



УДК 615.072

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ИНФУЗИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ПРЕПАРАТОВ. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА
ОБНАРУЖЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРОУГЛЕРОДА****QUALITY CONTROL OF INFUSION MEDICATIONS. THE
SPECTROPHOTOMETRIC METHOD OF DETECTION AND QUANTIFICATION
OF CARBON DISULFIDE****А.А. Зинченко¹, О.О. Новиков², Е.Т. Жилякова²,
Д.И. Писарев², О.А. Селютин³****A.A. Zinchenko¹, O.O. Novikov², E.T. Zhilyakova², D.I. Pisarev², O.A. Selyutin³**¹ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»
61000, Украина, г. Харьков, ул. Астрономическая, д.33²Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, г. Белгород, ул. Победы, д.85³Воронежский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств
394051, г. Воронеж, ул. Писателя Маршака, д.1¹Ukrainian Scientific Center pharmacopoeia drug quality
61000, Ukraina, Kharkiv, Astronomicheskaya street, 33²Belgorod National Research University
308015, Belgorod, Pobedy street, 85³Voronezh Center of quality control and certification of medicines
394051, Voronezh, Pisatelya Marshaka street, 1

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

Ключевые слова: инфузионные лекарственные средства, сероуглерод, идентификация и количественное определение.

Key words: infusion drugs, carbon disulfide, identification and quantitative determination.

Резюме. В статье представлены результаты исследования по разработке альтернативной спектрофотометрической методики определения сероуглерода в инфузионных лекарственных средствах.

Summary. The article presents the results of a study on the development of alternative methods of spectrophotometric determination of carbon disulfide in infusion drugs

Введение

На качество инфузионных лекарственных препаратов в значительной степени влияет качество первичной упаковки. Неправильный выбор материалов и отсутствие должного контроля его качества приводит к тому, что уже на последних стадиях производства инфузионных растворов и в процессе их хранения в препараты могут попадать токсичные вещества.

В 2005–2006 гг. при совместных исследованиях, проведенных в ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств» (г. Харьков) и в Белгородском государственном университете [Жилякова Е.Т. 2006, Зинченко А.А. 2006], было установлено, что в ряде инфузионных препаратов украинского, белорусского и российского производства в концентрациях от 50 мкг/л до 950 мкг/л присутствует высоко токсичное соединение - сероуглерод. Причем концентрация его в лекарственных препаратах превосходило даже предельно допустимую норму для сточных вод целлюлозно-бумажных производств [Беспамятнов Г.П., Кротов Ю.А. 1985].

В отличие от российских, украинские производители лекарственных препаратов, достаточно быстро отреагировали на публикации о наличие сероуглерода в лекарственных средствах и путем замены упаковочного материала устранили саму возможность образования и попадания сероуглерода в инфузионный раствор, заменив укупорочный материал. Выборочный контроль инфузионных лекарственных препаратов на наличие сероуглерода российского и белорусского производства представленных в аптечных сетях Казахстана (г. Алма-Ата) и Российской Федерации (г. Белгород и Белгородская область, Тульская область) проведенный в апреле – июле 2015 г. показал, что все препараты, укупоренные резиновыми пробками черного цвета содержат сероуглерод.

Обнаружение и количественное определение сероуглерода проводили методом газовой хроматографии с использованием селективного по отношению к соединениям серы пламенно-фотометрического детектора, по методике, опубликованной в 2006 г. [Зинченко А.А. 2006]. Дополнительно, наличие сероуглерода в лекарственных препаратах подтверждали методом хромато-масс-спектрометрии. Типичные хроматограммы полученные при контроле инфузионных препаратов на наличие сероуглерода и масс-спектры представлены на рис. 1.

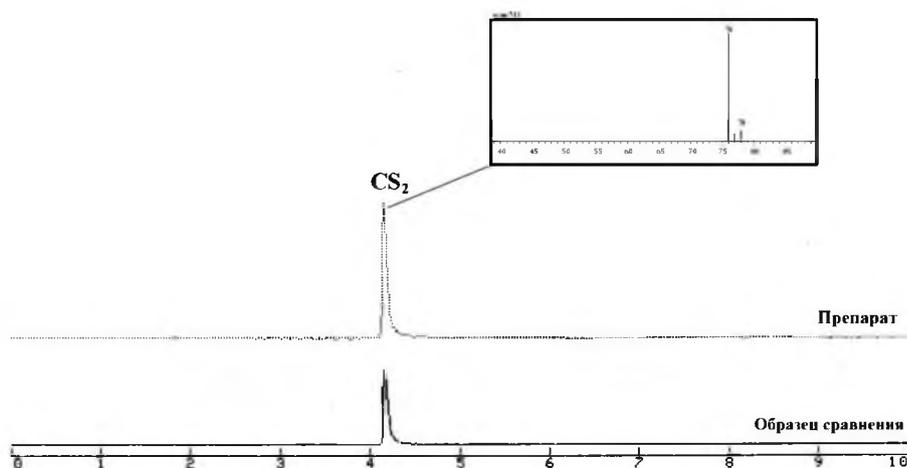


Рис. 1. Хроматограммы равновесной паровой фазы препарата «Реополиглюкин, раствор для инфузий» и равновесной паровой фазы 1,0% раствора натрия хлорида с концентрацией сероуглерода 200 мкг/л
Fig.1. Chromatogram of an equilibrium steam phase of the preparation "Reopoliglyukin, Solution for Infusions" and an equilibrium steam phase of 1,0% of solution of sodium of chloride with concentration of carbon sulfur of 200 мкг/л

Практически полное отсутствие реакции на публикации 2005 и 2006 гг. со стороны российских и белорусских производителей и соответствующих контролирующих органов, можно объяснить отсутствием необходимого аналитического оборудования для подтверждения присутствия сероуглерода в лекарственных препаратах. Для обнаружения и количественного определения сероуглерода в препаратах газовый хроматограф должен быть оснащен устройством получения, отбора и ввода равновесной паровой фазы, капиллярной колонкой и пламенно-фотометрическим детектором с длиной волны детектирования 394 нм, селективный на соединения серы. Такой комплект газового хроматографа в фармацевтической промышленности не используется и, в основном, применяется для контроля компонентов серы в пищевых продуктах. Поэтому, для упрощения обнаружения сероуглерода в жидких лекарственных формах, нами была разработана качественного и количественного определения сероуглерода спектрофотометрическим методом.

Цели исследования

Разработка спектрофотометрической методики обнаружения и количественного определения сероуглерода.

Методы и результаты исследования

За основу методики использовали методические указания определения сероуглерода в воздухе рабочей зоны [Хализова О.Д. Часть 1. 1960]. Окрашенное соединение образуется в результате взаимодействия сероуглерода с 1,5% раствором диэтиламина в присутствии ионов меди. Максимум поглощения образующегося комплексного соединения меди около 430 нм. Чтобы исключить влияние других компонентов препаратов на реакцию образования окрашенного соединения использовали прием динамической газовой экстракции сероуглерода из испытуемого препарата. Для этого авторами был предложен прибор, показанный на рисунке 2, состоящий из сосуда (С) в который помещается исследуемый препарат, сосуд с препаратом, в свою очередь, помещен в термостат для поддержания температуры на уровне 50°C, сосуда для поглощения паров воды (П) и поглотительного сосуда Рихтера, в котором находится 5 мл поглотительного раствора.

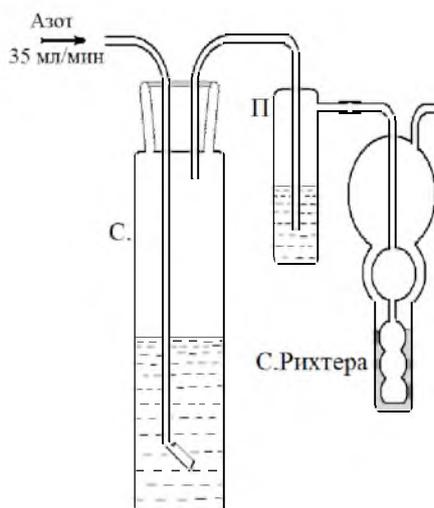


Рис. 2. Прибор для определения сероуглерода в инфузионных препаратах
Fig.1. The device for definition of carbon sulfur in infusional preparations

Методика проведения измерений

1. Приготовление 0.05% раствора меди ацетата: 50 мг меди ацетата растворяли в 100 мл 96% спирта этилового. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента».

2. Приготовление 1.5% раствора диэтиламина: 1.5 г (2 мл) диэтиламина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 50 мл 96% спирте этиловом, доводили объём раствора до метки этим же растворителем и перемешивали.

3. Приготовление поглотительного раствора: смешивали равные объёмы 1.5% раствора диэтиламина и 0.05% раствора ацетата меди. Полученный раствор должен быть прозрачным. Раствор готовили непосредственно перед применением.

4. Приготовление исходного раствора сероуглерода: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 20 мл изопропанола и прибавляли микрошприцом 25 мкл сероуглерода. Объём раствора доводили до метки изопропанолом и перемешивали.

5. Приготовление рабочего стандартного раствора сероуглерода: 1.0 мл исходного раствора сероуглерода помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, объём раствора доводили до метки изопропанолом и перемешивали.

6. Приготовление насыщенного раствора лития хлорида: 120 г лития хлорида смешивали с 100 мл воды, смесь нагревали при постоянном перемешивании до температуры 80°C и охлаждали до комнатной температуры.

Проведение калибровки

В сосуд (С) помещали 50.0 мл 1,0% раствора натрия хлорида, прибавляли микрошприцом 50 мкл рабочего стандартного раствора сероуглерода. Сосуд с раствором погружали в водяной термостат с температурой воды 50°C и выдерживали в течение 5 мин. В это время в поглотительный сосуд Рихтера помещали 5,0 мл реакционного раствора и подсоединяли к сосуду для поглощения водяных паров. Затем со скоростью 35 мл/мин через препарат пропускали ток азота в течение 10 мин, после чего определяли оптическую плотность поглотительного раствора на спектрофотометре при длине волны 433 нм, используя в качестве раствора сравнения свежеприготовленный поглотительный раствор.

Далее процедуру повторяли с добавками 100, 150, 200, 250, 300, 350 и 400 мкл рабочего стандартного раствора сероуглерода. По измеренным значениям оптической плотности методом наименьших квадратов рассчитывали коэффициенты линейной зависимости оптической плотности поглотительного раствора (D_{oi}) от количества введенного сероуглерода (m_{oi}):

$$D_{oi} = a + b \times m_{oi}.$$

Проведения измерений

В сосуд (С) помещали 50.0 мл препарата и проводили все операции, как это указано для калибровочных растворов.

По результатам определения оптической плотности поглотительного раствора (D) рассчитывали концентрацию сероуглерода (C_{Cs_2}) в препарате.



Валидация

Разработанную методику исследовали по основным метрологическим характеристикам, а именно: специфичность, правильность, сходимость, линейность и предел обнаружения [Н.В. Юргель и др. 2007]. Критерии приемлемости валидационных характеристик принимали как для показателя остаточных количеств органических растворителей с допустимой ошибкой определения $\pm 25\%$ [Державна Фармакопея України, 1-е вид. 2001].

Характеристика «Специфичность». Специфичность методики определения сероуглерода определяется химизмом реакций приводящих к образованию окрашенного комплексного соединения меди. С другими, возможно присутствующими в препаратах соединениями серы (сероводород и меркаптаны), реакция не идет и окрашенное соединение не образуется [Перегуд Е.А. и др.1962], а их мешающее влияние за счет образования сульфида меди может быть нейтрализовано слоем стекловаты пропитанной нитратом серебра.

Характеристики линейности, правильности и сходимости исследованы на 8 модельных растворов, приготовленных по методике приготовления калибровочных образцов. Спектры поглощения и значения оптических плотностей поглотительных растворов, полученные при определении концентрации сероуглерода в модельных растворах представлены на рисунке 3.

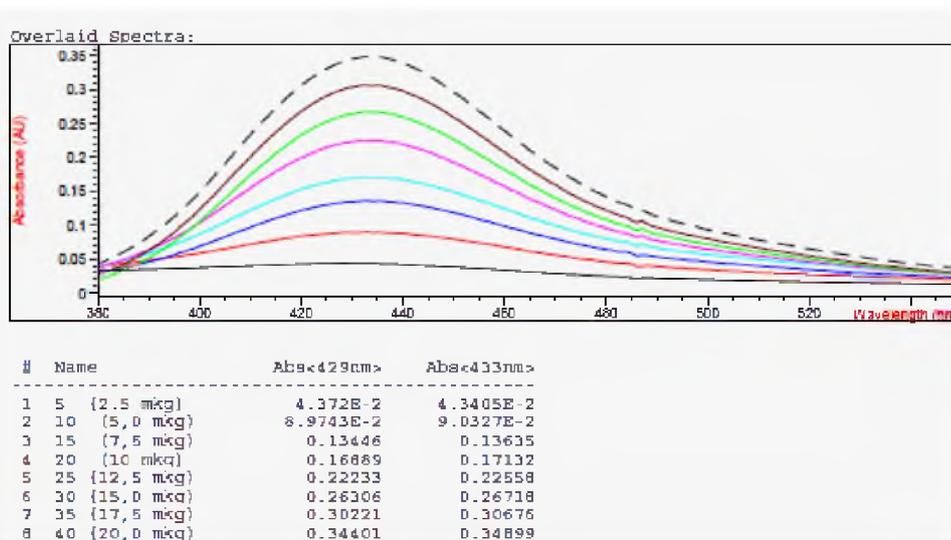


Рис. 3. Спектры поглощения и значения оптической плотности модельных растворов
Fig.1. Ranges of absorption and value of optical density of model solutions

В таблице 1 и на рисунке 4 приведены результаты и их статистическая обработка количественного определения сероуглерода в модельных растворах.

Таблица 1

Table 1

Результаты и статистическая обработка определения сероуглерода в модельных растворах
Results and statistical analysis of the definition of carbon disulfide in model solutions

№ раствора	Оптическая плотность поглотительных растворов (е.о.п)	Введено сероуглерода в мкг/50 мл (Xi, факт., %)	Найдено в % сероуглерода в мкг/50 мл (Yi, %)	Найдено в % к введенному Zi = 100•(Yi/Xi)
1	0.04340	2.52	2.514	99.781
2	0.09327	5.04	5.404	107.219
3	0.13635	7.56	7.899	104.494
4	0.17132	10.08	9.926	98.471
5	0.22558	12.60	13.070	103.726
6	0.26718	15.12	15.480	102.379
7	0.30676	17.64	17.773	100.753
8	0.34899	20.16	20.220	100.296
Среднее, Z _{ср} , % =				102.14
Относительное стандартное отклонение, RSD _z , % =				2.825
Относительный доверительный интервал Δ _z % = t (95%, 8-1) × RSD _z = 1.895 × 2.825 =				5.3534
Критическое значение для сходимости результатов Δ _{As} , % =				8.0
Систематическая ошибка δ % = Z _{ср} - 100 =				2.14



Продолжение таблицы 1

Критерий незначимости систематической ошибки:	
1) статистическая незначимость: $\delta < \Delta_z : \sqrt{8} = 5,3534 : 2,8284 = 1,893\% < 2,14\%$ Если не выполняется 1), то $\delta \leq \max \delta$:	Не выполняется
2) практическая незначимость: $\delta\% \leq 0,32 \times 8,0 = 2,56\% > 2,14\%$	Выполняется
Общий вывод о методике	КОРРЕКТНА

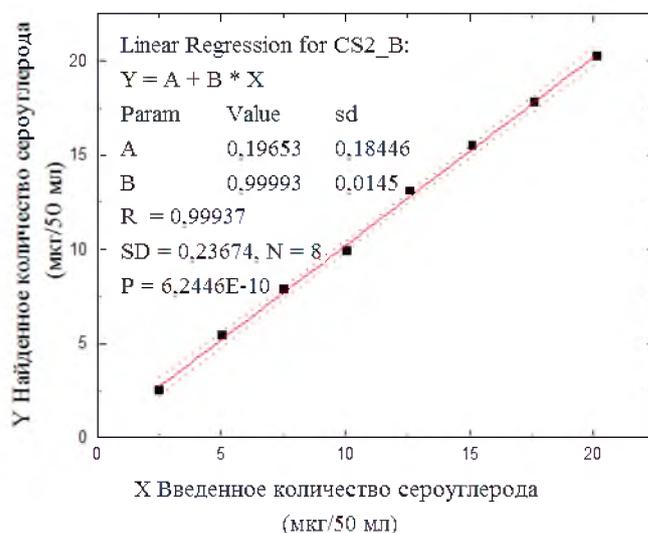


Рис. 4. Полученная линейная зависимость
 Fig.1. The received linear dependence

В таблице 2 приведены характеристики зависимости найденного количества сероуглерода от введенного.

Таблица 2
 Table 2

Метрологические характеристики зависимости найденного количества сероуглерода от введенного
Metrological characteristics depending on the amount of carbon disulfide found the entered

Параметры	Значения	Требования 1	Требования 2	Заключение
B	0.99993			
S _b	0.0145			
A	0.19653	$\leq 0.3583 $	$\leq 5.12 $	Выдерживается по 1 критерию
S _a	0.1844			
SD ₀	0.22143			
SD ₀ /b	0.221	$\leq 4.12 $		Выполняется
R	0.99977	$> 0.9989 $		Выполняется

Как свидетельствуют полученные данные валидационные характеристики правильность, сходимость, линейность выдерживают требования к методикам определения остаточных количеств органических растворителей.

Предел обнаружения (ПО) сероуглерода рассчитывали по формуле:

$$ПО = 3.3 \times S_a / B.$$

Для данной методики расчетное значение ПО равно 0.6 мкг/50 мл, однако реально, данная методика позволяет обнаруживать около 1 мкг сероуглерода в 50 мл препарата.

Расчетная суммарная неопределенность результатов методики составляет 4.9%, что также удовлетворяет требованиям к методикам определения остаточных количеств органических растворителей.



Заключение

Проведены исследования по разработке методики спектрофотометрического определения сероуглерода в инфузионных растворах с образованием окрашенного соединения с 1.5% раствором диэтиламина в присутствии ионов меди.

Разработанная методика валидирована по основным метрологическим характеристикам, а именно: специфичность, правильность, сходимость, линейность и предел обнаружения.

Литература

Жилякова Е.Т. 2006. Методика определения летучих серосодержащих веществ в препаратах для внутривенного введения. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. (12), Т.142:701-703.

Зинченко А.А. 2006. Фармакопейные аспекты контроля соединений серы в пробках препаратов для парентерального применения. Фармаком. (4): 8.

Беспамятнов Г.П., Кротов Ю.А. 1985. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. Справочник. Л.: "Химия", 528.

Хализова О.Д. Методы определения вредных веществ в воздухе и других средах. Часть 1. 1960. М.: Медгиз, 316.

Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств: под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна [и др.]. 2007. Фармацевтическая промышленность, 58.

Перегуд Е.А., Быховская М.С., Гернет Е.В. Быстрые методы определения вредных веществ в воздухе. 1962. М., Госхимиздат, 272.

Державна Фармакопея України, 1-е вид. 2001. Харків: РІРЕГ, 520.

Literature

Zhilyakova E.T. 2006. Metodika opredeleniya letuchikh serosoderzhashchikh veshchestv v preparatakh dlya vnutrivennogo vvedeniya. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. (12), T.142:701-703 (in Russian).

Zinchenko A.A. 2006. Farmakopeynye aspekty kontrolya soedineniy sery v probkakh preparatov dlya parenteral'nogo primeneniya. Farmakom. (4): 8 (in Russian).

Bespamyatnov G.P., Krotov Yu.A. 1985. Predel'no dopustimye kontsentratsii khimicheskikh veshchestv v okruzhayushchey srede. Spravochnik. L.: "Khimiya", 528 (in Russian).

Khalizova O.D. Metody opredeleniya vrednykh veshchestv v vozdukh i drugih sredakh. Chast' 1. 1960. M.: Medgiz, 316 (in Russian).

Rukovodstvo po validatsii metodik analiza lekarstvennykh sredstv: pod red. N.V. Yurgelya, A.L. Mladentseva, A.V. Burdeyna [i dr.]. 2007. Farmatsevticheskaya promyshlennost', 58 (in Russian).

Peregud E.A., Bykhovskaya M.S., Gernet E.V. Bystrye metody opredeleniya vrednykh veshchestv v vozdukh. 1962. M., Goskhimizdat, 272 (in Russian).

Derzhavna Farmakopeya Ukraïni, 1-e vid. 2001. Kharkiv: RIREG, 520 (in Ukrainian).