

Авторы:

Ken Neubauer

Aaron Hineman

PerkinElmer Inc.  
Shelton CT

## Анализ препаратов, содержащих $\text{SiO}_2$ и $\text{TiO}_2$ методом ИСП-ОЭС в соответствии с инструкциями USP 232/233 и программным обеспечением, в соответствии требованиям 21 CFR часть 11

### Введение

С начала 2018 года производители фармацевтической продукции обязаны соблюдать требования USP <232 / <233>, касающиеся анализа примесей элементов в лекарственных препаратах [1,2].

В свободном доступе находится подробное описание требований USP <232> / <233> [3], поэтому в представленной статье приведено только краткое описание. Элементы подразделяются на четыре класса, причем класс 1 является наиболее токсичным, а элементы класса 2A - вероятными загрязняющими веществами в процессе производства (т.е. попадают в образцы из оборудования, ёмкостей из нержавеющей стали и т.д.). Таким образом, эти два класса представляют собой наиболее важные элементы для определения в фармацевтических препаратах. Максимально допустимые суточные дозы (PDE) для перорального применения показаны в таблице 1.

Таблица 1. Максимальная пероральная суточная доза для элементов, определенных в USP <232>.

Элемент	Класс	Пероральная суточная доза PDE* (мкг/день)
Cd	1	5
Pb	1	5
As (неорг.)	1	15
Hg (неорг.)	1	30
Co	2A	50
V	2A	100
Ni	2A	200

\*PDE = предел допустимого воздействия из расчета на 50 кг массы тела.

Фактические концентрации, которые должны быть измерены в растворе, зависят от значения J, которое основано на максимальном PDE элемента, максимальной суточной дозе лекарства и коэффициенте разведения, полученном при подготовке образца.

Фармацевтические таблетки представляют собой сложные смеси, которые могут содержать широкий спектр наполнителей. Ввиду такого разнообразия микроволновое разложение в закрытых сосудах является наиболее эффективным методом перевода таблеток в раствор без потери летучих элементов, таких как ртуть (Hg). Однако, когда в таблетках содержатся диоксид кремния (SiO<sub>2</sub>) и диоксид титана (TiO<sub>2</sub>) в качестве наполнителей, растворение становится затруднительным, так как необходимо использовать плавиковую кислоту (HF). Присутствие HF также требует использования компонентов системы ввода пробы, не содержащих в своем составе стекла, или необходимо нейтрализовать фториды на этапе пробоподготовки.

При анализе фармацевтических образцов важно соблюдать 21 CFR часть 11, которая является обязательной для компаний и их поставщиков, работающих в регулируемых условиях для продажи продукции в Соединенные Штаты. Этот регламент выдвигает критерии для электронных записей, электронных подписей и контрольных журналов для обеспечения целостности и надежности данных во время проведения аналитических работ. Программное обеспечение Syngistix™ for ICP Enhanced Security™ (версия 4.0 или выше) было разработано, чтобы помочь компаниям соблюдать правила и поддерживать лучшие практики, изложенные в 21 CFR часть 11.

Таблица 2. Информация об образцах.

Тип лекарства	Наполнитель	Действующее вещество	Дневная доза	Масса в таблетке (г)
Средство от изжоги	TiO <sub>2</sub>	Ранитидин, 75 мг	2 таблетки	0.13
		Ранитидин, 150 мг	2 таблетки	0.32
		Фамотидин, 20 мг	2 таблетки	0.21
Снотворное	SiO <sub>2</sub>	Дифенилгидрамин, 25 мг	2 таблетки	0.43
		Дифенилгидрамин, 25 мг	2 таблетки	0.42
Средство от морской болезни	SiO <sub>2</sub>	Меклизин, 25 мг	2 таблетки	0.20

Представленная работа посвящена подготовке образцов и анализу элементов класса 1 и 2A в таблетках, также содержащих SiO<sub>2</sub> и TiO<sub>2</sub>, с использованием ИСП-ОЭС спектрометра PerkinElmer Avio® 200 с программным обеспечением Syngistix™ for ICP Enhanced Security (версия 4.0) для обеспечения соответствия требованиям 21 CFR часть 11.

## Экспериментальная часть

### Образцы и пробоподготовка

Все образцы, приобретенные в аптеке и представленные в таблице 2, представляли собой таблетки (т.е. для перорального введения), содержащие либо SiO<sub>2</sub>, либо TiO<sub>2</sub> в качестве вспомогательных ингредиентов. Присутствие этих соединений потребовало использования плавиковой кислоты (HF) для полного растворения и разложения пробы с помощью микроволновой системы пробоподготовки Titan MPS™ (PerkinElmer, Шелтон, Коннектикут, США) с использованием образцов и реагентов, приведенных в таблице 3. Соляная кислота (HCl) была необходима для стабилизации ртути (Hg). По одной таблетке каждого лекарственного средства помещали в соответствующие сосуды, затем вводили добавки. Далее добавляли азотную, соляную и плавиковую кислоты, а затем деионизированную воду. Сосуды оставляли на 10 минут без крышки перед тем, как помещать в микроволновую печь для разложения.

Программа микроволнового разложения Titan MPS™ приведена в Таблице 4. Непосредственно микроволновое разложение проб выполняется на первых двух этапах, причем Шаг 3 необходим для быстрого охлаждения сосудов для безопасного извлечения сосудов.

Использование HF требует наличия альтернативных компонентов для ввода образца в спектрометр, то есть распылительной камеры и распылителя, которые не содержат стекла или кварца, если только HF не связана в растворе комплексом. Для образования комплекса после разложения пробы в каждый сосуд добавляли 3 мл перенасыщенного раствора борной кислоты и повторно проводили разложение, следуя программе в таблице 5. Полученные прозрачные растворы были перенесены в пробирки и разбавлены до 50 мл деионизированной водой. Этот конечный раствор анализировали на ИСП-ОЭС спектрометре Avio 200 с использованием стеклянных распылителя и распылительной камеры.

Таблица 3. Объемы кислот и воды, взятые на каждый сосуд для разложения.

Образец	HNO <sub>3</sub> 70% (мл)	HCl 35% (мл)	HF 49% (мл)	Вода (мл)
Таблетка	1.5	0.5	0.5	7.5

Таблица 4. Программа разложения для микроволновой системы Titan MPS.

Этап	Темп. (°C)	Давление (бар)	Нагрев (мин)	Выдержка (мин)	Мощность (%)
1	160	35	5	1	90
2	190	35	5	5	100
3*	50	35	1	15	0

\* Этап охлаждения

Таблица 5. Программа микроволновой системы Titan MPS для комплексации плавиковой кислоты

Этап	Темп. (°C)	Давление (бар)	Нагрев (мин)	Выдержка (мин)	Мощность (%)
1	190	35	5	10	90
2*	50	35	1	15	0

\* Этап охлаждения

### Построение градуировочных кривых

Согласно предписаниям USP <233>, градуировочные кривые должны быть построены из стандартных растворов на уровнях 0,5J и 1,5J. Поскольку половина дневной дозы использовалась для подготовки образца, J-значения для всех лекарств были эквивалентны, хотя и различались в зависимости от элемента. Для определения подходящих концентраций использовался PerkinElmer J-Value Calculator.

Калибровочный бланк и стандарты были приготовлены в 3% HNO<sub>3</sub> + 1% HCl (v/v) для того, чтобы учесть матрицу образцов после разложения. Все измерения были относительно построенных градуировочных кривых. Чтобы оценить потенциальные наложения, одноэлементные стандарты каждого элемента были подготовлены для значения J, проанализированы индивидуальные спектры. Таблица 6 показывает концентрации элементов при различных значениях J, используемых в этой работе.

Таблица 6. Концентрации элементов при различных J-значениях.

Элемент	0.5J (мг/л)	1J (мг/л)	1.5J (мг/л)
Cd	0.025	0.05	0.075
Pb	0.025	0.05	0.075
As	0.075	0.15	0.225
Hg	0.15	0.3	0.45
Co	0.25	0.5	0.75
V	0.5	1	1.5
Ni	1	2	3

### Оборудование и условия измерения

Все анализы были выполнены на оптическом эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Avio 200 (PerkinElmer) с использованием условий и параметров, указанных в таблице 7, а также аналитических длин волн, перечисленных в таблице 8. Использовались стандартные условия измерений и ввода пробы, в том числе и общее потребление аргона 9 л/мин. Все измерения были сделаны по градуировочным графикам, с помощью растворов приготовленных в 3% HNO<sub>3</sub> и 1% HCl. Иттрий (Y) был добавлен ко всем бланкам, стандартам и растворам проб в качестве внутреннего стандарта. Оптимизированное время анализа одного образца и перехода к следующему составляет около 1,5 минут.

Таблица 7. Параметры ИСП-ОЭС спектрометра Avio 200.

Параметр	Значение
Распылитель	Стеклянный, MEINHARD® Type K
Распылительная камера	Стеклянная циклонная с внутренней перегородкой
Скорость подачи пробы	1.0 мл/мин
Мощность РЧ-генератора	1500 Вт
Инжектор	Корундовый 2.0 мм внутренний диаметр
Поток газа распылителя	0.7 л/мин
Поток вспомогательного газа	0.2 л/мин
Поток газа плазмы	8 л/мин
Позиция горелки	-3
Режим обзора плазмы	Аксиальный
Количество реплик	3

Таблица 8. Определяемые элементы и использованные длины волн.

Элемент	Длина волны (нм)
As	193.696
Cd	214.440
Co	238.892
Hg	194.168
Ni	231.604
Pb	220.353
V	309.310
Y (внутр.ст.)	371.029

Для удовлетворения требований к целостности данных фармацевтической промышленности использовалось программное обеспечение Syngistix for ICP Enhanced Security версии 4.0. Это программное обеспечение обладает всеми возможностями Syngistix for ICP, но при этом еще и обладает дополнительными функциями, необходимыми для соответствия 21 CFR часть 11, включая электронные подписи, электронный анализ данных, возможность настраивать разных пользователей и группы с разными разрешениями, ведение журнала контроля, отслеживание. Примеры проведения аудита, отслеживания изменений файлов и электронного просмотра данных показаны на рисунках 1-3 соответственно.

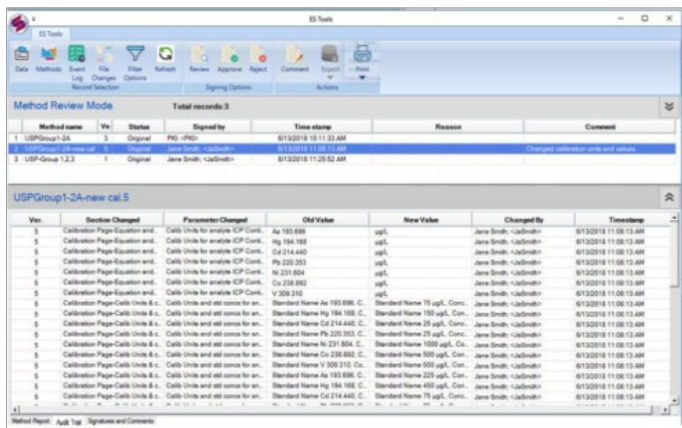


Рисунок 1. Пример журнала контроля в Syngistix for ICP Enhanced Security версии 4.0. Журнал контроля показывает любые изменения, внесенные в метод и, для безопасности данных, может быть напечатан в PDF в удобном читаемом формате.

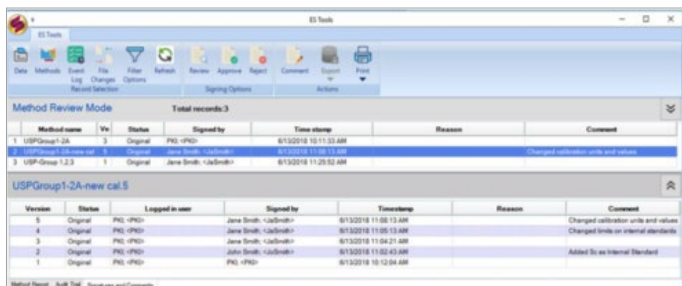


Рисунок 2. Пример отслеживания изменений файлов в Syngistix for ICP Enhanced Security версии 4.0. Значок метода на ленте позволяет сортировать и просматривать отчеты о методах, контрольный журнал, а также подписи и комментарии. Отслеживание изменений файлов позволяет быстро и легко увидеть, когда метод был изменен и одобрен. Те, кто имеет соответствующие разрешения, могут одобрить или отклонить новые или измененные методы.

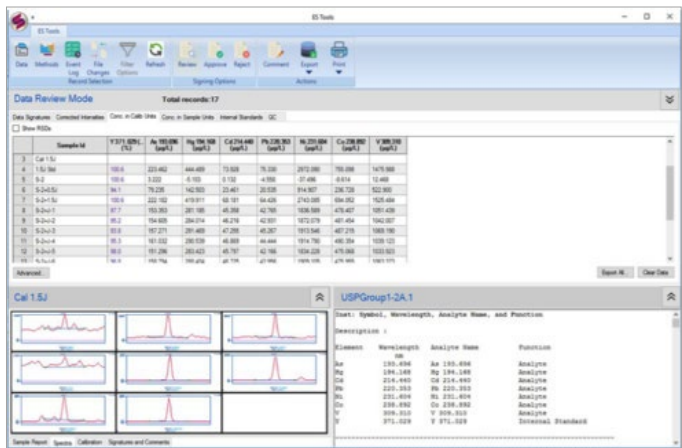


Рисунок 3. Пример электронного просмотра данных в Syngistix for ICP Enhanced Security версии 4.0. Режим просмотра данных позволяет проводить параллельное сравнение результатов, спектров и калибровок, а также возможность просматривать и добавлять подписи и комментарии в настраиваемых окнах. Это простой и быстрый способ просмотра данных. Те, кто имеет соответствующие разрешения, могут утверждать или отклонять данные.

## Обсуждение результатов

### Учет наложений

Чтобы оценить потенциал наложения длин волн элементов друг на друга, были проанализированы одноэлементные стандарты каждого элемента при их концентрации для J-значения. Исследование полученных спектров не выявило спектральных наложений на выбранных длинах волн.

## Анализ образцов

Концентрации для всех элементов во всех проанализированных образцах составили менее 0,3J-значения - более чем в три раза ниже, чем PDE.

## Соответствие критериям USP <233>

Для валидации анализа USP <233> определяет несколько критериев, которые должны быть выполнены в соответствии с таблицей 9. Эти параметры валидации были оценены при анализе одного из TiO<sub>2</sub>-содержащих и одного из SiO<sub>2</sub>-содержащих препаратов.

Таблица 9. Аналитические критерии, определенные в USP <233>.

Критерий	Описание
Точность	Выходы по концентрациям добавок элементов для значений 0,5J, J и 1,5J должны быть в диапазоне 70-150%
Повторяемость	Значения относительного стандартного отклонения для измерений шести независимых образцов с добавками по J должно быть менее 20%
Воспроизводимость	Шесть растворов должны быть проанализированы в разные дни, на разных инструментах или разными людьми. Значения относительного стандартного отклонения должны быть меньше 25%
Стабильность	Разница в результатах анализа градуировочного стандарта (1,5J), полученных в начале и в конце анализа, должна быть меньше 20%

Прежде всего, стабильность была определена путем измерения стандартного раствора 1,5J в начале (после градуировки) и в конце анализа таблеток. При значении отклонения менее 5% (рисунок 4) метод легко проходит по допустимому пределу в 20%.

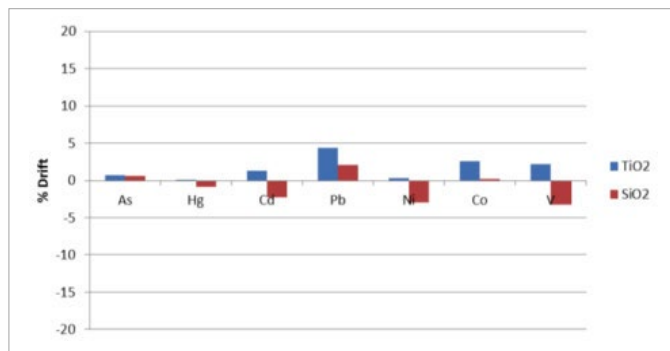


Рисунок 4. Тест на стабильность: дрейф стандарта 1,5J в начале и в конце анализа таблеток, содержащих TiO<sub>2</sub>- (синий) и SiO<sub>2</sub>- (красный).

После доказательства соответствия критерию по стабильности была оценена точность метода. Как определено в USP <233>, точность должна быть оценена путем измерения концентраций добавок элементов для значений 0,5J, 1J и 1,5J, с выходом по концентрациям в диапазоне 70-150%. Добавки вводили в сосуды перед добавлением кислот для того, чтобы провести их через всю процедуру подготовки образца для учета потенциального загрязнения или потери аналита. На рис. 5 показаны выходы по концентрациям таблеток, как содержащих TiO<sub>2</sub>, так и SiO<sub>2</sub>. Все выходы по концентрациям элементов находятся в пределах 10% от их истинных значений, что соответствует критерию точности метода.

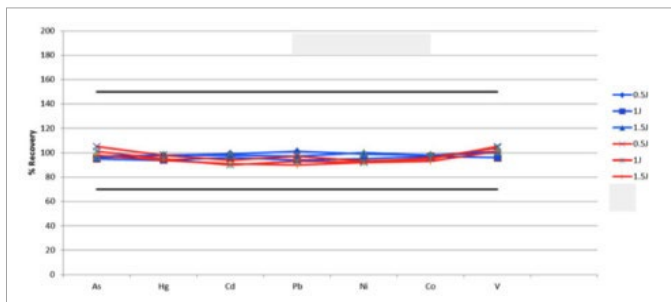


Рисунок 5. Выходы по концентрациям добавок элементов для значений 0,5J, 1J и 1,5J в препаратах, содержащих TiO<sub>2</sub>- (синий) и SiO<sub>2</sub>- (красный). Черные линии показывают пределы USP <233>.

После того, как была установлена точность метода, повторяемость результатов измерений проб была оценена путем анализа шести таблеток одного и того же лекарственного средства (как для TiO<sub>2</sub>-, так и для SiO<sub>2</sub>-содержащих таблеток), добавленных на уровне значения J перед разложением. Для этого образцы проанализировали и рассчитали относительное стандартное отклонение для шести измерений. Полученное значение составило менее 5% (рисунок 6), что полностью соответствует критерию повторяемости - не более 20%.

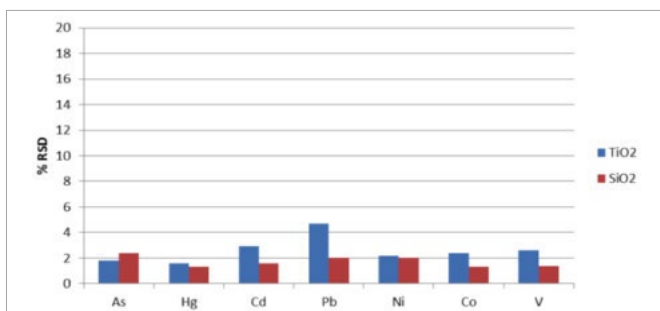


Рисунок 6. Относительное стандартное отклонение для добавок по элементам шести TiO<sub>2</sub>-содержащих (синий) и SiO<sub>2</sub>-содержащих (красный) таблеток.

Окончательным критерием проверки является воспроизводимость метода, которая была оценена путем измерения шести образцов, использованных для исследования повторяемости в разные дни. Относительное стандартное отклонение по всем элементам составило менее 5% во всех 12 образцах (как показано на рис. 7), что полностью удовлетворяет критерию по воспроизводимости не более 25%.

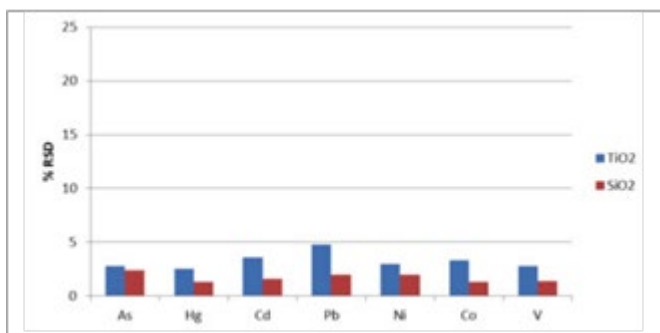


Рисунок 7. Относительно стандартное отклонение для добавок по элементам шести TiO<sub>2</sub>-содержащих (синий) и SiO<sub>2</sub>-содержащих (красный) индивидуальных таблеток проанализированных в течение двух дней (всего 12 измерений).

## Заключение

Представленная работа демонстрирует способность ИСП-ОЭС спектрометра Avio 200 соответствовать критериям USP <232> / <233> для элементов классов 1 и 2A в таблетках, содержащих TiO<sub>2</sub> или SiO<sub>2</sub> в качестве наполнителей, с использованием программного обеспечения Syngistix for ICP Enhanced Security версии 4.0, соответствующего регламенту 21 CFR часть 11. Микроволновое разложение в закрытом сосуде с использованием системы Titan MPS помогло предотвратить потерю аналита и провести быстрое и полное разложение пробы с использованием минимального количества кислот. Хотя для полного растворения TiO<sub>2</sub> и SiO<sub>2</sub> требуется вводить HF во время микроволнового разложения, при измерении на спектрометре можно использовать стеклянные компоненты системы ввода пробы, поскольку после первичного разложения HF была связана в комплекс с раствором борной кислоты.

Разработанный метод демонстрирует, что анализ обоих типов образцов соответствует критериям USP по стабильности, точности, повторяемости и воспроизводимости результатов измерений на ИСП-ОЭС спектрометре Avio 200.

Соответствие регламенту 21 CFR часть 11 является обязательным для фармацевтических компаний и их поставщиков для продажи продукции в Соединенные Штаты. Программное обеспечение Syngistix for ICP Enhanced Security версии 4.0 предоставляет необходимые функции, описанные в 21 CFR часть 11, такие как целостность данных, электронные подписи и записи и защищенные журналы контроля, для обеспечения безопасности и отслеживания данных подконтрольных лабораторий.

## Список литературы

1. General Chapter <232> Elemental Impurities – Limits: 2<sup>nd</sup> Supplement of USP 35-NF 30
2. General Chapter <233> Elemental Impurities – Procedures: 2<sup>nd</sup> Supplement of USP 35-NF 30
3. "Implementation of USP New Chapters <232> and <233> of Elemental Impurities in Pharmaceutical Products", white paper, PerkinElmer, 2013.
4. "Syngistix for ICP Enhanced Security Software for 21 CFR Part 11 Compliance", product note, PerkinElmer 2018.

## Использованные расходные материалы

Название	Кат. номер
Трубки для слива пробы, Красн./Красн. (1.14 мм внутр. диам.)	09908585
Трубки для слива пробы, Черн./Черн. (0.76 мм внутр. диам.), с расширением	N0777043
Виалы для автодозатора	B0193233 (15 мл) B0193234 (50 мл)
ICH Class 1 Elements + TI – Oral PDE	N9304362
ICH Class 2A Elements – Oral & Parenteral PDEs	N9304363
Стандартный раствор Иттрия (1000 мг/л)	N9303810 (125 мл) N9300167 (500 мл)

## Scheltec AG

Официальный представитель  
PerkinElmer, Inc. в странах СНГ,  
Грузии и Монголии

**Scheltec**  
Total Laboratory

тел.: +7 (495) 935-8888  
info@scheltec.ru  
www.scheltec.ru