналитическая методика имеет приемлемый уровень прецизионности, правильности и линейности;

«линейность» (linearity) – прямая пропорциональная зависимость аналитического сигнала от концентрации (количества) определяемого вещества в испытуемом образце в пределах диапазона применения (аналитической области) методики;

«открываемость (извлекаемость)» (recovery) – соотношение между полученным средним и истинным (опорным) значениями с учетом соответствующих доверительных интервалов;

«повторяемость» (repeatability) – характеристика прецизионности аналитической методики при выполнении повторных испытаний в

одинаковых рабочих условиях (например, одним и тем же аналитиком или группой аналитиков, на одном и том же оборудовании и с одними и теми же реактивами и т.д.) в течение короткого промежутка времени. Повторяемость также называют прецизионностью внутри методики (intra-assay precision);

«правильность (точность)» (accuracy, trueness) – характеристика близости между принятым истинным (опорным) значением и полученным значением. Правильность выражают величиной открываемости;

«предел количественного определения» (quantitation limit) – наименьшее количество вещества в испытуемом образце, которое можно количественно определить с соответствующей прецизионностью и правильностью. Предел количественного определения является необходимой валидационной характеристикой методик, используемых для определения низких содержаний веществ в испытуемом образце, в частности, для определения примесей и (или) продуктов деградации;

«предел обнаружения» (detection limit) – наименьшее количество определяемого вещества в испытуемом образце, которое может быть обнаружено, но не обязательно точно количественно определено;

«прецизионность» (precision) – характеристика близости (степени разброса) результатов (значений) между сериями измерений, проведенными на множестве проб, взятых из одной и той же однородной пробы, в указанных методикой условиях. Прецизионность устанавливают на 3 уровнях: повторяемость, промежуточная прецизионность и воспроизводимость. Прецизионность следует устанавливать с использованием однородных аутентичных образцов. В случае невозможности получения однородного образца допускается определение прецизионности с помощью искусственно приготовленных (модельных) образцов или раствора образца. Прецизионность аналитической методики, как правило, выражают величиной дисперсии, стандартного отклонения или коэффициента вариации серии измерений;

«промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность» (intermediate precision) – характеристика влияния вариаций внутри лаборатории (разные дни, разные аналитики, разное оборудование, разные серии (партии) реактивов и т. д.) на результаты испытаний отдельных идентичных образцов, отобранных из одной и той же серии;

«специфичность» (specificity) – способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество независимо от других веществ (примеси, продукты деградации, вспомогательные вещества, матрица (дисперсионная среда) и др.), присутствующих в испытуемом образце. Недостаточная специфичность одной аналитической методики может быть компенсирована использованием одной или нескольких дополнительных аналитических методик. Специфичность для различных видов испытаний означает следующее:

- в испытании для идентификации подтверждение того, что методика позволяет идентифицировать именно определяемое вещество;
- в испытании на чистоту подтверждение того, что методика позволяет правильно распознать примеси в испытуемом образце (например, испытание на родственные соединения, тяжелые металлы, содержание остаточных растворителей и т. д.);
- в количественных испытаниях подтверждение того, что методика позволяет установить содержание или активность именно определяемого вещества в испытуемом образце;

«устойчивость (робастность)» (robustness) – способность аналитической методики быть устойчивой к влиянию небольших задаваемых изменений в условиях выполнения испытания, которая указывает на ее надежность при обычном (стандартном) использовании.

3.2. МЕТОДОЛОГИЯ

В данном разделе настоящего руководства приводятся характеристики, учитываемые при валидации аналитических методик. Цель настоящего раздела состоит в предоставлении некоторых подходов и рекомендаций для установления различных валидационных характеристик каждой аналитической методики.

В некоторых случаях (например, доказательство специфичности) для обеспечения качества активной фармацевтической субстанции или лекарственного препарата может быть использовано сочетание нескольких аналитических методик. В настоящем руководстве приводятся данные, которые должны быть представлены как в

материалах по валидации фармакопейных методик, так и в регистрационном досье.

Необходимо представить и проанализировать все соответствующие данные, собранные в ходе валидации, и формулы, использованные для расчета валидационных характеристик.

Допускается использовать иные подходы, чем те, которые изложены в настоящем руководстве. За выбор процедуры и протокола валидации несет ответственность разработчик (заявитель). При этом основная цель валидации аналитической методики состоит в подтверждении пригодности аналитической методики для предполагаемого применения. Ввиду своей сложности подходы к аналитическим методикам для биологических и биотехнологических препаратов в некоторых случаях могут отличаться от подходов к аналитическим методикам, описанным в настоящем руководстве.

На протяжении всего исследования валидационных характеристик следует использовать хорошо охарактеризованные стандартные образцы с документированной чистотой. Необходимая степень чистоты зависит от целевого назначения.

В соответствии с основными положениями раздела 3.1 настоящего руководства в отдельных подразделах раздела 3.2 рассматриваются различные валидационные характеристики. Расположение подразделов раздела 3.2 настоящего руководства отражает ход процесса разработки и оценки аналитической методики.

Экспериментальную работу следует планировать таким образом, чтобы соответствующие валидационные характеристики изучить одновременно, получая надежные и полные данные о возможностях аналитической методики, например, специфичности, линейности, диапазоне применения, правильности и прецизионности.

3.2.1. Специфичность

Изучение специфичности необходимо осуществлять в ходе валидации испытаний для идентификации, на чистоту и количественное определение. Процедуры подтверждения специфичности зависят от предполагаемого применения аналитической методики.

Способ подтверждения специфичности зависит от задач, для решения которых предназначена данная аналитическая методика. Не во

всех случаях удается подтвердить, что аналитическая методика специфична в отношении данного определяемого вещества (полная избирательность). В этом случае рекомендуется использовать сочетание двух или более аналитических методик для достижения необходимого уровня избирательности.

3.2.1.1. Идентификация

Удовлетворительные испытания на идентификацию должны обладать способностью различать между собой близкие по структуре родственные соединения, которые могут присутствовать в испытуемом образце. Избирательность аналитической методики может быть подтверждена получением положительных результатов (возможно, путем сравнения с известным стандартным образцом) для образцов, содержащих определяемый компонент, и отрицательных результатов, полученных для образцов, не содержащих его.

Для подтверждения отсутствия ложноположительных результатов испытание для идентификации может быть проведено для веществ со сходной структурой или сопутствующих определяемому веществу. Выбор веществ, потенциально мешающих проведению испытания, должен быть обоснован.

3.2.1.2. Количественное определение и испытания на примеси

При подтверждении специфичности для аналитической методики с использованием метода хроматографического разделения следует представлять репрезентативные хроматограммы с надлежащим указанием индивидуальных компонентов. Необходимо использовать аналогичные подходы к другим методикам, основанным на разделении.

Критичные разделения в хроматографии подлежат изучению на соответствующем уровне. В случае критичных разделений должна быть установлена величина разрешения двух наиболее близко элюируемых компонентов.

При использовании неспецифичного метода количественного определения следует применять дополнительные аналитические методики и подтверждать специфичность всего комплекса методик. Например, при использовании метода титриметрии для

количественного определения действующего вещества можно его дополнить соответствующим испытанием на примеси.

Подход аналогичен как для количественного определения, так и для испытаний на примеси.

При наличии образцов примесей определение специфичности аналитической методики состоит в следующем:

- при количественном определении необходимо подтвердить избирательность определения действующего вещества в присутствии примесей и (или) других компонентов испытуемого образца. Практически это осуществляется добавлением к испытуемому образцу (активной фармацевтической субстанции или лекарственного препарата) примесей и (или) вспомогательных веществ в соответствующих количествах и доказательством отсутствия их влияния на результат количественного определения действующего вещества;
- при испытаниях на примеси специфичность может быть установлена добавлением к образцу активной фармацевтической субстанции или лекарственного препарата примесей в определенных количествах и доказательством разделения этих примесей друг от друга и (или) других компонентов испытуемого образца.

Если стандартные образцы примесей или продуктов деградации отсутствуют, специфичность можно подтвердить, сравнивая результаты испытаний образцов, содержащих примеси или продукты деградации, с результатами другой хорошо охарактеризованной методики, например, фармакопейной или иной валидированной (независимой) аналитической методикой. В соответствующих случаях они должны включать образцы, подвергшиеся хранению в определенных стрессовых условиях: свет, нагревание, влажность, кислотный (основной) гидролиз и окисление.

Целесообразны следующие подходы в сравнительных испытаниях:

- при количественном определении необходимо сравнить 2 результата;
- при испытаниях на примеси необходимо сравнить профили примесей.

Для доказательства соответствия пика определяемого вещества только одному компоненту целесообразно провести исследования на чистоту пиков (например, использование диодно-матричного детектирования, масс-спектрометрии).

3.2.2. Линейность

Линейную зависимость необходимо оценить в пределах всего диапазона применения аналитической методики (раздел 3.2.3 настоящего руководства). Ее можно подтвердить непосредственно на активной фармацевтической субстанции (путем разведения основного стандартного раствора) и (или) на отдельных навесках искусственных (модельных) смесей компонентов лекарственного препарата, используя предложенную методику. Последний аспект допускается изучить в ходе определения диапазона применения аналитической методики.

Линейность оценивают визуально по графику зависимости аналитического сигнала как функции концентрации или количества определяемого вещества. При наличии четкой линейной зависимости полученные результаты необходимо обработать подходящими статистическими методами, например, путем вычисления линии регрессии методом наименьших квадратов. В некоторых случаях для получения линейности между результатами количественного определения и концентрациями проб, до проведения регрессионного анализа требуется математическое преобразование результатов испытаний. Результаты анализа самой линии регрессии могут быть использованы для математической оценки степени линейности.

При отсутствии линейности результаты испытаний следует подвергнуть математическому преобразованию до проведения регрессионного анализа.

Для подтверждения линейности должны быть определены и представлены коэффициент корреляции или коэффициент детерминации, y -отсечение (отрезок, отсекаемый на оси ординат линией регрессии), наклон (тангенс угла наклона) линии регрессии и сумма квадратов отклонений (разности между измеренными значениями аналитического сигнала и рассчитанными его значениями на линии регрессии), а также приложен график со всеми экспериментальными данными.

В некоторых случаях линейность не наблюдается ни при каких математических преобразованиях, например, для иммуноаналитических методик. В таких случаях аналитический сигнал необходимо описать с помощью соответствующей функции концентрации (количества) определяемого компонента в испытуемом образце.

Для установления линейности рекомендуется использовать, как минимум, 5 концентраций. Применение других подходов требует обоснования.

3.2.3. Диапазон применения (аналитическая область)

Диапазон применения (аналитическая область) аналитической методики зависит от ее назначения и определяется при изучении линейности. В пределах диапазона применения методика должна обеспечивать требуемую линейность, правильность и прецизионность.

В качестве предельных допустимых должны быть рассмотрены следующие диапазоны применения аналитических методик:

- для количественного определения действующего вещества в активной фармацевтической субстанции или лекарственном препарате: от концентрации (содержания) 80 % до концентрации (содержания) 120 % от номинальной концентрации (содержания);
- для однородности дозирования: от концентрации (содержания) 70 % до концентрации (содержания) 130 %, если для лекарственного препарата не обоснован более широкий диапазон, зависящий от лекарственной формы (например, дозированные ингаляторы);
- для испытания на растворение: ± 20 % сверх номинального диапазона применения; например, если спецификации лекарственного препарата с модифицированным высвобождением охватывают область от 20 % за первый час и до 90 % от номинального содержания за 24 ч, то валидированный диапазон применения должен быть от 0 % до 110 % от номинального содержания;
- для определения примесей: от порога информирования для примеси до значения 120 %, указанного в спецификации;

- для примесей, обладающих чрезвычайно сильным действием или имеющих токсический или непредвиденный фармакологический эффект, предел обнаружения и предел количественного определения должны быть соразмерны тому уровню, на котором эти примеси должны контролироваться. В целях валидации методик испытания на примеси, проводимых в ходе разработки, может потребоваться задать аналитическую область вблизи предполагаемого (возможного) предела;
- если количественное определение и испытание на чистоту проводят одновременно в рамках одного испытания и используют только стандартный образец с аттестованным значением 100 %, линейная зависимость должна быть во всем диапазоне применения аналитической методики, начиная с порога информирования для примеси до значения 120 %, указанного в спецификации для количественного определения.

3.2.4. Правильность

Правильность должна быть установлена для всего диапазона применения аналитической методики.

3.2.4.1. Количественное определение

Активная фармацевтическая субстанция. Допускается использование нескольких способов оценки правильности:

- применение аналитической методики к анализируемой субстанции с известной степенью чистоты (например, к стандартному образцу);
- сравнение результатов анализа, полученных с использованием разрабатываемой аналитической методики, и результатов, полученных с помощью хорошо охарактеризованной методики, правильность которой известна и (или) определена с помощью независимой методики;
- заключение о правильности можно сделать после установления прецизионности, линейности и специфичности.

Лекарственный препарат. Допускается использование нескольких способов оценки правильности:

- применение аналитической методики к искусственным (модельным) смесям компонентов лекарственного препарата, в которые были добавлены заранее известные количества определяемого вещества;
- при отсутствии образцов всех компонентов лекарственного препарата возможно добавление заранее известных количеств активной фармацевтической субстанции к лекарственному препарату или сравнение результатов, полученных с помощью другой, хорошо охарактеризованной методики, правильность которой известна и (или) определена с помощью независимой методики;
- заключение о правильности можно сделать после определения прецизионности, линейности и специфичности.

3.2.4.2. Примеси (количественная оценка)

Правильность определяют на образцах активной фармацевтической субстанции и лекарственного препарата, в которые добавлены известные количества примесей.

При отсутствии образцов определяемых примесей и (или) продуктов деградации приемлемым представляется сравнение результатов с результатами, полученными с помощью независимой методики. Допускается использование аналитического сигнала действующего вещества.

Необходимо указать конкретный способ выражения содержания индивидуальных примесей или их суммы, например, в массовых процентах или по соотношению площадей пиков в процентах, но во всех случаях по отношению к основному определяемому веществу.

3.2.4.3. Рекомендации

Правильность оценивают не менее чем для 9 определений для 3 различных концентраций, охватывающих весь диапазон применения,

т. е. 3 концентрации и 3 параллельных определения для каждой концентрации. Определения должны включать все стадии методики.

Правильность выражают величиной открываемости в процентах по результатам количественного определения вещества, добавленного в известном количестве в анализируемый образец, или разностью между полученным средним и истинным (опорным) значениями с учетом соответствующих доверительных интервалов.

3.2.5. Прецизионность

Валидация количественного определения и испытаний на примеси предусматривает определение прецизионности.

3.2.5.1. Повторяемость

Повторяемость определяют, выполняя:

- не менее 9 определений концентраций, входящих в диапазон применения аналитической методики (3 концентрации и 3 параллельных определения для каждой концентрации), или
- не менее 6 определений концентраций для образцов с содержанием 100 % определяемого вещества.

3.2.5.2. Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность

Степень установления промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности зависит от условий использования аналитической методики. Заявитель должен установить влияние случайных факторов на прецизионность аналитической методики. Типичными переменными факторами, подлежащими изучению, являются разные дни, разные аналитики, разное оборудование и т. д. Изучение указанных влияний по отдельности не требуется. При изучении влияния различных факторов предпочтительно использовать планирование эксперимента.

3.2.5.3. Воспроизводимость

Воспроизводимость характеризует прецизионность в межлабораторных испытаниях. Воспроизводимость следует определять

в случае стандартизации аналитической методики, например, при ее включении в Фармакопею Союза. Включение данных о воспроизводимости в регистрационное досье не требуется.

3.2.5.4. Рекомендации

Для каждого вида прецизионности необходимо указывать стандартное отклонение, относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации) и доверительный интервал.

3.2.6. Предел обнаружения

Возможны различные подходы для установления предела обнаружения в зависимости от того, является методика инструментальной или неинструментальной. Допускается использование и других подходов.

3.2.6.1. Подход на основе визуальной оценки

Визуальная оценка может использоваться как для неинструментальных, так и для инструментальных методов.

Предел обнаружения устанавливается путем анализа образцов с известными концентрациями определяемого вещества и определения того минимального содержания, при котором он достоверно обнаруживается.

3.2.6.2. Подход на основе отношения «сигнал/шум»

Данный подход применим только к тем аналитическим методикам, для которых наблюдается шум базовой линии.

Определение отношения «сигнал/шум» проводят методом сравнения сигналов, полученных от образцов с известными низкими концентрациями определяемого вещества, с сигналами, полученными от контрольных образцов, и установления минимальной концентрации, при которой определяемое вещество может быть достоверно обнаружено. Для оценки предела обнаружения приемлемой считают величину отношения «сигнал/шум» от 3:1 до 2:1.

3.2.6.3. Подход на основе стандартного отклонения аналитического сигнала и наклона калибровочной кривой

Предел обнаружения (ПО) может быть выражен следующим образом:

$$\text{ПО} = 3,3 \times \frac{s}{k}$$

где s – стандартное отклонение аналитического сигнала;

k – тангенс угла наклона калибровочной кривой.

Значение k вычисляют по калибровочной кривой для определяемого вещества. Оценку величины s можно осуществить несколькими способами:

- **по стандартному отклонению для контрольного образца.** Измеряют величину аналитического сигнала для достаточного количества контрольных образцов и рассчитывают стандартное отклонение их значений;
- **по калибровочной кривой.** Следует проанализировать полученную калибровочную кривую, построенную для образцов с содержанием определяемого вещества, близким к пределу обнаружения. В качестве стандартного отклонения может быть использовано стандартное отклонение разности измеренных значений аналитического сигнала и рассчитанных его значений на линии регрессии или стандартное отклонение y -отсечения.

3.2.6.4. Рекомендации

Необходимо указать предел обнаружения и метод его определения. Если определение предела обнаружения основано на визуальной оценке или оценке отношения «сигнал/шум», представление соответствующих хроматограмм считают достаточным для его обоснования.

Если значение предела обнаружения получено путем расчета или экстраполяции, оценка должна быть подтверждена посредством независимого испытания достаточного количества образцов с

содержанием определяемого вещества, соответствующим пределу обнаружения или близким к нему значению.

3.2.7. Предел количественной оценки

Возможно несколько подходов для установления предела количественного определения в зависимости от того, является методика инструментальной или неинструментальной. Допускается использование других подходов.

3.2.7.1. Подход на основе визуальной оценки

Визуальная оценка может использоваться как для неинструментальных методов, так и для инструментальных.

Предел количественного определения обычно устанавливают путем анализа образцов с известными концентрациями определяемого вещества и оценкой того минимального содержания, при котором определяемое вещество поддается количественному определению с приемлемой правильностью и прецизионностью.

3.2.7.2. Подход на основе отношения «сигнал/шум»

Данный подход применим только к тем аналитическим методикам, для которых наблюдается шум базовой линии.

Определение отношения «сигнал/шум» проводят методом сравнения измеряемых сигналов, полученных от образцов с известными низкими концентрациями определяемого вещества, с сигналами, полученными от контрольных образцов, и установления минимальной концентрации, при которой определяемое вещество может быть достоверно определено количественно. Обычно отношение «сигнал/шум» составляет 10:1.

3.2.7.3. Подход на основе стандартного отклонения аналитического сигнала и наклона калибровочной кривой

Предел количественного определения (ПКО) может быть выражен следующим образом:

$$\text{ПКО} = 10 \times \frac{s}{k}$$

где s – стандартное отклонение аналитического сигнала;

k – тангенс угла наклона калибровочной кривой.

Значение k вычисляют по калибровочной кривой для определяемого вещества. Оценку величины s можно осуществить несколькими способами:

- **по стандартному отклонению для контрольного образца.** Измеряют величину аналитического сигнала для достаточного количества контрольных образцов и рассчитывают стандартное отклонение их значений;
- **по калибровочной кривой.** Следует проанализировать полученную калибровочную кривую, построенную для образцов с содержанием определяемого вещества, близким к пределу количественного определения. В качестве стандартного отклонения может быть использовано стандартное отклонение разности измеренных значений аналитического сигнала и рассчитанных его значений на линии регрессии или стандартное отклонение y -отсечения.

3.2.7.4. Рекомендации

Необходимо указать предел количественного определения и метод его определения.

Предел количественного определения необходимо впоследствии подтвердить с помощью анализа достаточного числа образцов с содержанием определяемого вещества, соответствующим пределу количественного определения или близким к нему значению.

3.2.8. Устойчивость (робастность)

Оценку устойчивости (робастности) следует осуществлять на стадии разработки, при этом объем исследований зависит от рассматриваемой аналитической методики. Следует показать надежность анализа при преднамеренных изменениях параметров и условий методики.

Если результаты измерений зависят от изменений в условиях проведения аналитической методики, необходимо строго контролировать соблюдение таких условий или указать меры предосторожности при проведении испытания. В целях обеспечения пригодности аналитической методики при ее использовании одно из заключений проводимой оценки устойчивости должно сводиться к установлению серий параметров пригодности системы (например, испытание на разрешение).

Типичные переменные факторы включают:

- стабильность растворов, используемых в аналитических методиках;
- различное оборудование;
- разные аналитики.

Типичные переменные факторы в ЖХ включают:

- pH подвижной фазы;
- состав подвижной фазы;
- различные колонки (разные серии и разные поставщики);
- температура;
- скорость подвижной фазы (скорость потока).

Типичные переменные факторы в ГХ включают:

- различные колонки (разные серии и разные поставщики);
- температура;
- скорость газа-носителя.

3.2.9. Оценка пригодности системы

Оценка пригодности системы является неотъемлемой частью многих аналитических методик. Эти испытания основаны на положении, что оборудование, электронная техника, аналитические операции и анализируемые образцы составляют целостную систему и требуют оценки в качестве таковой. Критерии пригодности системы должны быть установлены для конкретной методики и зависят от типа валидируемой аналитической методики. Дополнительная информация может быть изложена в соответствующих фармакопейных статьях Фармакопеи Союза.

3.3. ОСОБЕННОСТИ ВАЛИДАЦИИ ИСПЫТАНИЙ И МЕТОДИК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ФАРМАКОПЕЕ СОЮЗА ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ ХИМИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В данном разделе настоящего руководства приведены положения, имеющие важное значение для валидации конкретных аналитических методик и отражающие особенности их выполнения для фармацевтических субстанций химического происхождения. Изложенные положения должны использоваться в неразрывной связи с общими методами испытаний Фармакопеи Союза и требованиями к валидации, указанными выше.

3.3.1. Оптическое вращение

Выбор растворителя следует проводить для получения по возможности большего угла вращения. Устойчивость угла вращения раствора должна быть проверена в течение не менее 2 ч. При необходимости может быть предписано использование свежеприготовленного раствора. В исключительных случаях может потребоваться указать период равновесия до проведения измерения. По возможности, указывают использование D-линии натрия.

3.3.1.1. Идентификация

Если испытуемая субстанция является энантиомером, для идентификации используют удельное оптическое вращение.

Если удельное оптическое вращение используют только для идентификации, его значение может не пересчитываться на сухую субстанцию и (или) субстанцию, не содержащую растворителей. Указанные пределы должны учитывать различия в содержании действующего вещества и чистоте образцов различного происхождения, которые соответствуют частной фармакопейной статье.

Если испытание на удельное оптическое вращение используют также для контроля чистоты энантиомеров, в тексте раздела *ИДЕНТИФИКАЦИЯ* частной фармакопейной статьи может

указываться: «Образец должен соответствовать требованиям испытания на удельное оптическое вращение».

3.3.1.2. Испытания

Величина удельного оптического вращения может быть использована для проверки оптической чистоты энантиомера. Данный метод менее чувствителен, чем хиральная ЖХ. При необходимости ограничения содержания энантиомера путем измерения удельного оптического вращения следует подтвердить, что в условиях испытания энантиомер обладает оптической активностью, достаточной для его обнаружения. Полученный результат приводят в пересчете на сухую субстанцию и (или) субстанцию, не содержащую растворителей. По возможности следует указывать информацию о влиянии потенциальных примесей. Допустимые пределы для удельного оптического вращения следует устанавливать с учетом допустимого количества примесей. При отсутствии информации об оптическом вращении родственных примесей и их недостаточном количестве допустимые пределы обычно произвольно устанавливают на уровне $\pm 5\%$ от среднего значения, полученного для образцов, соответствующих частной фармакопейной статье. По возможности следует проводить оценку образцов субстанции различного происхождения. Для получения информации о влиянии естественного старения субстанции следует также проверять образцы со сроком, близким к истечению срока годности.

Измерение угла вращения может использоваться для проверки рацемического характера субстанции. В этом случае обычно задают допустимые пределы от $-0,10^\circ$ до $+0,10^\circ$.

По возможности следует подтвердить, что в условиях испытания энантиомер обладает оптической активностью, достаточной для его обнаружения.

Иногда величину угла вращения используют для проверки оптической чистоты энантиомера, например, как в случае метилдопы, когда увеличение угла вращения достигается путем комплексообразования за счет добавления алюминия хлорида (AlCl_3).

3.3.2. Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой области

Во всех случаях необходимо подтвердить пригодность рабочих условий (например, используемых растворителей и их качества, pH раствора и т. д.).

При обычном использовании УФ-спектрофотометрия представляет собой метод с ограниченной избирательной способностью. Применение производной спектрофотометрии первого и второго порядка может увеличить избирательную способность.

3.3.2.1. Идентификация

УФ-спектрофотометрию редко используют как единственный метод идентификации. Если ее включают в набор испытаний для идентификации, следует подтвердить ее избирательную способность путем сравнения спектра определяемого вещества со спектрами сходных по структуре веществ. Избирательная способность метода может быть увеличена за счет использования отношения значений поглощения, а не самих значений поглощения.

3.3.2.2. Испытание на предельное содержание примесей

При использовании УФ-спектрофотометрии для испытания на предельное содержание примесей следует подтвердить, что родственная примесь, подлежащая ограничению, при соответствующей длине волны вносит существенный вклад в измеренную величину поглощения. Необходимо установить значение поглощения, соответствующее предельной концентрации родственной примеси.

3.3.2.3. Количественное определение

При использовании УФ-спектрофотометрии для количественного определения необходимо оценить вклад известных примесей в величину поглощения. Использование значений удельного показателя поглощения для количественного определения не рекомендуется. Если заданы конкретные значения поглощения, их следует оценивать

с помощью межлабораторного испытания, используя серию субстанции с известной степенью чистоты. Чистоту следует оценивать, применяя различные методы, включая методы разделения и абсолютные методы.

3.3.3. Неинструментальные испытания на предельное содержание примесей

3.3.3.1. Цветность раствора

Эти простые визуальные испытания сводятся к сравнению окраски (или опалесценции) испытуемого раствора с рядом растворов сравнения. Обычно испытуемый раствор должен быть прозрачным и бесцветным. Данные испытания предназначены для оценки общего критерия чистоты субстанции. Если степень окрашивания (или опалесценции) регламентирована, примесь и уровень ее содержания, которой соответствует степень окрашивания (или опалесценции), часто бывают неизвестными. Валидация основывается на оценке результатов испытаний серий субстанции, предоставленных производителем. Однако, если примесь, вызывающая опалесценцию или окрашивание, известна, можно проводить валидацию визуального испытания, сравнивая его с более сложным аналитическим методом.

3.3.3.2. Кислотность или щелочность

Данное испытание предназначено в качестве общего критерия чистоты. Это неспецифичное испытание используют для контроля протолитических примесей. Проведение испытания описано выше.

3.3.3.3. Испытания на предельное содержание анионов и катионов

Испытания являются простыми и быстрыми, однако при этом они должны соответствовать испытаниям по определению величины открываемости и (или) результатам сравнения с другими более сложными методами.

Сульфатная зола. Испытание на сульфатную золу предназначено для общего определения катионов, присутствующих в органических веществах, но, очевидно, не применимо к неорганическим солям кислых

органических веществ. Допустимый предел обычно составляет 0,1 %. Данное гравиметрическое испытание контролирует содержание посторонних катионов до уровня, указывающего на приемлемое качество получения субстанции. Методику испытания можно считать достаточно известной и не требующей проведения дальнейшей (дополнительной) валидации.

Реакции окрашивания или осаждения. Испытания на предельное содержание отдельных катионов и анионов, основанные на визуальном сравнении окраски или опалесценции, также описаны в Фармакопее Союза. Важно подтвердить, что:

- окраска или опалесценция видны на уровне предельной концентрации;
- величина открываемости для добавленного иона одинакова для испытуемых растворов и растворов сравнения (при визуальном наблюдении и, по возможности, в процессе измерения поглощения);
- аналитический сигнал достаточно избирателен в пределах целевого значения (50 %, 100 % и 150 % от целевого значения) в процессе измерения поглощения при соответствующей длине волны в видимой области;
- определение величины открываемости при целевом значении проводят в шести параллельных опытах и рассчитывают относительное стандартное отклонение повторяемости. Величина открываемости должна быть более 80 %, а относительное стандартное отклонение повторяемости – не более 20 %.

В случае приемлемости, целесообразно сравнить результаты определения величины открываемости, полученные с использованием предлагаемой методики испытания на предельное содержание примесей, с количественным определением с помощью другого метода, например, атомно-абсорбционной спектрофотометрии для катионов или ионной хроматографии для анионов. Результаты, полученные двумя методами, должны быть схожими.

3.3.4. Атомно-абсорбционная спектрометрия

Атомно-абсорбционную спектрометрию используют исключительно для определения содержания конкретных элементов, присутствующих в субстанциях для фармацевтического применения в качестве примесей. Для методов атомной спектрометрии особенно необходимы требования к валидации, приведенные ниже. Дополнительные требования к валидации представлены в соответствующей общей фармакопейной статье.

3.3.4.1. Специфичность

Как правило, данный метод является специфичным при использовании соответствующего источника излучения и длины волны для определения элемента, поскольку атом излучает или поглощает излучение при дискретных спектральных линиях. Тем не менее, могут возникать мешающие факторы, обусловленные оптическими и (или) химическими причинами. Поэтому важно определить такие мешающие факторы и, по возможности, уменьшить их влияние, используя подходящие средства до начала валидации.

Мешающие факторы могут приводить к систематической погрешности при использовании метода прямой калибровки или снижению чувствительности метода. Наиболее важные источники ошибок в атомной спектрометрии связаны с ошибками процесса калибровки и мешающего влияния матрицы испытуемого образца (необходимо соблюдать осторожность во избежание эффектов памяти).

3.3.4.2. Калибровка

Водные растворы стандартных образцов готовят и анализируют при разных значениях концентрации, распределенных по всему диапазону калибровки.

Количество значений концентрации водных растворов стандартных образцов зависит от используемой модели калибровки. Для подтверждения применимости линейной регрессионной модели водных растворов стандартных образцов следует готовить не менее 4 растворов различных концентраций. Параболическая регрессионная

модель также требует не менее 4 значений концентрации. Предпочтительно, чтобы значения концентрации равномерно распределялись по всему диапазону калибровки.

Как правило, рекомендуется проводить не менее 5 измерений для каждого значения концентрации.

Несоответствия при калибровке часто могут обнаруживаться визуально. Однако калибровочные графики не могут использоваться в качестве единственного доказательства пригодности метода калибровки.

Возможны следующие способы доказательства пригодности метода калибровки:

- строят график зависимости измеренных значений поглощения от концентрации одновременно с кривой, описывающей калибровочную функцию и ее доверительный интервал. Эта кривая должна соответствовать экспериментальным данным;
- строят график зависимости разности между измеренным и рассчитанным значениями поглощения от концентрации. При использовании подходящего метода калибровки значения этой разности распределяются случайным образом около оси абсцисс x .

Если расхождение (дисперсия) аналитического сигнала возрастает с концентрацией, как это часто наблюдается в атомной спектроскопии и проявляется на графике, построенном по значениям разности, или в одностороннем t -испытании, то лучше подходит взвешенная модель калибровки. Для получения наиболее подходящей взвешенной функции для данных применяют как линейные, так и квадратичные взвешенные функции.

Для взвешенной модели взвешенные значения разности, т. е. весовая нагрузка, умноженная на значение разности, графически изображают в зависимости от концентрации:

- строят график взвешенной функции измеренных значений поглощения от концентрации одновременно с кривой, описывающей калибровочную функцию и ее доверительный интервал;

- строят график взвешенной функции значений разности от концентрации.

Необходимо подтвердить точное соответствие полученных данных применяемой модели калибровки. Применение линейной регрессионной модели предполагает полное исследование линейности калибровочного графика.

3.3.4.3. Влияние матрицы испытуемого образца

При измерении показателей водных стандартных растворов для оценки калибровочной функции необходимо обеспечить, чтобы чувствительность для раствора образца и водного раствора была примерно одинаковой. При использовании линейной калибровочной модели различия в чувствительности могут быть обнаружены путем сравнения наклонов калибровочных кривых для стандартных добавок и водных растворов. Качество оценки наклонов обеих линий регрессии зависит от количества и распределения точек измерения. Поэтому рекомендуется включать достаточное количество точек измерения (более 5) на обеих линиях регрессии и сконцентрировать эти точки, в основном, на экстремумах диапазона калибровки.

Сравнение наклонов калибровочных кривых для стандартных добавок и водных растворов проводят с помощью *t*-испытания, которое позволяет проверить, значительно ли отличаются наклоны обеих линий регрессии. При значительном их отличии следует применять метод II (метод стандартных добавок), а при незначительном отличии – метод I (метод прямой калибровки).

3.3.4.4. Предел количественного определения (на основе стандартного отклонения для контрольного раствора)

Для оценки предела обнаружения и предела количественного определения готовят и анализируют репрезентативные контрольные растворы. Предпочтительно используют матричные контрольные растворы, то есть растворы, содержащие каждый компонент образца без определяемого вещества. Однако при отсутствии матричных контрольных растворов допускается использование контрольных

растворов реактивов, то есть растворов, содержащих все реактивы и приготовленных таким же образом, что и раствор образца.

Другие аспекты проведения валидации рассматриваются выше.

3.3.5. Методы разделения

В разделах *ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ИСПЫТАНИЯ* (для ограничения содержания родственных примесей) и *КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ* (для определения содержания активного ингредиента) частной фармакопейной статьи могут использоваться и описываться различные методики на основе ТСХ, ГХ и ЖХ. Методики должны быть валидированы в соответствии с ранее описанными принципами. Однако при этом следует учитывать особенности различных хроматографических методов.

3.3.5.1. Тонкослойная хроматография

Данный хроматографический метод широко используется в Фармакопее Союза для идентификации с использованием стандартного образца вещества и для ограничения присутствия примесей с использованием или без использования стандартного образца вещества. Для количественного определения примеси необходимо применение соответствующего оборудования. В качестве неподвижной фазы в большинстве случаев используют кремния диоксид, но также применяют обращенно-фазовые типы, например, силанизированный силикагель или неподвижные фазы на основе целлюлозы.

При применении метода ТСХ для идентификации или испытания на родственные примеси необходимо подтверждение следующих общих положений.

Специфичность. Принято считать, что специфичность при идентификации не может быть достигнута только применением метода ТСХ, хотя при этом можно ожидать достаточной избирательности метода. Испытание должно проводиться с дополнительным применением других методов, которые в комплексе обеспечивают специфичность. Специфичность не может быть достигнута в испытаниях на предельное содержание примесей, и в этом случае должно быть описано другое испытание для контроля неразделенных

примесей. Необходимо подтвердить избирательную способность метода. Иногда при идентификации может быть достигнуто улучшение избирательной способности путем использования реактива для опрыскивания, разделяющего схожие вещества по цвету.

Неподвижная фаза. Необходимо подтвердить, что испытание применимо с использованием пластинок одного и того же типа, но разных производителей. По возможности не следует проводить разделение с использованием только одного конкретного типа пластинок.

Испытание эффективности системы (испытание пригодности системы). Такое испытание обычно проводят для проверки разделения двух близко элюирующихся веществ, самого действующего вещества и сходного по структуре вещества (критическая пара). Следует подтвердить, что разделение выбранных веществ обеспечивает пригодность хроматографической системы. Данный критерий эффективности необходим для испытания на родственные примеси.

В случае применения метода ТСХ для испытания на родственные примеси необходимо документальное подтверждение следующих дополнительных положений.

Обнаружение. Не следует использовать специфичные реактивы для опрыскивания при испытании на родственные примеси, если испытание не предназначено для ограничения содержания определенной примеси с использованием стандартного образца вещества.

Предел обнаружения. При использовании инструментального метода для количественного определения примеси предел обнаружения рассчитывают одним из описанных методов. При использовании визуального метода необходимо подтвердить возможность обнаружения количества примеси, соответствующего указанному пределу.

Коэффициенты чувствительности. При наличии образцов известных примесей сходство коэффициентов чувствительности (относительно самого действующего вещества) подтверждают в заданных условиях обнаружения. При испытании на предельное содержание примеси различия в чувствительности могут быть показаны путем сравнения пределов визуального обнаружения.

Предел количественного определения, линейность, диапазон и повторяемость. Определение данных характеристик дополнительно

требуется при использовании инструментального метода количественного определения.

3.3.5.2. Жидкостная хроматография

Метод ЖХ обычно применяют в следующих целях:

- ограничение содержания примесей в субстанции (с использованием внешнего стандарта или подходящего разведения испытуемого раствора);
- определение содержания действующего вещества (с использованием внешнего стандарта);
- в ряде случаев идентификация (с использованием перекрестной ссылки на одно из вышеуказанных испытаний).

В случае применения метода ЖХ важными представляются следующие положения.

3.3.5.2.а. Идентификация

Специфичность. Принято считать, что специфичность при идентификации не может быть достигнута только применением метода ЖХ, хотя при этом можно ожидать достаточной избирательности метода. Испытание должно проводиться с дополнительным применением других методов, которые в комплексе обеспечивают специфичность. Избирательная способность должна быть подтверждена значениями времени удерживания, относительного удерживания или коэффициента удерживания (отношение массового распределения) сходных по структуре веществ и самого действующего вещества. Такие сведения должны предоставляться для различных неподвижных фаз схожего типа.

3.3.5.2.б. Испытание на предельное содержание примесей

Специфичность. Специфичность обеспечивается следующими характеристиками:

- **избирательная способность разделения.** Необходимо подтвердить разделение известных и возможных примесей от действующего вещества и, по возможности, друг от друга. Специфичность может быть обеспечена путем детектирования методом масс-спектрометрии. Примеси, не разделенные от действующего вещества, должны контролироваться другим методом. Необходимо указывать значения времени удерживания, относительного удерживания или коэффициента удерживания (отношение массового распределения) действующего вещества и примесей. Такие сведения должны предоставляться для различных неподвижных фаз аналогичного типа;
- **избирательная способность системы детектирования.** Выбор детектора или условий работы детектора должен быть подтвержден (например, изменение длины волны детектирования при использовании УФ-детектирования), в то время как специфичность может быть обеспечена путем детектирования методом масс-спектрометрии.

Коэффициенты чувствительности. Следует подтвердить близость коэффициентов чувствительности действующего вещества и известных примесей (при длине волны детектирования при использовании УФ-детектирования, но также применимо к другим системам детектирования, например, по показателю преломления, электрической проводимости). Коэффициент чувствительности известной примеси более 1,2 или менее 0,8 по сравнению с показателем испытуемого вещества может потребовать использования либо ПК, либо отдельной примеси в качестве внешнего стандарта, если допустимый предел составляет 0,1 % или более.

Предел обнаружения и предел количественного определения. Данные пределы должны быть определены для внешнего стандарта, который получают растворением либо испытуемого действующего вещества, либо известной примеси. Если пик примеси элюируется вблизи пика действующего вещества, особенно после него, для этой примеси должны быть установлены предел обнаружения и предел количественного определения. В этом случае применяют один из

методов расчета предела обнаружения и предела количественного определения.

Стабильность. Следует предоставить данные, подтверждающие период использования растворов сравнения и испытуемых растворов.

Открываемость. В случае применения процедуры экстракции проводят в оптимальных условиях опыты по определению величины открываемости с использованием имеющихся в наличии известных примесей. Следует подтвердить, что полученные значения величины открываемости обеспечивают приемлемую правильность и прецизионность.

Дериватизация. В случае применения до- и послеколоночной дериватизации важно установить оптимальные условия реакции (время и температуру), а также исследовать стабильность производного вещества при обычных условиях использования.

Испытание пригодности системы. Указания аналогичны приведенным для метода ТСХ. Использование отношения «сигнал/шум» (S/N) требуется только при условии близости предела обнаружения и регламентируемого предела.

3.3.5.2.в. Количественное определение

Специфичность представляется предпочтительной, но не существенной характеристикой при условии, что мешающая примесь присутствует в низкой концентрации и контролируется другим испытанием.

Испытание пригодности системы. Указания приводятся в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения*. Таблица, представленная в данной статье, может быть расширена, как показано ниже (таблица 6).

Испытания на предельное содержание примесей и количественное определение должны быть валидированы в соответствии с указаниями раздела 3.2 настоящего руководства для линейности, повторяемости и воспроизводимости.

Таблица 6. Требования к повторяемости

В (%)	Количество отдельных вводов проб				
	3	4	5	6	10
	Максимально допустимое относительное стандартное отклонение				
1,0	0,21	0,30	0,37	0,42	0,60
1,5	0,31	0,44	0,55	0,64	0,90
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85	1,20
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06	1,51
3,0	0,62	0,89	1,10	1,27	1,81
3,5	0,72	1,04	1,22	1,48	2,11
4,0	0,83	1,19	1,46	1,70	2,41
4,5	0,93	1,33	1,65	1,91	2,71
5,0	1,04	1,48	1,83	2,12	3,01

3.3.5.3. Газовая хроматография

3.3.5.3.а. Идентификация

Специфичность. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

3.3.5.3.б. Испытания на предельное содержание примесей

Специфичность. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

Коэффициенты чувствительности. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ. Необходимо предоставить значения коэффициентов чувствительности относительно действующего вещества, что особенно важно при использовании селективных детекторов, например, детектора электронного захвата, азотно-фосфорного детектора и т. д.

Предел обнаружения и предел количественного определения. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

Стабильность. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

Дериватизация. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

Внутренний стандарт. Следует подтвердить, что при используемых хроматографических условиях пик внутреннего стандарта не оказывает мешающего влияния на пики примесей или действующего вещества.

Открываемость. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

3.3.5.3.в. Испытание пригодности системы

Конкретные положения, регламентируемые хроматографическими критериями, которые должен соблюдать пользователь для успешного применения испытания, заключаются в следующем.

Отношение «сигнал/шум» (S/N). Данное отношение обычно определяют для сигнала, который равен или превышает предел обнаружения.

Разрешение между пиком действующего вещества и близко элюируемым пиком примеси или между пиком действующего вещества и пиком внутреннего стандарта. Целесообразно указать приемлемый диапазон значений коэффициента симметрии, если он отличается от принятого диапазона (от 0,8 до 1,5) в соответствии с указаниями общей фармакопейной статьи *Хроматографические методы разделения*. Это особенно важно при использовании набивных колонок и элюировании пика контролируемой примеси сразу после основного пика. По возможности, рекомендуется проверка эффективности разделения с использованием аналогичной колонки.

Способ ввода паровой фазы. Данный тип ввода используют для легколетучих веществ. Важно подтвердить, что температура и время предварительного нагрева испытываемой пробы во флаконе обеспечивают достижение равновесия. Следует также подтвердить наличие или отсутствие влияния матрицы испытываемого образца. Валидацию условий ввода паровой фазы проводят путем многократного извлечения паровой фазы (после каждого ввода паровую фазу продувают и флакон повторно уравнивают перед последующим вводом газовой фазы). Признаком

достижения оптимальных условий является линейная зависимость логарифма площади пика определяемого вещества от числа извлечений с коэффициентом регрессии 1,0. Влияние матрицы испытуемого образца можно устранить, используя метод стандартных добавок.

3.3.5.3.г. Количественное определение

Специфичность. Указания аналогичны приведенным для метода ЖХ.

Проверка пригодности системы. Указания приводятся в общей фармакопейной статье *Хроматографические методы разделения* (раздел 3.3.5.2.в настоящего руководства).

Испытания на предельное содержание примесей и количественное определение должны быть валидированы, как описано выше в разделе 3.2 настоящего руководства для линейности, повторяемости и воспроизводимости.

3.3.5.3.д. Идентификация и контроль остаточных растворителей

Подготовка образцов и используемые системы ГХ должны быть валидированы для испытуемой субстанции с применением приведенных выше критериев, особенно в отношении:

- специфичности;
- предела обнаружения и предела количественного определения;
- открываемости;
- повторяемости;
- линейности в случае количественного определения.

3.3.6. Определение воды полумикрометодом

Ввиду доступности нескольких видов реактива К. Фишера важно подтвердить их пригодность для использования путем валидации, например, с помощью метода стандартных добавок.

Метод стандартных добавок. Определяют содержание воды в испытуемом образце в предложенных условиях. Затем в условиях, обеспечивающих воздухонепроницаемость, добавляют подходящий

объем стандартизированного раствора воды в *метаноле Р* и определяют содержание воды ($m_{\text{H}_2\text{O}}$) в миллиграммах. Данную процедуру повторяют не менее 5 раз.

Рассчитывают линейную регрессию зависимости общего количества воды от добавленного ее количества. Определяют наклон b , отрезок a , отсекаемый на оси ординат, и точку пересечения d экстраполированной линии регрессии с осью абсцисс.

Допустимые значения наклона b должны находиться в интервале от 0,975 до 1,025 (отклонение $\pm 2,5$ %). Относительные погрешности в процентах e_1 и e_2 должны быть менее $\pm 2,5$ %.

$$e_1 = \frac{a - m_{\text{H}_2\text{O}}}{m_{\text{H}_2\text{O}}} \times 100 \qquad e_2 = \frac{d - m_{\text{H}_2\text{O}}}{m_{\text{H}_2\text{O}}} \times 100$$

Рассчитывают значения открываемости для каждой процедуры прибавления стандартизированного раствора воды в *метаноле Р*. Допустимое среднее значение открываемости должно быть от 97,5 % до 102,5 %.

3.3.7. Объемные методы титрования

При разработке нового объемного метода количественного определения рекомендуется проводить титрование не менее 7 различных количеств в заданных условиях в случайном порядке, чтобы получить значения объемов в конечной точке титрования в диапазоне от 20 % до 90 % от объема используемой бюретки. Полученные результаты подвергают статистической обработке. Для подтверждения пригодности процедуры титрования необходимо соблюдение ряда критериев.

Относительная ошибка в считывании показаний массы и объема в конечной точке титрования не должна составлять более 0,5 % от найденных значений.

Результаты представляют в виде зависимости значений объемов (V_i) в конечной точке титрования от массы (m_i) и оценивают методом линейной регрессии. Рассчитывают линейную регрессию и определяют ее характеристики: наклон (b_{obs}), отсечение (a_{obs}) и прецизионность ($\sigma(V)$).

Критерий 1 – Пропорциональная систематическая погрешность (смещение)

Рассчитанные значения наклона (b_{obs}) с учетом титра стандартизированного раствора титранта составляют в пределах 0,3 % для потенциометрического титрования и 0,5 % для визуального титрования по сравнению с теоретическим значением, заданным как постоянная титрования (b_{theor}).

$$\left(\frac{b_{\text{obs}} - b_{\text{theor}}}{b_{\text{theor}}} \right) \times 100$$

где $b_{\text{theor}} = \frac{Z}{M_r C_r}$;

M_r – относительная молекулярная масса;

Z – стехиометрический коэффициент в уравнении химической реакции;

C_r – молярная концентрация титранта.

Критерий 2 – Дополнительная систематическая погрешность (смещение)

Отсечение (a_{obs}) составляет менее 0,4 % для потенциометрического титрования и менее 0,6 % для визуального титрования предполагаемого или целевого объема (V_T). Данный критерий не может быть выполнен, если титрование проводится слишком быстро (потенциометрическое титрование) или используется неподходящий индикатор (визуальное титрование).

$$\left(\frac{a_{\text{obs}}}{V_T} \right) \times 100$$

Критерий 3 – Прецизионность (статистическая погрешность)

Рассчитанное значение стандартного отклонения ($\sigma(V)$) составляет менее 0,3 % для потенциометрического титрования и менее 0,5 % для титрования в присутствии индикатора от среднего объема в конечной точке титрования.

$$\left(\frac{\sigma(V)}{V_T} \right) \times 100$$

где $\sigma(V)$ – рассчитанное значение стандартного отклонения.

$$\sigma(V) = \sqrt{\frac{\sum(V_i - a_{\text{obs}} - b_{\text{obs}}m_i)^2}{n-2}}$$

где V_i – объем титрования;

m_i – масса вещества;

n – количество выполненных титрований.

Критерий 4 – Практическая относительная погрешность

Некоторые методики титрования могут не соответствовать критериям 1 и 2, но показывают низкую и приемлемую величину смещения для целевого объема титрования (8 мл \pm 1 мл для бюретки 10 мл). Таким образом, если критерии 1 и (или) 2, приведенные выше, не выполняются, рассчитывают относительную правильность (точность) для целевого объема титрования.

$$\left(\frac{a_{\text{obs}}}{V_T} + \frac{b_{\text{obs}} - b_{\text{theor}}}{b_{\text{theor}}} \right) \times 100$$

Однако при использовании хорошо разработанной методики потенциометрического титрования достаточно проверить, что повторяемость и правильность (точность) титрования (не менее 6 повторных измерений) не превышают пределов, приведенных в таблице 7, а также в схеме принятия решений.

Значения величин в таблице 7 приведены в качестве информации. Однако могут применяться и более жесткие требования. Использование потенциометрического титрования обосновано только при подтверждении присутствия примесей в низкой концентрации, в противном случае должны применяться другие методы количественного определения.

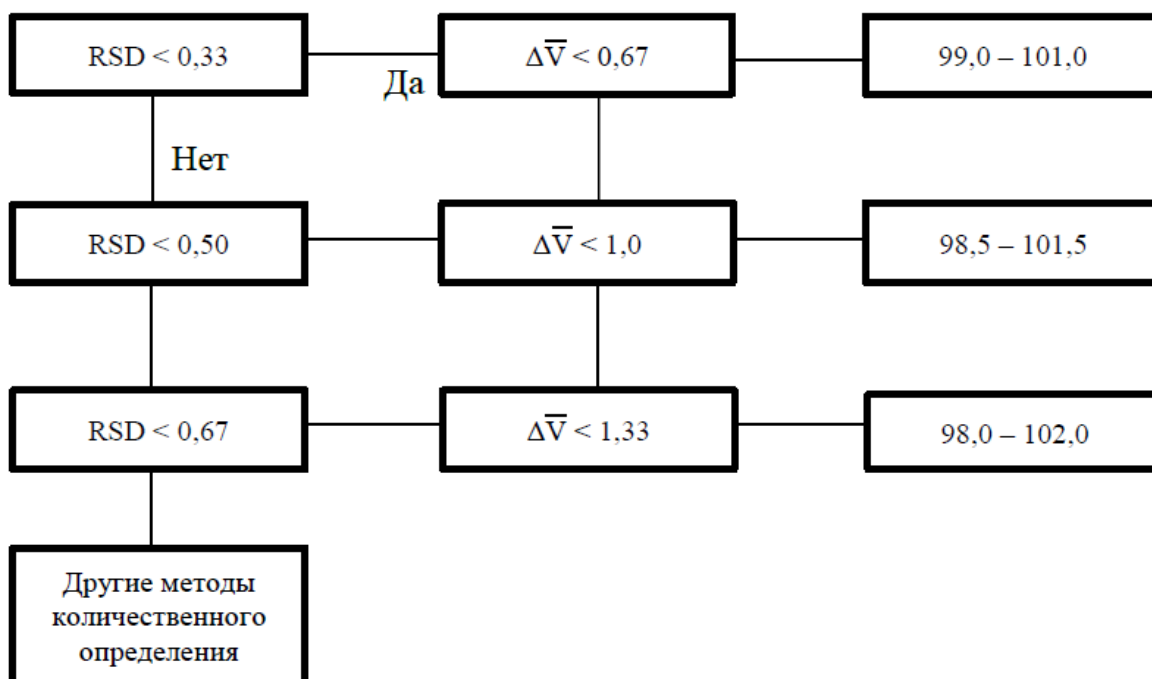
Таблица 7. Повторяемость и правильность (точность)
потенциометрических титрований

Потенциометрическое титрование	Предел содержания (%)	Повторяемость (RSD)	Относительная правильность (точность) (%)
Кислотно-основное	± 1,0	0,33	± 0,67
Неводное	± 1,0	0,33	± 0,67
Кислотное, сопряженное с основным	± 1,0	0,33	± 0,67
Окислительно-восстановительное	± 1,5	0,5	± 1,0
Аргентометрическое	± 1,5	0,5	± 1,0
Комплексометрическое	± 2,0	0,67	± 1,33

Схема принятия решения по валидации
потенциометрического титрования

Повторяемость: относительное стандартное отклонение (RSD) для более 6 повторных измерений ($n = 6$)

Относительная правильность (точность): $\Delta \bar{V} = \frac{\bar{V} - V_{\text{theor}}}{V_{\text{theor}}}$



3.3.8. Идентификация пептидов методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса

При валидации методики следует учитывать следующие факторы.

Постоянство спектра. Необходимо подтвердить, что в разумных пределах полученный спектр не зависит от количества образца, pH образца, температуры анализа (погрешности калибровки или изменений при повторной калибровке) или неправильной настройки параметров спектральных измерений, например, ширины импульса. Следует учитывать последствия небольших изменений в методиках подготовки образцов, таких как дейтериевый обмен. Для подтверждения постоянства спектров должен быть проведен анализ нескольких различных серий испытуемого лекарственного средства.

Специфичность. Следует проводить сравнение спектра испытуемого образца со спектрами других аналогичных лекарственных средств с одного и того же производственного участка и показать очевидные спектральные различия, сопровождая их соответствующими примечаниями. Допускается оценка спектров возможных примесей, особенно специфицированных примесей. К ним можно отнести деамидированные формы, соединения, содержащие нежелательный аминокислотный энантиомер, или формы с несоответствующей последовательностью атомов или групп атомов. Такой подход должен быть аналогичен используемому при оценке специфичности хроматографических испытаний при идентификации.

Другие видоизменения:

- возможная смена операторов, требующая подтверждения при проведении испытания более чем одним оператором;
- возможные незначительные смещения показаний прибора.

После обслуживания датчика или электронного устройства для создания мощного высокочастотного импульса, регистрации и преобразования сигнала спада свободной индукции в цифровую форму, обновления программного обеспечения или приобретения новых расходных частей спектрометра может потребоваться частичная повторная валидация. Чаще всего она может проводиться с использованием стандартных образцов, поставляемых в комплекте со спектрометром.