

# КОНТРОЛЬ ЧИСТОТЫ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ МЕТОДОМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО ОРГАНИЧЕСКОГО УГЛЕРОДА

А.Кравченко, И.Протасова, А.Захарова, к.х.н., И.Гринштейн, к.х.н.,  
ООО "Аналит Продактс"  
za@analit-spb.ru

Одно из основных требований, предъявляемых к производству лекарственных средств, состоит в предотвращении их перекрестного загрязнения. Как правило, для производства различных препаратов используется одно и то же оборудование [1, 2]. Поэтому, чтобы предотвратить контаминацию каждого последующего препарата предыдущим, очень важна эффективная очистка оборудования с обязательной оценкой его чистоты. Для этой процедуры на базе аккредитованной аналитической лаборатории "Аналит Продактс" была разработана "Методика определения остаточных количеств водорастворимых действующих веществ лекарственных средств в смывах с технологического оборудования с помощью анализатора ТОС (Shimadzu)" [3].

Сегодня в мировой практике один из важнейших документов, определяющих требования к производству и контролю качества лекарственных средств (ЛС) для человека и животных, – это "Правила производства ЛС" ("Good Manufacturing Practice for Medicinal Products (GMP)") [4]. Оборудование, используемое при производстве ЛС, необходимо проектировать таким образом, чтобы его можно было легко и тщательно очищать. При низких содержаниях ЛС требуется использование чувствительных методов их определения [5], поэтому нужны разработка и валидация более совершенных подходов к анализу лекарственных веществ (ЛВ) для контроля перекрестного загрязнения готовой продукции, чистоты помещений и оборудования химико-фармацевтического производства. Мы предложили подход к оценке чистоты технологического оборудования методом определения общего органического углерода в смывах с технологического оборудования, используемого при производстве ЛС с помощью анализатора угле-

рода (ТОС). Такой способ не требует использования специального метода контроля для каждого препарата, поскольку практически все ЛС представляют собой органические вещества. Оценка суммарного содержания органического углерода позволяет экспрессно контролировать степень очистки оборудования.

Классические методы определения содержания общего органического углерода в воде – это измерение бихроматной окисляемости и перманганатного индекса (перманганатной окисляемости). В первом случае проводится титрование остатка бихромата калия после добавления окислителя, во втором – окисление проводится раствором перманганата калия в сернокислой среде при кипячении, избыток перманганата калия регистрируют методом йодометрии [6]. Показатель, характеризующий суммарное содержание в воде органических веществ и определяемый по количеству химически связанного кислорода, израсходованного на окисление, называется химическим

потреблением кислорода (ХПК). При этом окислению подвергаются все элементы из состава органического соединения, находящиеся в низшей или промежуточной степени окисления (потенциальные восстановители). Для вычисления концентрации углерода, содержащегося в органических веществах, значение ХПК (мг О/л) умножается на 0,375 (12/32). Величину перманганатной окисляемости также используют для оценки содержания органических веществ: в среднем 1 мг кислорода перманганатной окисляемости приблизительно соответствует 1 мг углерода органического вещества [7].

Практически результаты определения ХПК всегда отклоняются в ту или иную сторону от теоретических ( $XPK_{теор}$ ) [8]. Так, окисление трудно окисляющихся органических веществ за время реакции проходит не полностью, и это приводит к занижению результата. При наличии в пробе неорганических восстановителей, также потребляющих кислород на собственное окисление, результат получается завышенный [9].

В разработанной схеме применяли метод термокаталитического окисления органического углерода до диоксида углерода в смывах с оборудования с последующей регистрацией ИК-детектором

на анализаторе TOC-L (Shimadzu). Применение указанного метода для проб воды в РФ регламентируется ГОСТ Р 52991-2008 [10] и Международным стандартом ISO 8245. Water quality – guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC) [11]. Суть его заключается в предварительном удалении неорганического углерода, представленного главным образом неорганическими солями (карбонатами, гидрокарбонатами) и растворенным углекислым газом. Для этого пробу подкисляют раствором соляной кислоты (2М) до значения pH 2-3. При этом карбонаты и гидрокарбонаты переходят в углекислый газ, который затем удаляется путем барботирования газом-носителем (воздухом). После этого при нагревании происходит каталитическое окисление компонентов пробы до диоксида углерода, который регистрируют с помощью недисперсионного инфракрасного детектора (ИК-детектора) [12].

## ПОСТРОЕНИЕ ГРАДУИРОВОЧНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК

Массовые концентрации остаточных количеств водорастворимых действующих веществ лекарственных средств в смывах с технологического оборудования были измерены в виде интегрального показателя – общего органического углерода

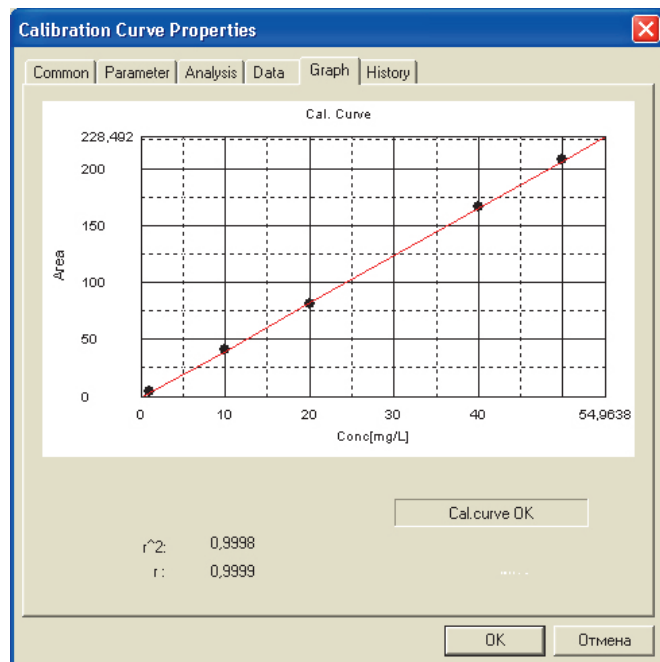


Рис.1. Градуировочная зависимость для диапазона измеряемых массовых концентраций ТОС от 2 до 50 мг/л

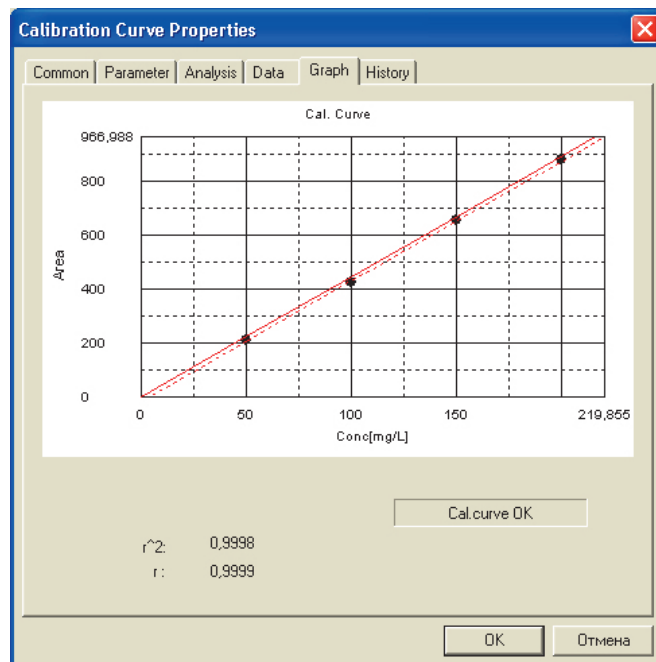


Рис.2. Градуировочная зависимость для диапазона измеряемых массовых концентраций ТОС от 50 до 250 мг/л

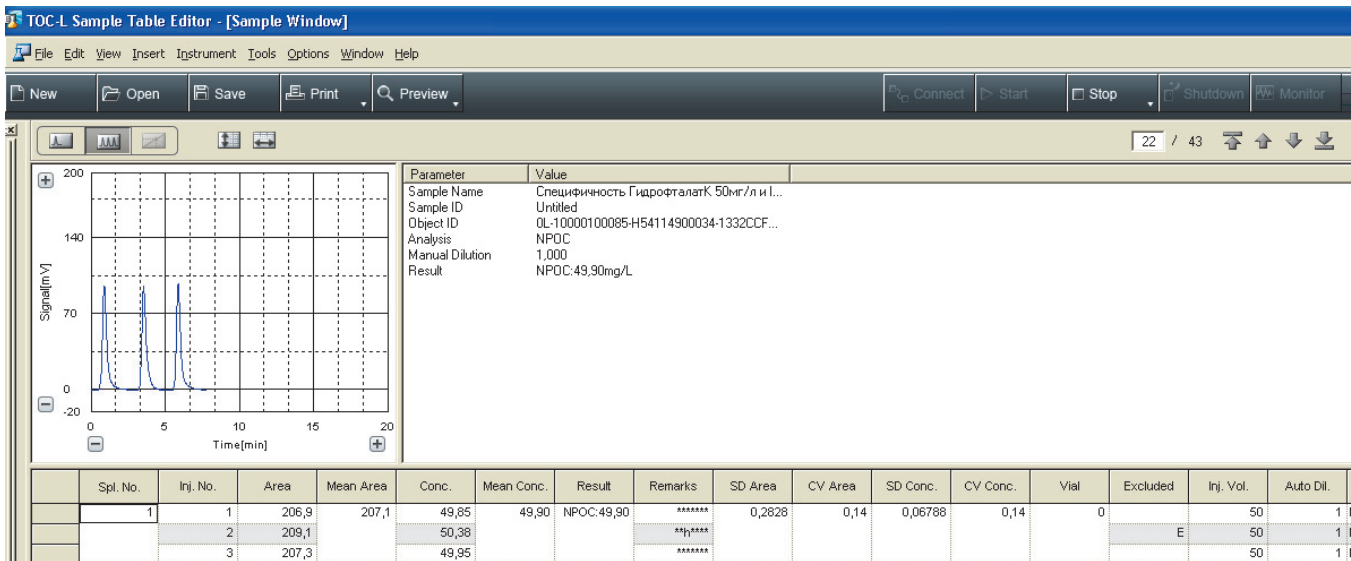


Рис.3. Типичное изображение отклика ТОС, в градуировочном растворе с массовой концентрацией ТОС в нем 50 мг/л

(Total Organic Carbon, сокращенно – ТОС) в диапазоне массовых концентраций от 2 до 250 мг/дм<sup>3</sup>. Расчет концентраций компонента проводили с использованием градуировочных характеристик, установленных по растворам, приготовленным из углеродосодержащего вещества гидрофталата калия, производства Sigma в очищенной воде. Точное значение массовой концентрации углерода в стандартном растворе определяют, исходя из массы углерода в навеске, рассчитанной по формуле:

$$C_{гр}(C) = m_n \cdot P \cdot (100 - W) \cdot \omega(C) / (V_k \cdot 100) \quad (1),$$

где  $C_{гр}(C)$  – концентрация углерода в растворе, мг/мл;  
 $\omega(C)$  – массовая доля углерода в образце, в долях единиц;  
 $m_n$  – масса навески образца, мг;  
 $W$  – содержание влаги в образце, %;  
 $P$  – массовая доля основного вещества в образце, в долях единиц;  
 $V_k$  – объем мерной колбы, мл.

Измерения растворов проведены на анализаторе углерода ТОС-L.

**Условия проведения измерений**

Температура реакционной трубки ..... 680°C  
 Газ-носитель ..... Воздух  
 Расход газа-носителя .....150 мл/мин  
 Давление газа-носителя .....200±10 кПа  
 Тип анализа ..... NPOC  
 Объем вводимой аликвоты пробы .....50 мкл  
 Поток газа-носителя при продувке

пробы в шприце-дозаторе .....80 мл/мин  
 Время продувки .....1,5 мин  
 Добавка раствора 2М HCl ..... 1,5%  
 На рис.1 и 2 приведены градуировочные зависимости измеряемых массовых концентраций ТОС.

Типичное изображение отклика ТОС, полученное при помощи программного обеспечения ТОС-L Control, в градуировочном растворе с массовой концентрацией ТОС в нем 50 мг/л показано на рис.3.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТОВ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ТОС В СМЫВАХ**

Статистические данные для разработанной методики набирали на модельных растворах субстанций и лекарственных препаратов в форме таблеток, покрытых пленочными оболочками, предоставленных двумя фармацевтическими компаниями Санкт-Петербурга.

Готовили пять модельных растворов для каждой из четырех субстанций (MS, BS, CS, DS)\* и по два модельных раствора для двух лекарственных препаратов в форме таблеток (MP, BP).

Рассчитанные навески субстанций и таблеток растворяли в очищенной воде в мерной

\* Названия субстанций, лекарственных препаратов и фармацевтических компаний не разглашаются в целях сохранения коммерческой тайны. MS, BS, CS, DS – условные обозначения субстанций; MP, BP – условные обозначения таблеток.

Таблица 1. Общие результаты определения коэффициентов восстановления для смывов модельных растворов субстанций и таблеток

Валидационная характеристика	Критерий приемлемости	№ смыва	Полученный результат				Вывод
Процент восстановления, R(%)	≥70%	Для анализируемых субстанций					
			MS	BS	CS	DS	
		№1	99	98	98	100	Соответствует
		№2	99	97	98	96	Соответствует
		№3	101	96	97	99	Соответствует
		№4	100	97	98	100	Соответствует
		№5	86	98	88	77	Соответствует
		Для таблеток					
			MP	BP			
		0,05 мг/мл	98	96		Соответствует	
		0,002 мг/мл	97	100		Соответствует	

посуде. Для приготовления растворов из таблеток, их сначала растирали в порошок, затем брали рассчитанную навеску. После добавления воды колбу с полученной суспензией выдерживали в ультразвуковой ванне в течение 20 минут, затем охлаждали до комнатной температуры. Далее раствор отфильтровывали через бумажный фильтр "синяя лента", предварительно промытый очищенной водой и небольшим количеством раствора из таблеток.

Точное значение массовой концентрации углерода в каждом модельном растворе опре-

деляли, исходя из содержания углерода в субстанции, и рассчитывали по формуле (1). При расчете точного содержания массовой концентрации углерода в таблетках учитывали присутствие углеродсодержащих веществ в пленке, которая покрывает таблетку.

Далее модельные растворы наносили на металлические пластины, изготовленные из материала, используемого при производстве фармацевтического оборудования (например, из нержавеющей стали марки AISI 316L). Затем на пластине ограничивали площадь смыва квадратной рамкой со стороной 5 см. Всего на пластине были очерчены пять квадратов. На четыре квадрата наносили аликвоту модельного раствора, дожидались полного высыхания, а пятый ква-

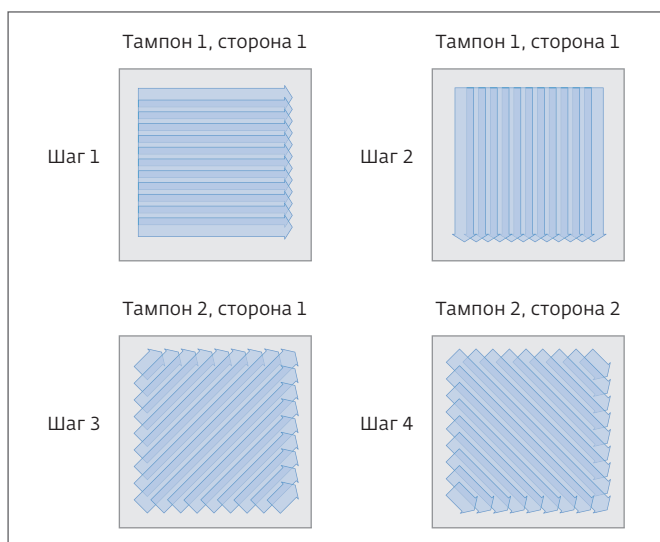


Рис.4. Иллюстрация рекомендуемых направлений протирания поверхности оборудования

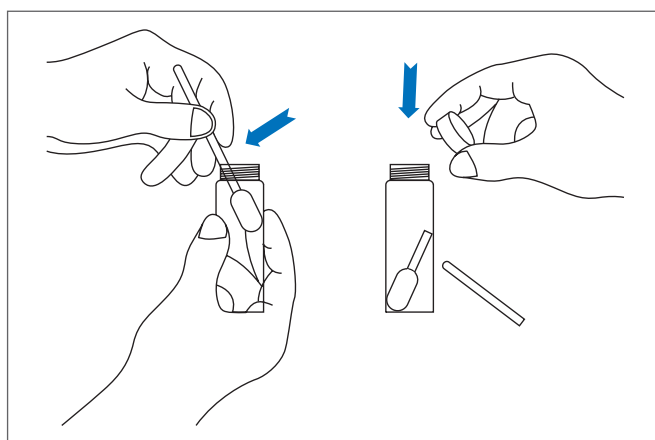


Рис.5. Иллюстрация подготовки пробы

дрант использовали для контроля фонового загрязнения. Для отбора проб применяли специальные тампоны, содержание в которых ТОС < 50 мкг/дм<sup>3</sup>.

Пробы смывов отбирали последовательно двумя тампонами по следующей схеме. Шаг 1 – одной стороной первого тампона протирают выделенную поверхность в горизонтальном направлении, другой стороной (шаг 2) – в вертикальном (перпендикулярно первому направлению). Шаг 3 – одной стороной второго тампона протирают выделенную поверхность в диагональном направлении, другой стороной (шаг 4) – в перпендикулярном направлении – рис.4.

Протирку выполняли параллельными перекрывающимися движениями, в конце движения тампон отрывали от поверхности и переносили в начало новой линии движения, при этом каждый раз частично захватывали смывку ранее поверхность.

Оба тампона опускали в виалу, заполненную 25 мл воды и отламывали у каждого пластиковые ручки по специальным насечкам (рис.5). Закрывали виалу крышкой и маркировали, указав время взятия смыва. Виалы, крышки и тампоны

входили в специальный набор для проведения валидации очистки оборудования TOC Cleaning Validation Bulk Kit производства фирмы Techwipе.

Аналогичным образом брали пять смывов с пяти квадратов. Пятый квадрат – оставляли сухим, на него не наносили модельный раствор. Этот квадрат нужен для контроля чистоты опытной пластины. В виале, промаркированной надписью "Контроль", оставляли два чистых тампона.

Далее помещали виалы (№1, №2, №3, №4 и "Контроль") с тампонами в ультразвуковую ванну на 5 мин. После этого пробы смывов готовы к проведению измерений. Все смывы модельных растворов были измерены на анализаторе ТОС при одинаковых условиях, приведенных выше.

Типичное изображение отклика ТОС, полученное при помощи программного обеспечения TOC-L Control, в модельном растворе субстанции MS с массовой концентрацией ТОС в нем 50 мг/л приведено на рис.6.

По полученным результатам рассчитаны коэффициенты восстановления R для модельных растворов каждой из четырех субстанций

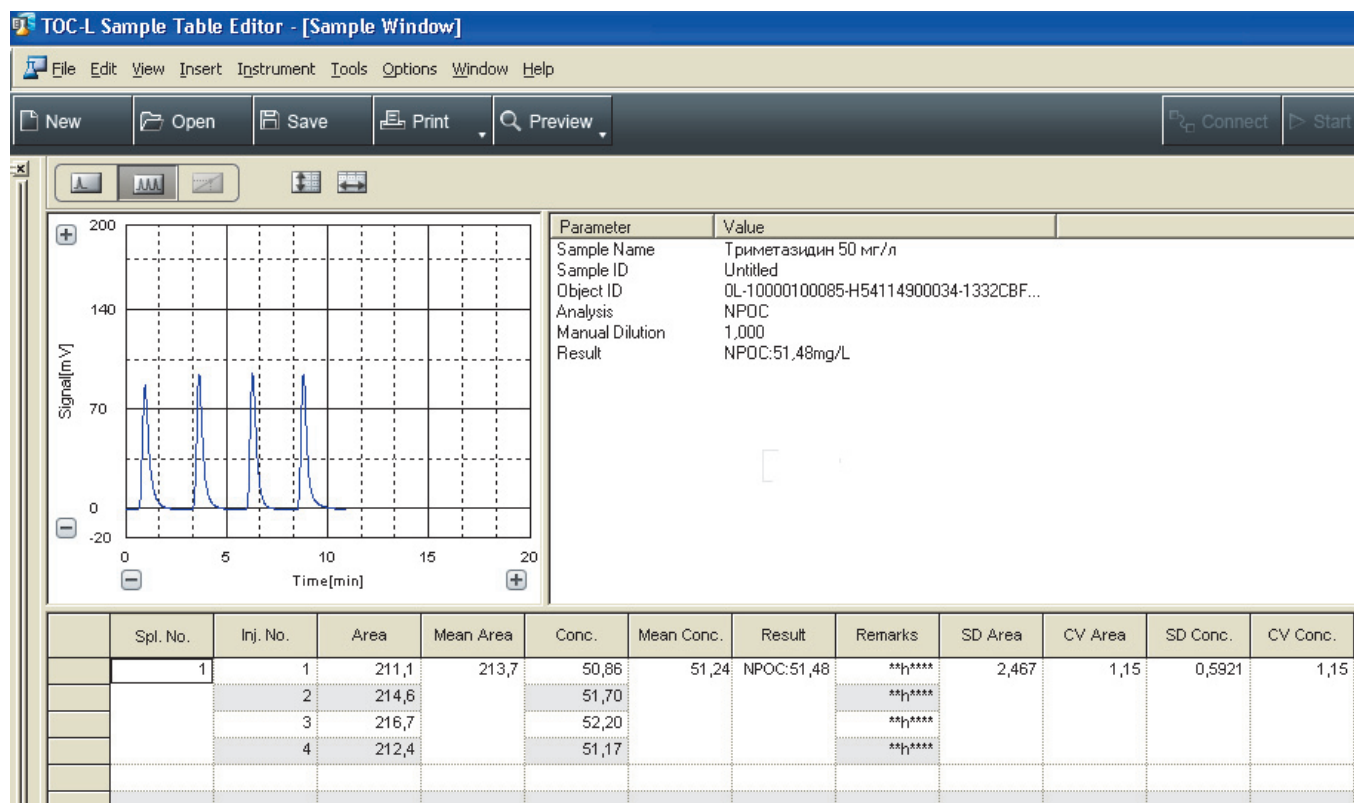


Рис.6. Типичное изображение отклика ТОС, в модельном растворе субстанции MS с массовой концентрацией ТОС в нем 50 мг/л

Таблица 2. Соответствие полученных результатов критериям приемлемости

Валидационная характеристика	Критерий приемлемости	Полученный результат	Вывод																																							
Специфичность	Достоверное определение ТОС	Отклонение при открываемости содержания ТОС в испытуемых растворах не превышает 0,1	Соответствует																																							
		Относительное стандартное отклонение измерений ТОС не превышает 3,0%	Соответствует																																							
Предел количественного определения	ПКО = $10 \cdot SD(\bar{O}_i)$	0,0002 мг/л																																								
Линейность	Линейный характер зависимости площади сигнала от концентрации	Зависимость носит линейный характер	Соответствует																																							
	$r \geq 0,99$	$r_{(N \geq 1)} = 0,999$ ; $r_{(N \geq 2)} = 0,999$	Соответствует																																							
	$g \leq 5\%$	$g_{\max(N \geq 1)} = 3,2\%$ ; $g_{\max(N \geq 2)} = 1,5\%$	Соответствует																																							
Правильность	Открываемость $95\% \leq K \leq 105\%$	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">№ р-ра</th> <th colspan="4">K, %</th> </tr> <tr> <th>MS</th> <th>BS</th> <th>CS</th> <th>DS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>№5</td> <td>96,6</td> <td>104,6</td> <td>96,5</td> <td>98,5</td> </tr> <tr> <td>№4</td> <td>99,6</td> <td>100,8</td> <td>95,2</td> <td>95,9</td> </tr> <tr> <td>№3</td> <td>100,0</td> <td>98,1</td> <td>100,4</td> <td>98,2</td> </tr> <tr> <td>№3</td> <td>102,5</td> <td>102,2</td> <td>103,4</td> <td>103,0</td> </tr> <tr> <td>№2</td> <td>100,4</td> <td>99,2</td> <td>103,2</td> <td>100,7</td> </tr> <tr> <td>№1</td> <td>104,3</td> <td>100,8</td> <td>102,4</td> <td>102,8</td> </tr> </tbody> </table>	№ р-ра	K, %				MS	BS	CS	DS	№5	96,6	104,6	96,5	98,5	№4	99,6	100,8	95,2	95,9	№3	100,0	98,1	100,4	98,2	№3	102,5	102,2	103,4	103,0	№2	100,4	99,2	103,2	100,7	№1	104,3	100,8	102,4	102,8	Соответствует
		№ р-ра		K, %																																						
			MS	BS	CS	DS																																				
		№5	96,6	104,6	96,5	98,5																																				
		№4	99,6	100,8	95,2	95,9																																				
		№3	100,0	98,1	100,4	98,2																																				
		№3	102,5	102,2	103,4	103,0																																				
№2	100,4	99,2	103,2	100,7																																						
№1	104,3	100,8	102,4	102,8																																						
RSD <sub>r</sub> , %																																										
	MS	BS	CS	DS																																						
№5	2,8	1,1	2,6	3,1																																						
№3	0,6	0,5	1,1	1,2																																						
RSD <sub>R</sub> , %																																										
	MS	BS	CS	DS																																						
№5	8,6	5,1	9,0	8,3																																						
№3	5,5	4,3	2,7	2,7																																						
Прецизионность (сходимость)	RSD <sub>r</sub> ≤ 5,0%		Соответствует																																							
Внутрилаб. прецизионность	RSD <sub>R</sub> ≤ 10,0%		Соответствует																																							
Диапазон применения методики	Соответствие критериям "линейность", "правильность" и "прецизионность"	См. результаты определения линейности, правильности и прецизионности	Диапазон применения методики составляет от 2 мг/л до 250 мг/л концентрации ТОС в испытуемом растворе																																							
Робастность	Полученные значения ТОС в измененных условиях ≤ 10% от измеренных при стандартных условиях	Максимальное отклонение = $7,7\% \leq 10,0\%$	Соответствует																																							

и для каждого из двух лекарственных препаратов в соответствии с формулой:

$$\frac{|\bar{C}_x - C_k|}{C^*} \cdot 100\% = R \quad (2),$$

где  $C_x$  – массовая концентрация ТОС в смывах №1, №2, №3 – среднее значение, мг/мл;  
 $C_k$  – массовая концентрация ТОС в контрольной пробе, мг/мл;  
 $C^*$  – массовая концентрация ТОС в смыве, расчетное значение, мг/мл.

Полученные результаты по определению содержания ТОС в смывах обобщены в табл.1.

### ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ

Для подтверждения эффективности и достоверности методики проведена валидация на примере четырех субстанций [13]. Получено подтверждение того, что данная аналитическая методика обладает специфичностью, линейностью, правильностью, сходимостью, внутрилабораторной прецизионностью. Выявлены диапазоны применения методики и установлен предел количественного определения (табл.2).

\* \* \*

Разработана методика определения остаточных количеств водорастворимых веществ в смывах с технологического оборудования с помощью анализатора ТОС (Shimadzu). Диапазон применения методики составляет от 2 до 250 мг/л ТОС. Предел количественного определения методики 0,2 мг/л ТОС.

Полученные результаты соответствуют установленному критерию приемлемости, а именно: коэффициент восстановления превышает 70% для всех исследованных субстанций и препаратов.

Результаты проведенных исследований показывают, что определяемые концентрации ТОС в растворах таблеток соответствуют меньшему содержанию активного вещества по сравнению с теоретическими расчетами. За счет наличия в таблетках вспомогательных веществ, содержащих углерод, определяемым концентрациям ТОС в смывах таблеток реально будет соответствовать меньшее содержание активного вещества.

Проведена валидационная оценка методики отбора проб с поверхности оборудования методом мазка.

### ЛИТЕРАТУРА

1. **Фалисюк Е.В.** Об организации производства нестерильных лекарственных средств с учетом

требований GMP. – Фармацевтические производители, 2001, №2(16) март/апрель.

2. **Нурисламова Г.Р.** Химический контроль чистоты оборудования фармацевтического производства и его валидация. – Диссертация на соискание степени кандидата химических наук. // Казань, 2002.
3. **Захарова А.М., Гринштейн И.Л., Протасова И.Д.** М-02-3009-13. Методика определения остаточных количеств водорастворимых действующих веществ лекарственных средств в смывах с технологического оборудования с помощью анализатора ТОС (Shimadzu).
4. Current Good Manufacturing Practices Checklist For Pharmaceutical Manufacturers. – Troutman Sanders LLP. Attorneys at Law.
5. Приказ Министерства промышленности и торговли РФ от 14 июня 2013 г. №916 "Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств". Регистрационный №29938.
6. Quality assurance of pharmaceuticals. Volume 2, 2nd updated edition. Good manufacturing practices and inspection. // World Health Organization, 2007, 410 с.
7. ПНДФ 14.1:2:4.154-99. Методика выполнения измерений перманганатной окисляемости в пробах питьевых, природных и сточных вод титриметрическим методом.
8. **Муравьев А.Г.** Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. 3-е изд., доп. и перераб. // СПб.: Кримас+, 2004, 248 с.
9. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши. Под ред. д.х.н., проф. А.Д.Семенова. // Л.: Гидрометеиздат, 1977, 541 с.
10. Унифицированные методы анализа вод. Под ред. д.х.н. Ю.Ю.Лурье // М.: Химия, 1973, 448 с.
11. ГОСТ Р 52991-2008. Вода. Методы определения содержания общего и растворенного органического углерода.
12. ISO 8245. Water quality – guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC).
13. **Гринштейн И.Л., Васильева Л.А., Захарова А.М., Кравченко А.М., Протасова И.Д., Маркелова Ю.В.** Отчет о проведении валидации методики определения остаточных количеств водорастворимых действующих веществ лекарственных препаратов в смывах с оборудования методом ТОС.