

1 – Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» Государственной службы Украины по лекарственным средствам (ГП «Фармакопейный центр»), 61085, Украина, г. Харьков, ул. Астрономическая, 33

2 – Национальный фармацевтический университет, 61168, Украина, г. Харьков, ул. Валентиновская, 4

1 – Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines, State Administration of Ukraine on Medicinal Products, 33, Astronomychna str., Kharkiv, 61085, Ukraine

2 – National University of Pharmacy, 4, Valentynivska str., Kharkiv, 61168, Ukraine

* адресат для переписки:
E-mail: leontiev@phukr.kharkov.ua;
leontiev@yahoo.com
Тел.: +38 (057) 719 06 05

РОЛЬ СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ: РЕГУЛЯТОРНЫЕ И МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Д.А. Леонтьев^{1*}, Ю.В. Подпружников², Н.В. Воловик¹

Резюме. Рассмотрены некоторые аспекты корректного использования стандартных образцов (СО) для обеспечения надежности заключения о качестве лекарственных средств (ЛС). Проведен анализ специфики использования СО с аттестованным значением содержания и субстанции/реактива, для которого номинальное содержание принимается за 100%. Рассмотрены статус и специфика использования фармакопейных СО. Проанализированы проблемы использования СО для нефармакопейных методик и нефармакопейных ЛС, проблемы обеспечения СО примесей и СО, необходимых для анализа лекарственного растительного сырья и готовых ЛС из него. Рассмотрены некоторые метрологические аспекты корректного использования СО, связанные с внедрением в фармации концепции неопределенности и использованием принципа незначимости.

Ключевые слова: лекарственные средства, заключение о качестве, стандартные образцы, неопределенность результатов, незначимость.

THE ROLE OF REFERENCE STANDARDS IN QUALITY ASSURANCE FOR MEDICINES: REGULATORY AND METROLOGICAL ASPECTS

D.A. Leontiev^{1*}, Y.V. Podpruzhnikov², N.V. Volovyk¹

Abstract. Some aspects of the adequate use of reference standards (RS) for making a reliable decision on the compliance of medicines are reviewed. An analysis of the specificity of using RS with the certified value and substance/reagent, for which the nominal value is considered to be 100%, is conducted. Status and specific character of using pharmacopoeial RS are considered. Issues of the use of RS for non-pharmacopoeial test methods as well as for non-pharmacopoeial medicines, problems of provision of RS for purity tests and RS for the analysis of herbal drugs and herbal drug preparations are analyzed. Some metrological aspects of the proper use of RS related to the implementation of the concept of uncertainty and the use of the principle of insignificance are discussed.

Keywords: medicines, decision on compliance, reference standards, uncertainty of results, insignificance.

ВВЕДЕНИЕ

Стандартные образцы (СО) чрезвычайно широко применяются в фармацевтическом анализе. Применение СО обеспечивает метрологическую сопоставимость и совместимость результатов анализа [1]. Сопоставимость результатов означает, что разные лаборатории при анализе одного и того же лекарственного средства (ЛС) дают заключение об одной и той же сущности, например о количественном содержании анальгина в готовом ЛС, имеющем в своем составе анальгин (и результат не искажен присутствием примесей, наличием других действующих или вспомогательных веществ и т.д.). Совместимость результатов означает, что полученный в разных лабораториях результат является по существу одним и тем же, то есть не была допущена грубая ошибка, образец был однородным, проанализированная проба была представительной и т.д. Без этого невозможно сделать обоснованное заключение о качестве ЛС.

Потребителя прежде всего интересует не результат анализа сам по себе, а заключение о качестве ЛС. Заключение о качестве должно быть надежным, то есть при выполнении анализа в различных лабораториях оно должно быть одним и тем же с высокой вероятностью. Для этого варьирование результата анализа, которое внутренне ему присуще, должно разумным образом соотноситься со спецификациями. То есть, во-первых, необходимо определить, по отношению к каким спецификациям какое варьирование является максимально допустимым, а во-вторых – контролировать фактическое варьирование результата. Поскольку спецификации обычно выражены интервалом, далее речь идет именно о расширенной неопределенности, то есть об интервале (Δ), в пределах которого с высокой надежностью находится истинное значение [2, 3].

Оценить варьирование результата (как максимально возможное для данной методики, так и фактическое для данного анали-

за) позволяет концепция неопределенности. Она дает инструменты для оценки варьирования конечного результата анализа исходя из варьирования, которое вносят составляющие аналитической системы – методика, прибор, аналитик, СО и т.д.

Фактически любой анализ опирается на цепочку последовательных калибровок. В фармацевтическом анализе в странах, где действуют правила GMP, принята следующая схема. Основой для сравнения служит официальный СО – фармакопейный (ФСО), то есть СО, который вводится в действие, поддерживается и распространяется соответствующей фармакопеей, национальной или международной. ФСО рассматривается GMP как первичный СО, то есть аттестованный без использования калибровки по другому СО. Лаборатория для выполнения рутинных анализов может откалибровать по ФСО свой вторичный СО (ВСО), что рассматривается как принятая лабораторная практика в GMP (GMP PIC/S, п. 11.19 [4]) и в фармакопеях (Европейская Фармакопея – EP, общая статья «Стандартные образцы» [5], Фармакопея США – USP, общая статья <1010> «Результаты анализа – интерпретация и обработка» [6]). Использование ВСО позволяет кардинальным образом снизить расход дорогих ФСО.

Выполнение анализа также является по своей сути калибровкой. Анализируемое ЛС при этом «калибруют» по СО. Неопределенность измерений неизбежно возрастает вместе с последовательностью калибровок, причем в этой последовательности результат каждой калибровки зависит от результата предыдущей калибровки. Поэтому говорят об иерархии калибровок и о цепочке метрологической прослеживаемости результатов. Чем ближе калибровка к опорному значению, тем более жесткие требования к ее неопределенности предъявляются, так как вносимая ошибка уже не может быть устранена на последующих звеньях калибровок.

Отметим, что обеспечение надежности заключения о качестве является основой обращения ЛС, особенно международного. Корректное использование СО играет в данном вопросе ключевую роль. Рассмотрим некоторые аспекты использования СО в фармацевтическом анализе, связанные с обеспечением качества результатов анализа.

СПЕЦИФИКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СО В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Использование аттестованных СО или реактивов/субстанций

В фармацевтическом анализе для количественных определений (КО) могут использоваться:

– аттестованные СО, то есть СО с установленным для данного применения значением содержания;

– субстанции/реактивы, соответствующие спецификациям, для которых содержание формально принимается равным 100%.

Если лаборатория использует ФСО и для рутинных анализов – откалиброванные по нему ВСО, то цепочка метрологической прослеживаемости результатов начинается от общепризнанного эталона. Это обеспечивает сопоставимость и совместимость результатов для всех лабораторий. Если лаборатория использует в качестве вещества сравнения реактив или субстанцию, а не СО, то цепочка метрологической прослеживаемости начинается и заканчивается в данной лаборатории. В этом случае имеется риск того, что результаты, полученные в различных лабораториях, будут несовместимы. Реактивы и субстанции изначально не предназначены для использования в качестве СО. Они могут использоваться в определенных случаях, однако для этого нужно сформулировать обоснованные критерии приемлемости: как минимум требования к чистоте, однородности, условиям хранения и сроку годности для данного применения, что является трудно решаемой и не всегда выполнимой задачей. В связи с этим в фармации для КО действующих веществ, консервантов и др. (то есть в разделе «Количественное определение») всегда используются ФСО. Субстанции/реактивы могут использоваться в качестве веществ сравнения в испытаниях, для которых метрологические требования существенно ниже. Это такие испытания, как определение чистоты (родственные примеси или остаточные органические растворители) и в некоторых случаях КО (с односторонним нормированием «не менее»), которое обычно используется для стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов из него.

ФСО – статус и специфика использования

Если имеется соответствующий ФСО, то он всегда имеет преимущество перед использованием субстанции/реактива в качестве вещества сравнения. В руководстве Q6В (п. 2.2.1) [7] указано: «Если имеется международный или национальный СО, СО (производителя) следует калибровать относительно него». В GMP EU 2014 г. в п. 6.20 [8] появилось уточнение: «Если существуют фармакопейные стандартные образцы из официально признанных источников, преимущественно их следует использовать в качестве первичных стандартных образцов, если другое не обосновано». То есть в данном случае, если имеется коммерчески доступный реактив или субстанция, корректнее использовать ФСО в качестве официального СО, а для рутинных анализов калибровать по данному ФСО реактив/субстанцию и использовать ее в качестве ВСО.

Отметим, что если предполагается использовать ФСО при контроле качества готовой продукции, то этот же ФСО необходимо использовать при валидации методики [9].

Ограничение использования ФСО (GMP EU: «если другое не обосновано») относится в первую очередь к предназначению и, соответственно, области применения ФСО. Фармакопеи подчеркивают, что данный ФСО гарантированно пригоден для испытаний/методик, описанных в данной фармакопее, и что для другого применения данный ФСО может быть непригодным [4, 10]. Например, СО Европейской Фармакопеи (EP), предназначенные только для идентификации, совершенно непригодны для КО. Так, в EP описана субстанция циталопрама. КО проводится титриметрически, без использования СО. EP CRS циталопрама предназначен для идентификации методом ИК-спектроскопии. Поэтому если в готовом ЛС (ГЛС) для КО используется хроматография или спектрофотометрия, то EP CRS для этого предназначения не пригоден. Более того, в общем случае ФСО, предназначенные для КО с использованием хроматографии, непригодны для КО спектрофотометрическими методами. Отметим, что это ограничение справедливо для любого СО, не только фармацевтического.

Производители инновационного препарата находятся в более сложной ситуации, чем производители препаратов-дженериков, поскольку для действующего вещества, находящегося под патентной защитой, ФСО отсутствует. Поэтому они должны разрабатывать свой первичный СО и доказывать регистрирующим органам (а затем и инспекции GMP), что данный СО корректно аттестован для предполагаемого применения.

Использование ФСО для пользователя имеет огромные преимущества перед разработкой первичного СО предприятия. При использовании ФСО информация о корректности его аттестации не предоставляется ни регистрирующим органам, ни инспекции GMP – достаточно просто ссылки, какой ФСО используется. Подчеркнем, что в документации важно указывать, ФСО какой именно фармакопеи используется. Так, в USP описаны ГЛС циталопрама, и USP RS предназначен для КО в ГЛС, в отличие от EP CRS.

Пользователь имеет право разрабатывать свои методики, отличающиеся от фармакопейных. В этом случае возникает проблема: пригодны ли имеющиеся ФСО для данного применения? Политика различных фармакопей в данном вопросе различна. USP просто заявляет, что их ФСО предназначены для использования в соответствии с показателями/методиками соответствующей фармакопеи, другое использование ФСО является ответственностью пользователя [7]. Отметим, что наибольшая потребность в СО для фармации – именно для контроля качества ГЛС при их выпуске и обращении. EP, в которой описаны только субстанции, приводит разъяснения/рекомендации в общей статье «Стандартные образцы» [4]: «СО EP с присвоенным количественным содержанием/активностью, предназначенные для КО субстанций, могут также быть пригодными для КО тех же субстанций в ГЛС, если:

– используется хроматографический метод КО, указанный в монографии на активную субстанцию;

– пользователь верифицирует применимость методики для конкретного лекарственного средства (отсутствие мешающих факторов);

– пробоподготовка (например, экстракция) валидирована для конкретного лекарственного средства;

– использование данного СО утверждено компетентным уполномоченным органом».

Таким образом, пользователь имеет право использовать свои методики вместо фармакопейных, но при этом остается непонятным, может он или нет использовать имеющиеся ФСО. Отметим, что в нефармацевтическом секторе в отношении СО действуют несколько иные правила (см. руководство ISO [11]). Для сертифицированных СО (Certified Reference Material, CRM) в сертификате представляется вся информация, необходимая для того, чтобы пользователь мог корректно использовать данный СО для своего применения. Т.е. CRM является «самодостаточным», а не жестко привязанным к фармакопейной методике анализа. Потребность в таких СО имеется и в фармацевтической отрасли. Например, контрольная лаборатория должна сделать заключение, является или нет данный образец фальсификатом. В этом случае лаборатория должна выбирать метод анализа на свое усмотрение, и информация о применимости СО является особенно важной.

В данном аспекте ФСО Государственной фармакопеи Украины (ГФУ) имеют существенное преимущество для пользователя. ФСО ГФУ, как и CRM, сопровождаются сертификатом, в котором приводится информация, необходимая для корректного использования ФСО ГФУ:

– детали аттестации (как установлено аттестованное значение);

– область применения:

- показатель качества, для которого используется ФСО ГФУ и метод анализа;
- максимально узкие допуски содержания для КО, для которых пригоден данный ФСО ГФУ;
- максимально допустимое значение неопределенности аттестованного значения $\max \Delta_{RS}$ и способ ее оценки;

– минимальная навеска, для которой была подтверждена однородность (в случае потенциальной неоднородности ФСО ГФУ).

Более того, при отпуске ФСО ГФУ отслеживается корректность их использования в методике пользователя и в случае необходимости проводится доаттестация ФСО ГФУ для нового применения. Таким образом, при использовании ФСО ГФУ пользователь получает достаточно детальное подтверждение от фармакопеи непосредственно в официальном сертификате на данный ФСО ГФУ о его пригодности для предназначения пользователя. Это является важным моментом для пользователя как при регистрации ЛС, так и при инспектировании со стороны GMP. Кроме того, нали-

чие сертификата на ФСО ГФУ упрощает пересечение границы.

Отметим принципиальную проблему, с которой сталкиваются производители дженериков, на которые нет соответствующих ФСО. Типичной ситуацией является закупка субстанций у зарубежных производителей и производство данным предприятием только ГЛС. Производитель субстанции в состоянии аттестовать свой первичный СО, так как он проводит синтез и при проведении государственной регистрации доказывал ее чистоту и адекватность методов контроля, устанавливал срок годности и т.д., то есть фактически проделывал комплекс работ, который входит в аттестацию первичного СО. Однако производитель субстанции не может обеспечить СО для производителя ГЛС в другой стране (для методов анализа и состава препаратов, о которых он не имеет информации). Тем более производителю готовых ЛС затруднительно аттестовать свой первичный СО, поскольку информации, предоставляемой для регистрации субстанции, недостаточно для аттестации первичного СО.

В связи с этим некоторые фармакопеи предоставляют СО, которые не используются в монографиях данной фармакопеи. Это ФСО USP и ГФУ. Наличие соответствующих USP RS отражено в каталоге (<http://www.usp.org/reference-standards>). Список ФСО ГФУ приведен на сайте <http://www.sphu.org>. Отметим, что новые ФСО ГФУ аттестуют по заявке пользователя (форма заявки приведена на сайте). При аттестации обеспечивается соответствие нового ФСО ГФУ назначению, требуемому пользователю, аттестация проводится достаточно оперативно (1–2 месяца или меньше по согласованию с пользователем).

Проблема обеспечения СО примесей

На современном уровне контроля качества ЛС СО примесей, одной или нескольких, требуются для анализа практически любой субстанции или ГЛС – СО технологических примесей или продуктов деградации. При этом если для определения активного фармацевтического ингредиента нужен один СО, то для контроля чистоты в одном ЛС могут использоваться несколько разных СО. Если активный фармацевтический ингредиент практически всегда может быть аттестован производителем как ВСО из имеющейся для производства субстанции, то вещество сравнения для определения чистоты лаборатория, как правило, должна закупать. Поэтому вопрос обеспечения СО примесей является чрезвычайно важным и наиболее затратным. Как упоминалось выше, для определения чистоты могут использоваться соответствующие реактивы/субстанции, также могут использоваться нефармакопейные СО и, естественно, ФСО.

EP фактически дотирует стоимость СО примесей: стандартная стоимость упаковки EP CRS (€79 без НДС) в очень многих случаях меньше стоимости коммерчески доступного реактива / нефармакопейного СО.

Однако, поскольку в EP не описаны ГЛС, часто EP CRS продуктов деградации, необходимых для определения чистоты ГЛС, отсутствуют.

В Фармакопее Британии (BP) дополнительно по сравнению с EP описаны ГЛС, поэтому в BP используются BP CRS примесей для анализа ГЛС: их каталожная стоимость составляет £97. Для анализа субстанций BP использует монографии EP.

USP опирается на свои монографии субстанций и ГЛС и, соответственно, имеет свои СО. USP RS примесей стоят достаточно дорого – свыше \$800, то есть USP RS примесей на порядок дороже соответствующих СО EP и BP.

Существует целый ряд организаций, которые аттестуют нефармакопейные СО фармацевтических ингредиентов и примесей, для которых отсутствуют соответствующие ФСО. Наиболее известной является LGC [12], политикой которой является предложение пользователю всех примесей, которые описаны как потенциальные в фармакопеех (EP или USP), но для которых отсутствуют ФСО. Однако СО LGC примесей могут быть даже дороже, чем USP RS.

Большинство примесей, которые необходимы для контроля качества ЛС, не являются крупнотоннажными реактивами. Поэтому, если даже данное вещество является коммерчески доступным, очень часто его стоимость превышает стоимость USP RS и СО LGC.

Отметим, что в некоторых случаях именно стоимость СО примесей является критическим моментом. Например, для анализа таблеток клопидогреля сульфата в соответствии с монографией USP необходимы USP RS клопидогреля сульфата и примесей А, В и С, каталожная стоимость которых составляет в сумме около 3000\$ (формально это на 1 анализ!). В фактическую стоимость для потребителя входят еще НДС и услуги посредника, в связи с чем стоимость возрастает еще примерно в 2 раза. Если производитель для дорогих ЛС еще в состоянии обеспечить такие затраты на СО, то при проведении государственного контроля качества ЛС контрольными лабораториями такие затраты нереальны. Вследствие этого даже на рынке стран со строгой регуляторной системой могут присутствовать ЛС худшего качества, чем требуется фармакопеей, как результат – пациент может оказаться незащищенным.

В связи с этим ГФУ аттестует СО для контроля примесей как для тех, которые имеются как ФСО в других фармакопеех, так и для тех, которые отсутствуют, в том числе для фармацевтических субстанций, которые не описаны в фармакопеех. В настоящий момент номенклатура ФСО ГФУ примесей составляет более 200 наименований. В 2015 г. было синтезировано и введено в действие более 30 новых ФСО ГФУ примесей. После того как ФСО ГФУ введен в номенклатуру, каталожная стоимость упаковки составляет около \$50–\$100.

Стоимость аттестации обычно составляет \$500–\$1000. Заказчику предоставляется 10 упаковок ФСО ГФУ. Можно видеть, что стоимость аттестации нового ФСО ГФУ может быть меньше стоимости 1 упаковки USP RS. Такая политика делает ФСО ГФУ примесей доступными для контроля качества ЛС не только для производителей ЛС, но и при обращении ЛС. В связи с этим в настоящее время страны ближнего зарубежья активно сотрудничают с ГП «Фармакопейный центр» по вопросам обеспечения ФСО примесей.

Проблема обеспечения СО для лекарственного растительного сырья (ЛРС) и препаратов из него

Для анализа растительного сырья в ведущих фармакопеех часто используется несколько реактивов или несколько ФСО. Это связано с тем, что в ЛРС зачастую нет одного вещества, которое отвечает за биологическую активность ЛС. Поэтому очень часто для одного вида ЛРС / ЛС из него определяется несколько «маркеров» (сигнальных компонентов). Стоимость данных веществ как реактивов часто гораздо выше стоимости ФСО. Отметим, что для ЛРС и препаратов из него стоимость СО особенно важна, так как обычно и само ЛРС, и препараты из него достаточно дорогие.

В то же время часто ЛРС и ЛС из него анализируют по фармакопейным монографиям, для которых описывается вид типичной хроматограммы. В этих случаях особенно выигрышным решением является использование аттестованного экстракта из соответствующего ЛРС, содержащего все сигнальные компоненты, которые необходимо определять. Отметим, что проблема чрезмерного использования СО неоднократно поднималась пользователями ЕР. Поэтому в тех случаях, где это возможно, ЕР начала вводить вместо СО индивидуальных веществ стандартизованные экстракты, например ЕР CRS экстракта расторопши (<https://www.edqm.eu/en/news/reference-standards>). Для Украины проблема обеспечения ФСО для ЛРС и ЛС из него стояла еще более остро, поэтому ГФУ первой начала вводить такие стандартизованные экстракты, как ФСО ГФУ. Для определения всех необходимых компонентов достаточно одной упаковки ФСО ГФУ. Поэтому затраты на использование ФСО ГФУ могут быть на порядок ниже, чем при использовании соответствующего набора индивидуальных ФСО или реактивов. В настоящее время аттестовано порядка 20 таких экстрактов. Весьма перспективной представляется замена такими СО индивидуальных веществ растительного происхождения, которые использовались в СССР. Например, наработка индивидуального вещества циммарина с приемлемой стоимостью для ФСО в настоящий момент представляется невозможной. В то же время аттестация соответствующего экстракта по биологической активности, которая определялась с использованием СО циммарина, не представляет затруднений.

Метрологические аспекты использования ФСО

Для того чтобы управлять рисками, связанными с принятием решения о качестве ЛС, выполняющая анализ лаборатория должна контролировать неопределенность результата анализа (Δ_{Test}). Неопределенность, вносимая собственно СО (Δ_{RS}), искажает результаты анализа, что уже никоим образом не может устранить лаборатория. Чтобы лаборатория могла контролировать Δ_{Test} , производитель СО должен контролировать Δ_{RS} . Для ФСО производитель – это соответствующий фармакопейный орган, который распространяет данные ФСО. Если лаборатория аттестует свои ВСО для выполнения рутинных анализов, то данная лаборатория также является производителем СО.

Для обеспечения надежности принятия заключения о качестве ЛС важнейшим является понятие максимально допустимой неопределенности ($\text{max}\Delta$) и незначимости.

Варьирование конечного результата анализа (оценкой которого и является Δ_{Test}) является результирующей частных составляющих варьирования, вносимых компонентами аналитической системы. Это варьирования (неопределенности), вносимые аналитиком, собственно методикой анализа, аналитическим оборудованием, СО и др. Как указывалось выше, любой анализ опирается на цепочку калибровок, каждая из которых вносит свою неопределенность в конечный результат анализа. И в каждой калибровке участвует своя аналитическая система. Если изобразить графически влияние частных составляющих неопределенностей на конечный результат, то мы увидим разветвленную многоуровневую цепочку [2]. Собственно говоря, конечной целью лаборатории, которая выполняет анализ, является обеспечение приемлемого значения Δ_{Test} , то есть именно на последнем звене калибровок, которое непосредственно соотносится со спецификациями на ЛС. Оценить экспериментально все составляющие неопределенности практически всегда лаборатория не в состоянии. Например, лаборатория не может экспериментально оценить погрешность приписанного веса для сертифицированной гири, которая используется для калибровки весов, и т.д. То есть для оценки суммарной неопределенности необходимо иметь информацию о количественном вкладе существенных источников неопределенности и иметь методологию оценки суммарной неопределенности.

Такая методология была создана [2, 3]. Наиболее общим подходом является сведение баланса (или прогноз) неопределенности: по определенным правилам из отдельных составляющих Δ_i находится результирующая Δ_{Σ} (для СО это Δ_{RS} , для результата анализа это Δ_{Test} и т.д.). Имеется очень существенное упрощение оценки Δ_{Σ} . Если отдельная Δ_i достаточно мала по сравнению с Δ_{Σ} , то она не оказывает существенного

влияния на Δ_{Σ} и данную Δ_i можно просто не принимать в расчет при оценке Δ_{Σ} . В этом случае говорят, что Δ_i незначима по отношению к Δ_{Σ} .

Принцип незначимости может быть сформулирован из различных соображений. Важно, что для уровня надежности 95% (он используется по умолчанию в аналитической химии и в фармацевтическом анализе) незначимость означает выполнение соотношения [13–15]:

$$\Delta_i \leq 0,32 \times \Delta_{\Sigma}. \quad (1)$$

В общем случае считается, что Δ_{RS} может быть значима по отношению к Δ_{Test} (на такой подход ссылаются ISO [16] и USP [17]). В таком случае для Δ_{Test} необходимо оценить баланс с учетом фактического значения Δ_{RS} . Однако, если Δ_{RS} является значимой по отношению к Δ_{Test} , это приводит к очень нежелательным последствиям с практической точки зрения:

– невыполнение незначимости Δ_{RS} для ФСО: при замене серии ФСО ЛС, которые были проанализированы с использованием предыдущей серии ФСО и признаны качественными (и которые уже находятся в обращении!), могут быть по результатам анализа с использованием новой серии данного ФСО с неприемлемо большим риском признаны некачественными. Если лаборатория использует ВСО, то после замены серии ФСО необходимо переаттестовывать по нему используемые ВСО независимо от того, вышел или нет на них срок годности. В данной ситуации ФСО различных фармакопей не будут взаимозаменяемыми, что создает проблему для международного обращения ЛС. Понятно, что такие «потребительские качества» ФСО ставят под сомнение целесообразность его использования.

– невыполнение незначимости Δ_{RS} для ВСО лаборатории: по результатам анализа, полученным с использованием ФСО и ВСО, с неприемлемо высокой вероятностью могут быть сделаны противоположные заключения о качестве ЛС. Точно так же замена серии ВСО с неприемлемо большой вероятностью может приводить к изменению заключения о качестве произведенного ЛС на противоположное. Если производитель знает об этих рисках, он, безусловно, вообще воздержится от использования такого ВСО.

Таким образом, можно утверждать, что для фармации единственно приемлемым решением является обеспечение незначимости Δ_{RS} по отношению к Δ_{Test} как для ФСО, так и для ВСО лаборатории.

Оценка фактического значения неопределенности (Δ_{Fact}) не имеет смысла без критерия: какое значение неопределенности является максимально допустимым ($\max\Delta$, или целевая неопределенность, *англ.* U_{Target}). При этом $\max\Delta_{Test}$ определяется спецификациями на анализируемое ЛС, соответственно $\max\Delta_{RS}$ определяется предназначением (использованием) данного СО. В настоящее время к $\max\Delta_{Test}$ для КО в

субстанциях и ГЛС фактически предъявляются одни и те же требования EP, USP и ГФУ [18–20]. Кроме того, эти же требования утверждены в Руководстве по валидации методик анализа лекарственных средств Российской Федерации [15]. В ГФУ введены также требования к другим базовым фармацевтическим испытаниям (таблица 1).

Таблица 1.

Рекомендации к максимально допустимой неопределенности результатов анализа ($\max\Delta_{Test}$) для различных фармакопейных испытаний

Испытания	Требования к $\max\Delta_{Test}$	Статус
Количественное определение (двустороннее нормирование): Субстанции	$\max\Delta_{Test} \leq B_H - 100\%$	EP, USP, ГФУ, Россия*
Готовые ЛС	$\max\Delta_{Test} \leq \frac{B_H - B_L}{2} \times 0,32$	USP, ГФУ, Россия*
Количественное определение (одностороннее нормирование): Субстанции и готовые ЛС	$\max\Delta_{Test} \leq 6,4\%$	ГФУ
Однородность содержания, растворение	$\max\Delta_{Test} \leq 3\%$	ГФУ, Россия*
Сопутствующие примеси: Граничные испытания Количественные испытания	$\max\Delta_{Test} \leq 16\%$ $\max\Delta_{Test} \leq 5\%$	ГФУ, Россия*
Остаточные органические растворители	$\max\Delta_{Test} \leq 16\%$	ГФУ, Россия*

Примечание: B_H – верхняя граница содержания по спецификации в %; B_L – нижняя граница содержания по спецификации в %.

*Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств [15].

Исходя из принципа незначимости (1), легко сформулировать требования к СО:

$$\max\Delta_{RS} \leq 0,32 \times \max\Delta_{Test}. \quad (2)$$

Отметим, что применение данного принципа к требованиям для результатов анализа различных испытаний (таблица 1) легко позволяет сформулировать метрологически обоснованные требования к возможности использования субстанций или реактивов без установленного значения содержания, принимая его за 100% (таблица 2).

Рассмотрим позицию различных фармакопей по отношению к концепции неопределенности и использованию принципа незначимости. EP заявляет, что при аттестации всех СО EP контролируется Δ_{RS} в соответствии с внутренними критериями, которые не сообщаются пользователю [21]. Δ_{RS} также не сообщается пользователю. Однако заявляется, что Δ_{RS} незначима для использования СО в соответствии с монографиями EP [4]. USP опубликовала ряд статей в своем печат-

ном органе [22, 23] и в научных журналах [24, 25]. В данных статьях аргументируется положение о том, что для обеспечения надлежащего качества СО необходимо использовать концепцию неопределенности. USP была начата программа аттестации USP CRS: СО, для которых, как и для CRS, указывается Δ_{RS} , способ ее оценки и др. Однако в настоящее время эта программа прекращена и все USP CRS исключены из каталога. ФСО ГФУ аттестуют с использованием концепции неопределенности, для них в сертификате указывается $\max\Delta_{RS}$. Для всех ФСО ГФУ их Δ_{RS} незначима для предполагаемого использования, которое указывается в сертификате.

Таблица 2.

Метрологически обоснованные требования к возможности использования в качестве СО субстанций или реактивов без установленного значения содержания

Испытание	Требования к минимальной чистоте субстанции или реактива, для которых значение содержания принимается равным 100%
Количественное определение – одностороннее нормирование содержания	$\geq 98\%$
Испытание на чистоту – количественное	$\geq 98\%$
Испытание на чистоту – предельное	$\geq 95\%$

Отметим, что лаборатории, контролирующие качество ЛС при их обращении (в США – FDA, в ЕС – OMCL), сертифицированы по ISO 17025 [26] и для них оценка неопределенности результата анализа является обязательной. Сертификация лабораторий производителей ЛС по ISO 17025 автоматически приводит к необходимости использования концепции неопределенности и в этих лабораториях. Таким образом, концепция неопределенности в фармацевтической отрасли находится на этапе внедрения, необходимость которого не вызывает сомнений.

Концепция неопределенности, которая сфокусирована на варьировании именно конечного результата анализа и его соотношении со спецификациями, позволяет выявить многочисленные нестыковки и недостаточность метрологического контроля, который применялся к отдельным метрологическим характеристикам отдельных компонентов аналитической системы. Например, в Европейском сообществе и в странах, ориентирующихся на данные принципы стандартизации, для ГЛС допуски содержания для КО $\pm 5\%$ принимаются компетентными органами без дальнейшего обоснования. В монографиях USP традиционно используются допуски содержания $\pm 10\%$. Совершенно очевидно, что чем уже допуски содержания, тем жестче должны предъявляться требования к $\max\Delta_{Test}$, к Δ_{RS} , к критериям валидации методик, к критериям квалификации оборудования и т.д. Поэтому у пользователя и у компетентных органов нет оснований считать,

что в такой ситуации USP RS пригодны для КО в ГЛС с допусками $\pm 5\%$. Более того, нет оснований считать, что методики USP из таких монографий являются валидованными для применения в ГЛС с допусками $\pm 5\%$. Безусловно пригодными являются методики и USP RS, описанные в монографиях USP на ГЛС с допусками $\pm 5\%$, однако такие монографии являются немногочисленными. Этот вывод имеет огромную практическую значимость и с точки зрения концепции неопределенности лежит на поверхности.

Еще один вывод, вытекающий из применения концепции неопределенности и имеющий огромную практическую значимость, сделала EP [27]: поскольку для количественных испытаний (к которым относятся и испытания на чистоту!) пользователю необходимо знать неопределенность, вносимую СО, а EP ее не сообщает, то СО EP не могут использоваться для аттестации ВСО, предназначенных для КО и для определения чистоты. Фактически СО EP могут использоваться только для аттестации ВСО для идентификации (идентификация методом спектрофотометрии в инфракрасной области) и для идентификации пиков хроматографическими методами. Естественно, такое ограничение существенно снижает потребительскую ценность СО EP. Отметим, что поскольку Δ_{RS} не сообщается и для USP RS, то это ограничение в полной мере относится и к ним.

Другая проблема связана с различием в метрологических требованиях к КО в субстанциях и ГЛС. Для субстанций, в которых для КО используется не титрование, а не прямые (сравнительные) методы анализа (хроматография, спектрофотометрия), то есть если для анализа используются СО, тогда в соответствии с подходом EP V_H должен составлять не менее 102%. Это означает, что $\max\Delta_{Test}$ составляет 2%. EP заявляет, что для СО EP Δ_{RS} является незначимой для фармакопейного применения, то есть для анализа субстанций. Однако для ГЛС с допусками содержания $\pm 5\%$ незначимость Δ_{RS} означает более жесткие требования к СО, чем для анализа субстанций с $V_H=102\%$. Таким образом, если для СО EP $\max\Delta_{RS}$ не заявляется, то нет оснований считать, что СО EP пригодны для КО в ГЛС с допусками содержания $\pm 5\%$.

Отметим, что ГФУ на настоящий момент является единственной фармакопеей, в которой концепция неопределенности используется систематически для обеспечения качества результатов анализа. Концепция неопределенности используется для обеспечения метрологической корректности методик анализа, в том числе и фармакопейных [28, 29], для валидации методик и испытаний [17, 30], для аттестации СО – ФСО ГФУ и ВСО лабораторий [31], для квалификации аналитического оборудования [32] и т.д. Самые первые ФСО ГФУ (1999 г.) [33] были аттестованы с использованием концепции неопределенности. ФСО ГФУ имеют важнейшие преимущества по сравнению с ФСО других фармакопей, для которых концепция неопределенности не реализована в явной форме:

– при замене серии ФСО ГФУ полученные ранее заключения о качестве ЛС с высокой надежностью остаются теми же, так как для ФСО ГФУ заявляется $\max \Delta_{RS}$ и обеспечивается ее незначимость;

– ФСО ГФУ могут быть корректно использованы для аттестации ВСО лаборатории для КО и определения примесей по этой же причине. При замене серии ФСО ГФУ не требуется переаттестация имеющихся ВСО лабораторий.

Все ФСО ГФУ, предназначенные для КО, аттестуют исходя из наиболее жестких требований: все ФСО ГФУ предназначены для анализа ГЛС с допусками $\pm 5\%$.

Отметим, что производитель заинтересован использовать при выпуске более жесткие спецификации, чем в течение срока годности ЛС, чтобы гарантировать качество произведенных им ЛС, которые в процессе обращения могут быть проконтролированы другой лабораторией [32]. Поскольку для ФСО ГФУ заявляется незначимость Δ_{RS} и в явном виде указывается, что это означает, то ФСО ГФУ совершенно обоснованно могут использоваться предприятиями для этой задачи. Получить такие гарантии качества ЛС с использованием СО, для которых нет информации о Δ_{RS} , с точки зрения концепции неопределенности невозможно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для обеспечения качества результатов анализа ЛС при использовании СО необходимо принимать во внимание метрологические аспекты.

Для количественного определения рекомендует использовать только СО с присвоенным значением содержания. Использование субстанций или реактивов вместо СО возможно в испытаниях на чистоту и в случае одностороннего нормирования в количественном определении и должно быть метрологически обосновано.

Использование ФСО всегда имеет преимущество перед использованием первичного СО предприятия, субстанции или реактива.

Для корректного использования СО пользователь должен иметь информацию о неопределенности аттестованного значения. ФСО ГФУ аттестуют для анализа ЛС, не описанных в фармакопеях, что обеспечивает сопоставимость результатов анализа. Для ФСО ГФУ предоставляется информация о неопределенности и гарантируется ее незначимость для задач пользователя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Международный словарь по метрологии: основные и общие понятия и соответствующие термины / Всерос. науч.-исслед. ин-т метрологии им. Д.И. Менделеева, Белорус. гос. ин-т метрологии; пер. с англ. и фр. 2-е изд., испр. – СПб.: НПО «Профессионал», 2010. 82 с.
2. EURACHEM/CITAC Guide CG 4: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd ed. / Ed. by S. L. R. Ellison, A. Williams. – London: Laboratory of the Government Chemist, 2012. 133 p.
3. <5.3.N.1> Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр лікарських засобів», 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр лікарських засобів», 2015. Т. 1. С. 881–909.
4. PIC/S GMP Publications. Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme. URL: <http://www.picscheme.org/publication.php> (дата обращения 04.04.2016).
5. 5.12. Reference standards // European Pharmacopoeia, 8th ed., Suppl. 8.4. – Strasbourg : EDQM – Council of Europe, 2015. P. 4681–4684.
6. <1010> Analytical Data – Interpretation and Treatment // The United States Pharmacopeia. USP 36–NF 31. – Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, Inc. Online Edition.
7. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products (Q 6 B). Current Step 4 version. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). URL: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6B/Step4/Q6B_Guideline.pdf (дата обращения 22.03.16).
8. Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines. European Commission, DG Health and Food Safety, Public Health, EU Pharmaceutical Informations, EudraLex, V. 4. URL: http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm (дата обращения 22.03.16).
9. Technical Guide for the Elaboration of Monographs, 7th ed. European Pharmacopoeia, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). – Strasbourg. 2015.
10. <11> USP REFERENCE STANDARDS // The United States Pharmacopeia. USP 38–NF 33. – Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2015. P. 93–96.
11. ISO Guide 34:2009(E): General requirements for the competence of reference material producers, 3rd ed. International Organization for Standardization. ISO copyright office. – Geneva. 2009.
12. S. Wood. Challenges associated with import and export of RS // Pharmaceutical Reference Standards. Proc. 11th Int. Symp. organized by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), 3–4 September, 2012. – Strasbourg: Council of Europe. 2012. P. 22.

13. Standard ASME B89.7.3.1: Guidelines for decision rules: considering measurement uncertainty in determining conformance to specifications. American Society of Mechanical Engineers (ASME). New York, 2001. URL: <http://www.asme.org/products/codes-standards/b89731-2001-guidelines-decision-rules-considering> (дата обращения 05.03.2016).
14. 1251> Weighting on Analytical Balance // The United States Pharmacopeia. USP 39-NF 34S1 – Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2016. P. 1797–1803.
15. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна, М.А. Гетьмана, А.А. Малина. – М.: Спорт и культура, 2000. 2007. С. 192.
16. ISO Guide 34:2000(E): General requirements for the competence of reference material producers. International Organization for Standardization. ISO copyright office. – Geneva. 2000.
17. J. Weitzel. How to monitor reference substances for continuous fitness for purpose: novel approaches or solutions to challenges? // Pharmaceutical Reference Standards. Proc. 11th Int. Symp. organised by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), 3–4 September 2012. – Strasbourg: Council of Europe, 2012. P. 16.
18. A. G. J. Daas, J. H. McB Miller. Content limits in the European Pharmacopoeia // Pharmeuropa. 1997. V. 9 (1). P. 148–156.
19. <1200> Requirements for Compendial Validation // Pharmacopeial Forum. 2013. № 39(6). URL: <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html> (дата обращения 05.03.16).
20. <5.3.N.2> Валидація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр лікарських засобів», 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр лікарських засобів», 2015. Т. 1. С. 910–929.
21. S. Dressman, V. Egloff. Asked questions addressed to compendial organizations / Pharmaceutical Reference Standards. Proc. 11-th Int. Symp. organised by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), 3–4 September 2012. – Strasbourg: EDQM, 2012. P. 23.
22. K. Byrialsen, E.M. Soerensen, U.M. Riber et al. Uncertainty Statements Regarding USP Reference Standards // Pharmacopoeial Forum. 2008. № 34(2). URL: www.uspph.com/pf/ (дата обращения 05.03.2016).
23. R.G. Manning, S. Lane, S. Dressman et al. The application of uncertainty to USP's reference standards program: certified reference materials // Pharmacopoeial Forum. 2007. V. 33 (6). P. 1300–1310.
24. R.L. Williams. Official USP Reference Standards: metrology concepts, overview, and scientific issues and opportunities // Jour. Pharm. Biomed. Anal. 2006. V. 40(1). P. 3–15.
25. W.F. Koch, W.W. Hauck, S.S. de Mars, R.L. Williams. Measurement science for food and drug monographs: toward a global system // Pharm. Res. 2010. V. 27(7). P. 1203–1207.
26. ISO/IEC 17025:2005: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. International Organization for Standardization. ISO copyright office. – Geneva. 2005.
27. A.G. Daas, J.H. Miller. Relationship between content limits, system suitability for precision and acceptance. Rejection criteria for Assays using chromatographic methods // Pharmeuropa. 1999. V. 11(4). P. 571–577.
28. Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб. Метрологический контроль результатов анализа: специфика применения концепции неопределенности в фармацевтическом анализе // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 4(5). С. 68–75.
29. А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, М.Г. Левин. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ // Фізіологічно активні речовини. 2001. № 1(31). С. 32–44.
30. А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпужников. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. 2004. № 3. С. 3–17.
31. Д.А. Леонтьев. Фармацевтические стандартные образцы // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества ЛС / Под ред. чл.- корр. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Харьков: Изд-во НТМТ, 2012. Т. 3. С. 1064–1118.
32. Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб, А.А. Зинченко и др. Квалификация лабораторного оборудования – метрологическая концепция. Сообщение 2. Реализация метрологической концепции для спектрофотометров УФ- и видимой областей спектра // Фармацевтическая отрасль. 2013. № 5(40). С. 106–110.
33. А.И. Гризодуб, М.Г. Левин М. Г., Д.А. Леонтьев и др. Аттестация стандартных образцов. Сообщение 1. Аттестация вторичных стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств // Фармаком. 1999. № 2. С. 46–51.
34. Д.А. Леонтьев, А.И. Гризодуб. Метрологический контроль результатов анализа: требования к максимально допустимой неопределенности для количественного определения и гарантия качества продукции // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. № 3(8). С. 10–17.