

## ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОМЕТРИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА С ЦЕЛЬЮ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, НАХОДЯЩИХСЯ В ИНЪЕКЦИОННОЙ ФОРМЕ

© М. П. Крашенинина<sup>а</sup>, М. Ю. Медведевских<sup>а</sup>, Е. В. Галеева<sup>б</sup>, Р. Р. Галеев<sup>б</sup>

<sup>а</sup> ФГУП «Уральский научно-исследовательский институт метрологии» (ФГУП «УНИИМ»),  
г. Екатеринбург, Российская Федерация  
Resercher ID: B-8302-2019, e-mail: krasheninina\_m@uniim.ru

<sup>б</sup> ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора (ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора),  
г. Москва, Российская Федерация  
ORCID: 0000-0003-4588-675X, e-mail: miniram532@gmail.com

Поступила в редакцию – 3 ноября 2018 г., после доработки – 30 ноября 2018 г.

Принята к публикации – 30 ноября 2018 г.

**Введение.** В статье представлены результаты аттестации методики идентификации и последующего количественного определения основных компонентов в инъекционных лекарственных средствах двухкомпонентного состава (действующее вещество и растворитель) методом спектрометрии комбинационного рассеяния света. Основная задача исследования заключалась в подборе подходов для оценки метрологических характеристик методики измерений, включающих учет методических параметров, а также обеспечивающих метрологическую прослеживаемость результатов измерений до единиц СИ.

**Материалы и методы.** С этой целью в работе использован Государственный вторичный эталон единицы массовой доли, массовой (молярной) концентрации компонентов в твердых и жидких веществах и материалах на основе объемного титриметрического анализа ГВЭТ 176-1-2010. В качестве объектов исследования для оценки метрологических характеристик методики измерений были использованы: аскорбиновая кислота, новокаин и тиосульфат натрия.

**Результаты исследования:** Авторами работы продемонстрированы результаты аттестации методики измерений, корректность установления которых подтверждена результатами межлабораторных сличительных испытаний.

**Обсуждение и заключения:** Полученные результаты подтвердили показатели точности методики идентификации и последующего количественного определения, следовательно, ее применимость для определения содержания основных компонентов в инъекционных лекарственных средствах двухкомпонентного состава, кроме того показана возможность разработки стандартных образцов на основе исследуемых лекарственных препаратов. Дальнейшее развитие данного исследования может быть направлено на разработку и аттестацию методики идентификации и последующего количественного определения основных компонентов в инъекционных лекарственных средствах трёхкомпонентного и более сложного состава.

### Ссылка при цитировании:

Крашенинина М. П., Медведевских М. Ю., Галеева Е. В., Галеев Р. Р. Применение спектрометрии комбинационного рассеяния света с целью контроля качества лекарственных средств, находящихся в инъекционной форме // Стандартные образцы. 2019. Т. 15. № 1. С. 39–53. DOI 10.20915/2077-1177-2019-15-1-39-53.

### For citation:

Krasheninina M. P., Medvedevskikh M. Yu., Galeeva E. V., Galeev R. R. Application of Raman spectroscopy in the quality control of injectable medicines. Reference materials. 2019; 15 (1): 39–53. DOI 10.20915/2077-1177-2019-15-1-39-53 (In Russ.).

\* Материалы данной статьи переведены на английский язык и опубликованы в сборнике «Reference Materials in Measurement and Technology», издательство Springer.

**Ключевые слова:** спектрометрия комбинационного рассеяния, идентификация и подтверждение подлинности лекарственных средств, аттестация методики измерений

DOI: 10.20915/2077-1177-2019-15-1-39-53

## APPLICATION OF RAMAN SPECTROSCOPY IN THE QUALITY CONTROL OF INJECTABLE MEDICINES

© Maria P. Krasheninina<sup>a</sup>, Maria Yu. Medvedevskikh<sup>a</sup>, Ekaterina V. Galeeva<sup>b</sup>, Roman R. Galeev<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Ural Research Institute for Metrology (UNIIM),  
Ekaterinburg, Russian Federation  
Resercher ID: B-8302–2019, e-mail: krasheninina\_m@uniim.ru

<sup>b</sup>Information and Methodological Center for Expert Evaluation, Recording  
and Analysis of Circulation of Medical Products of Roszdravnadzor,  
Moscow, Russian Federation  
ORCID: 0000–0003–4588–675X, e-mail: miniram532@gmail.com

Received – 3 November, 2018. Revised – 30 November, 2018.

Accepted for publication – 30 November, 2018.

*This paper presents the results of the identification procedure certification and subsequent quantitative determination of the active ingredients of two-component injectable medicines (active ingredient and solvent) using Raman spectroscopy. The main objective of the research was to select approaches for estimating the metrological characteristics of the measurement procedure, which include consideration of the methodological parameters and provide the metrological traceability of measurement results to SI units. According to this purpose, the GVET 176-1-2010 State Secondary Measurement Standard for units of mass fraction, mass (molar) concentration of components in solid and liquid substances and materials based on volumetric titration was used. The following substances were chosen as the research objects for estimating the metrological characteristics of the measurement procedure: ascorbic acid, novocaine and sodium thiosulphate. The authors of the work have demonstrated the measurement-procedure certification results, whose accurate determination was confirmed by the results of interlaboratory comparisons. The obtained results confirmed the accuracy of the identification procedure and subsequent quantitative determination, which proves its applicability for the determination of the active ingredients in two-component injectable medicines. In addition, the possibility of developing reference materials based on the medicines under study is indicated. Further development of this study may be directed at the development of an identification procedure and its certification, with subsequent quantitative determination of the active ingredients of injectable medicines having three components as well as those having a more complex composition.*

**Keywords:** Raman spectroscopy, identification and authentication of medicines, measurement procedure certification

### Введение

Для сохранения жизни и здоровья людей очень важно качество используемых для их лечения лекарственных средств. Одним из главных условий обеспечения качества лекарственных средств являются идентификация, или подтверждение подлинности, а также контроль содержания основного компонента.

Анализ современных тенденций развития новейших методов анализа в медицине показывает, что в подавляющем большинстве случаев на первое место сегодня выходят методы, минимизирующие время анализа и разрушение лекарственных препаратов. В этом случае метод спектрометрии комбинационного рассеяния света (метод КРС) при проведении рутинных измерений об-

ладает этими преимуществами перед традиционными методами «мокрой» химии в особенности для препаратов в инъекционной форме, поскольку он является неразрушающим, бесконтактным, экспрессным и не требующим пробоподготовки [1]. Например, применение метода КРС описано в работе [2] для характеристики водно-этанольных растворов, а в работе [3] представлено одновременное количественное определение глицерина и ацетата калия в водном растворе. Метод КРС применяется для качественного и количественного определения основных компонентов лекарственных препаратов [4–12].

Спектр комбинационного рассеяния (далее – Рамановский спектр) возникает при облучении вещества монохроматическим лазерным излучением ультрафиолетового или видимого диапазона (диапазон длин волн от ультрафиолетовой до ближней инфракрасной области). Под действием излучения молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет в интервале от 2 до 4000  $\text{см}^{-1}$  волновых чисел. Если взаимодействие кванта падающего излучения с молекулой, находящейся в основном или возбужденном колебательном состоянии, является упругим, то энергетическое состояние молекулы не меняется и частота рассеянного излучения будет такая же, как падающего (релеевская полоса Рамановского спектра). В случае неупругого взаимодействия происходит обмен энергией между квантом излучения и молекулой, за счет чего возникает рассеянное излучение, которое может быть большей или меньшей частоты (антистоксова и стоксова полоса соответственно). Таким образом, формируется Рамановский спектр. Спектры комбинационного рассеяния очень чувствительны к природе химических связей как в органических молекулах и полимерных материалах, так и в кристаллических решетках и кластерах, что обуславливает индивидуальность спектра конкретного вещества [13]. Схема переходов при комбинационном рассеянии света представлена на рис. 1.

Целью настоящей работы являлась аттестация методики идентификации и последующего количественного определения содержания основных компонентов методом КРС для лекарственных препаратов, находящихся в инъекционной форме, разработанная ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора, и подтверждение характеристик методики путем проведения межлабораторных сличительных испытаний (МСИ).

Работа выполнена ФГУП «УНИИМ» (г. Екатеринбург) совместно с ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора, отдел по развитию неразрушающих методов испытания качества лекарственных средств (г. Казань).

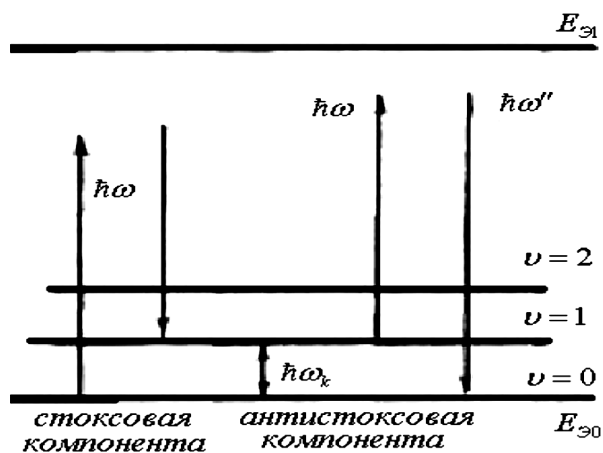


Рис. 1. Схема переходов при комбинационном рассеянии [14]

Fig. 1. Scheme showing transitions involved in Raman scattering [14]

### Аттестация методики измерений

Методика идентификации и последующего количественного определения содержания основных компонентов методом КРС для лекарственных препаратов распространяется на двухкомпонентные инъекционные лекарственные средства, состоящие из растворителя и действующего (основного) компонента. Разработка методики представлена в работе [15].

Спектры комбинационного рассеяния были получены с помощью программно-аппаратного комплекса (ПАК) «Мини-Рам 532» (рис. 2), в состав которого входит портативный раман-люминесцентный спектрометр Enspec R 532<sup>++</sup> со спектральным диапазоном 200–4000  $\text{см}^{-1}$ , источником излучения – лазером с длиной волны 532 нм. Анализ проводили при использовании программного обеспечения и базы данных спектров UniQue-lab, входящих в состав ПАК (рис. 3). Программное обеспечение разработано ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора для проведения скрининга качества лекарственных средств в рамках государственного контроля. Оно включает уникальные математические алгоритмы обработки сигнала, идентификации и количественного анализа для инъекционных лекарственных форм [15].

Методика идентификации является качественной методикой измерений. Идентификация лекарственных препаратов осуществляется путем сравнения спектров комбинационного рассеяния испытуемого образца с аналогичными спектрами, полученными от оригинальных медикаментов ранее и хранящимися в базе данных.

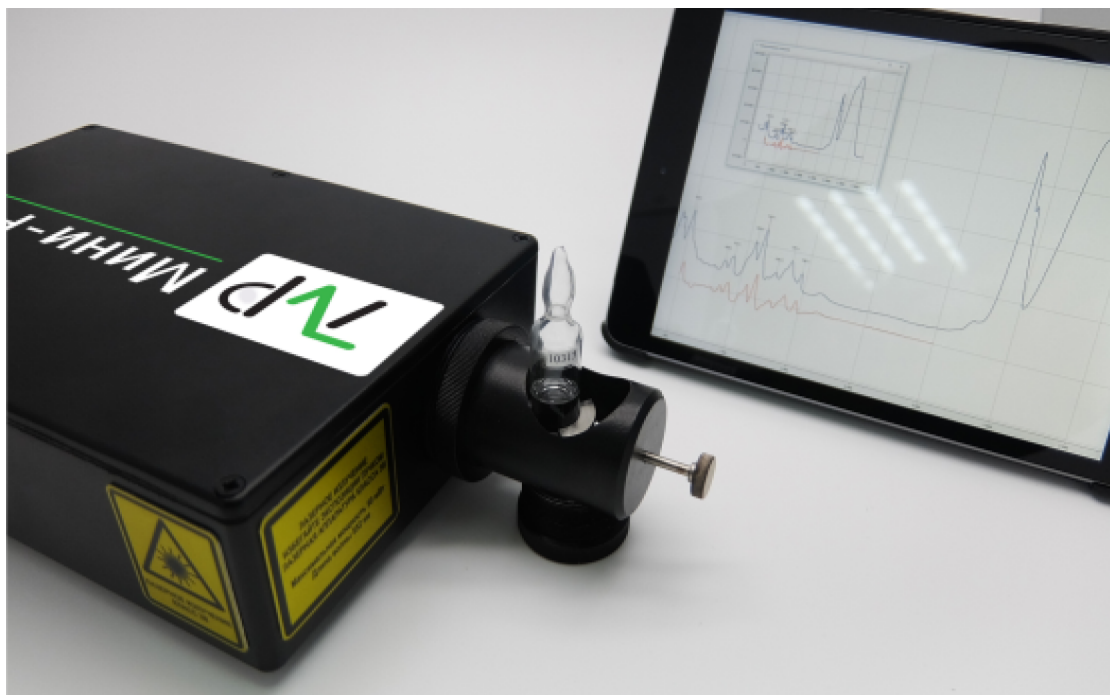


Рис. 2. Общий вид ПАК «Мини-Рам 532

Fig. 2. General view of the Mini-Ram 532 Raman Spectrometer System

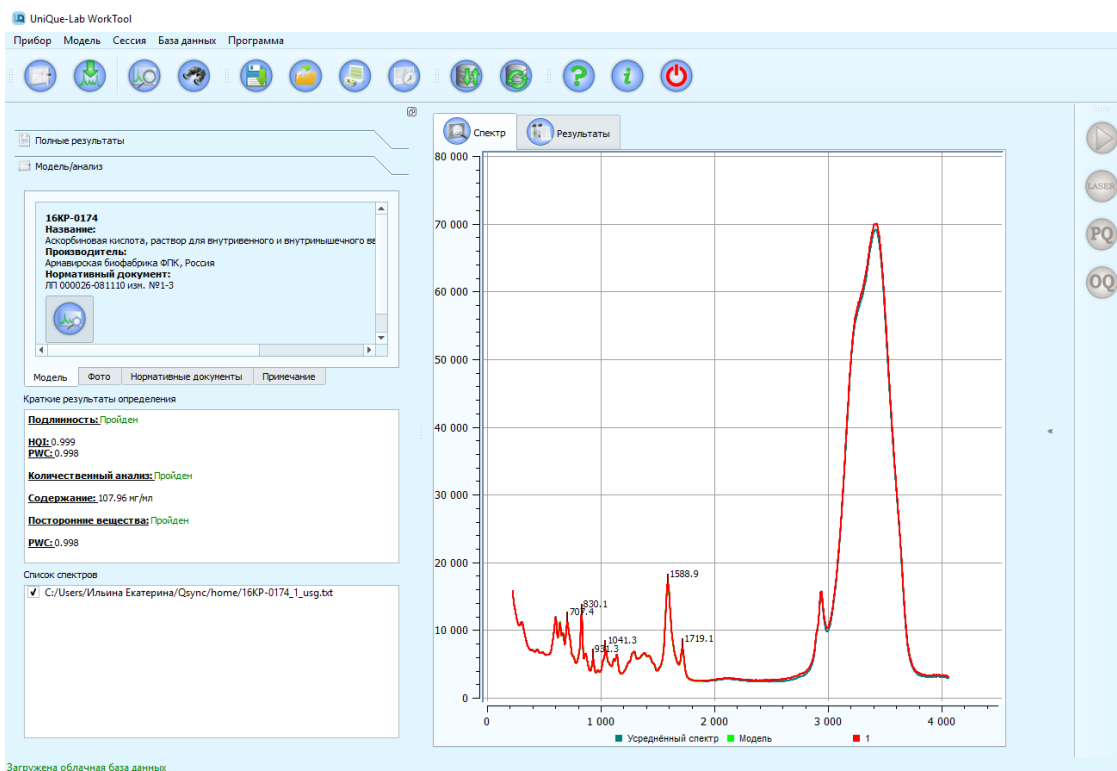


Рис. 3. Интерфейс программного обеспечения UniQue-lab

Fig. 3. The UniQue-Lab software interface

Требования к разработке, оформлению и узаконению качественных методик в настоящее время отсутствуют, поэтому для оценки показателей точности методики измерений была использована количественная характеристика в виде коэффициента корреляции измеренного и библиотечного спектров в диапазоне от 0 до 1.

Проверка статистических данных при измерении коэффициента корреляции на подчинение закону нормального распределения проведена в соответствии с [16].

Показатели точности оценены в виде показателей прецизионности, которые рассчитаны в соответствии с [17] по данным квазимежлабораторного эксперимента с участием пяти лабораторий. Метрологические характеристики приведены в табл. 1.

Количественная методика измерений содержания основных компонентов в инъекционных лекарственных средствах методом КРС основана на прямо пропорциональной зависимости интенсивности ( $I$ ) линий спектра числу молекул ( $N$ ) в единице объема:

$$I = i \cdot k \cdot N, \quad (1)$$

где  $i$  – интенсивность рассеиваемого света на одну молекулу;  $k$  – коэффициент, зависящий от условий эксперимента, постоянная величина для применяемого средства измерений.

В ходе аттестации методики измерений в качестве образцов для оценивания использовали лекарственные препараты: аскорбиновую кислоту, новокаин и тиосульфат натрия, проанализированные на Государственном вторичном эталоне единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации компонентов в твердых и жидких веществах и материалах ГВЭТ 176-1-2010 (далее – ГВЭТ 176-1-2010). Применение ГВЭТ 176-1-2010, подтвердившего свои калибровочные и измерительные возможности путем участия в международных ключевых сличениях ССQM-K130 [18] и ССQM-K149 [19], обеспечивает современное требование о прослеживаемости результатов измерений до единиц СИ [20].

Примеры спектров комбинационного рассеяния для аскорбиновой кислоты, новокаина и тиосульфата натрия представлены на рис. 4.

Оценка показателей прецизионности проведена в соответствии с [17]. Оценка показателя правильности проведена путем оценивания смещения результатов измерений, полученных на ГВЭТ 176-1-2010, и результатов, полученных по аттестуемой методике измерений. Дополнительно был проведен многофакторный эксперимент с целью оценки влияния методических факторов на результаты измерений [21]. Факторы, подвергшиеся изучению: содержание основного компонента, вариант упаковки (объем ампулы), производитель, температура окружающей среды. Данные обрабатывали регрессионным анализом с помощью пакета Microsoft Excel.

Пределы варьирования факторов и план многофакторного эксперимента приведены в табл. 2 и 3 соответственно.

В ходе обработки данных многофакторного эксперимента получены следующее значение смещения:

– для новокаина с содержанием 5 мг/см<sup>3</sup>

$$\Delta\Pi = 0,253(C - C_0) + 0,426(V - V_0) + 0,0001(P - P_0) + 0,108(T - T_0); \quad (2)$$

– для новокаина с содержанием 20 мг/см<sup>3</sup>

$$\Delta\Pi = 1,010(C - C_0) - 0,005(V - V_0) - 1,320(P - P_0) + 0,092(T - T_0); \quad (3)$$

– для аскорбиновой кислоты с содержанием 50 мг/см<sup>3</sup>

$$\Delta\Pi = 0,200(C - C_0) - 4,765(V - V_0) - 0,0001(P - P_0) + 1,083(T - T_0); \quad (4)$$

– для аскорбиновой кислоты с содержанием 100 мг/см<sup>3</sup>

$$\Delta\Pi = 0,186(C - C_0) - 9,446(V - V_0) - 0,0001(P - P_0) + 2,172(T - T_0); \quad (5)$$

– для тиосульфата натрия с содержанием 300 мг/см<sup>3</sup>

$$\Delta\Pi = 0,161(C - C_0) - 2,995(V - V_0) - 0,0005(P - P_0) + 3,588(T - T_0); \quad (6)$$

Таблица 1. Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости в долях

Table 1. Measurement range, repeatability and reproducibility, in fractions

Диапазон измерений коэффициентов корреляции	Показатель повторяемости (среднее квадратическое отклонение повторяемости единичного измерения), $\sigma_r$	Показатель воспроизводимости (среднее квадратическое отклонение воспроизводимости единичного измерения), $\sigma_R$
от 0 до 1,0	0,008	0,013

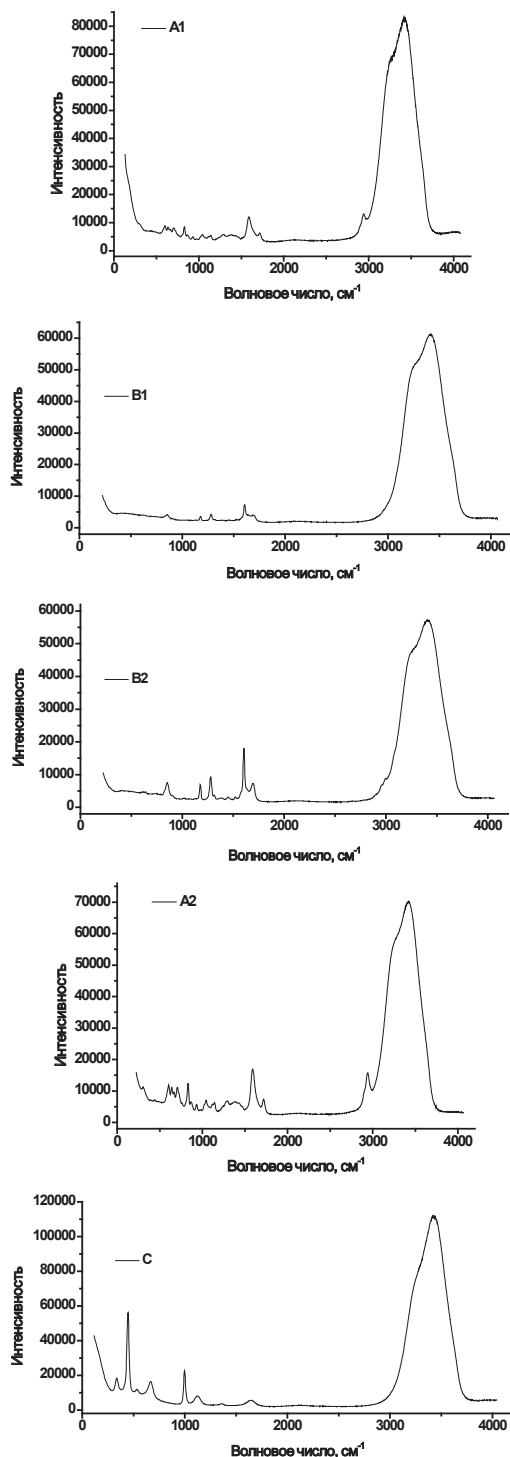


Рис. 4. Спектры КРС для аскорбиновой кислоты 50 мг/см<sup>3</sup> (A1), аскорбиновой кислоты 100 мг/см<sup>3</sup> (A2), новокаина 5 мг/см<sup>3</sup> (B1), новокаина 20 мг/см<sup>3</sup> (B2) и тиосульфата натрия 300 мг/см<sup>3</sup> (C)

Fig. 4. Raman spectra for ascorbic acid 50 mg/cm<sup>3</sup> (A1), ascorbic acid 100 mg/cm<sup>3</sup> (A2), novocaine 5 mg/cm<sup>3</sup> (B1), novocaine 20 mg/cm<sup>3</sup> (B2) and sodium thiosulphate 300 mg/cm<sup>3</sup> (C)

Влияние методических параметров рассчитывали по формулам:

– для новокаина с содержанием 5 мг/см<sup>3</sup>

$$\sum_{\xi=1}^P \left( \frac{\partial C_i}{\partial \Delta \Pi_{\xi}} \right)^2 \cdot \Delta^2(\Delta \Pi_{\xi}) = \sqrt{\left(0,253 \frac{\Delta C}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,426 \frac{\Delta V}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,0001 \frac{\Delta P}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,108 \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}\right)^2}; \quad (7)$$

– для новокаина с содержанием 20 мг/см<sup>3</sup>

$$\sum_{\xi=1}^P \left( \frac{\partial C_i}{\partial \Delta \Pi_{\xi}} \right)^2 \cdot \Delta^2(\Delta \Pi_{\xi}) = \sqrt{\left(1,010 \frac{\Delta C}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,005 \frac{\Delta V}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(1,320 \frac{\Delta P}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,092 \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}\right)^2}; \quad (8)$$

– для аскорбиновой кислоты с содержанием 50 мг/см<sup>3</sup>

$$\sum_{\xi=1}^P \left( \frac{\partial C_i}{\partial \Delta \Pi_{\xi}} \right)^2 \cdot \Delta^2(\Delta \Pi_{\xi}) = \sqrt{\left(0,200 \frac{\Delta C}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(4,465 \frac{\Delta V}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,0001 \frac{\Delta P}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(1,083 \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}\right)^2}; \quad (9)$$

– для аскорбиновой кислоты с содержанием 100 мг/см<sup>3</sup>

$$\sum_{\xi=1}^P \left( \frac{\partial C_i}{\partial \Delta \Pi_{\xi}} \right)^2 \cdot \Delta^2(\Delta \Pi_{\xi}) = \sqrt{\left(0,186 \frac{\Delta C}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(9,45 + \frac{\Delta V}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(0,0001 \frac{\Delta P}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(2,172 \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}\right)^2}; \quad (10)$$

– для тиосульфата натрия с содержанием 300 мг/см<sup>3</sup>

$$\sum_{\xi=1}^P \left( \frac{\partial C_i}{\partial \Delta \Pi_{\xi}} \right)^2 \cdot \Delta^2(\Delta \Pi_{\xi}) = \sqrt{\left(0,161 \frac{\Delta C}{\sqrt{3}}\right)^2 + \dots}$$

$$+ \left( 2,995 + \frac{\Delta V}{\sqrt{3}} \right)^2 + \left( 0,0005 \frac{\Delta P}{\sqrt{3}} \right)^2 + \left( 3,558 \frac{\Delta T}{\sqrt{3}} \right)^2; \quad (11)$$

где  $\Delta C$  – содержание основного компонента, мг/см<sup>3</sup>;  
 $\Delta V$  – варианты упаковки (объем ампулы), см<sup>3</sup>;  
 $\Delta P$  – производитель лекарственного средства;  
 $\Delta T$  – температура окружающей среды.

Результаты измерений содержания основного компонента, полученные на ГВЭТ 176-1-2010, приведены в табл. 4.

Таблица 2. Пределы варьирования факторов многофакторного эксперимента

Table 2. Factor variation limits of a multi-factor experiment

Номер фактора влияния	Фактор влияния	Наименование препарата	X0	Величина варьирования	X+	X-
1	Содержание действующего препарата	Новокаин	5 мг/см <sup>3</sup>	1 мг/см <sup>3</sup>	6 мг/см <sup>3</sup>	4 мг/см <sup>3</sup>
			20 мг/см <sup>3</sup>	4 мг/см <sup>3</sup>	24 мг/см <sup>3</sup>	16 мг/см <sup>3</sup>
		Аскорбиновая кислота	50 мг/см <sup>3</sup>	10 мг/см <sup>3</sup>	60 мг/см <sup>3</sup>	40 мг/см <sup>3</sup>
			100 мг/см <sup>3</sup>	20 мг/см <sup>3</sup>	120 мг/см <sup>3</sup>	80 мг/см <sup>3</sup>
	Тиосульфат натрия	300 мг/см <sup>3</sup>	60 мг/см <sup>3</sup>	360 мг/см <sup>3</sup>	240 мг/см <sup>3</sup>	
2	Варианты упаковки		3 см <sup>3</sup>	1 см <sup>3</sup>	4 см <sup>3</sup>	2 см <sup>3</sup>
3	Производитель	Для всех лекарственных препаратов	0	1	Производитель 2 (1)	Производитель 3 (-1)
4	Температура		24 °C	3 °C	27 °C	21 °C

Таблица 3. План многофакторного эксперимента

Table 3. Multi-factor experiment design

Номер опыта	Номер фактора			
	1	2	3	4
	Содержание действующего препарата, С	Варианты упаковки, V	Производитель, P	Температура, T
1	X+	X+	X+	X+
2	X-	X-	X+	X+
3	X+	X-	X+	X+
4	X-	X+	X+	X+
5	X+	X+	X-	X+
6	X-	X-	X-	X+
7	X+	X-	X-	X+
8	X-	X+	X-	X+
9	X+	X+	X+	X-
10	X-	X-	X+	X-
11	X+	X-	X+	X-
12	X-	X+	X+	X-
13	X+	X+	X-	X-
14	X-	X-	X-	X-
15	X+	X-	X-	X-
16	X-	X+	X-	X-

Таблица 4. Результаты измерений содержания основного компонента, полученные на ГВЭТ 176-1-2010  
Table 4. Measurement results for the active ingredient content obtained using GVET 176-1-2010

Наименование лекарственного препарата	Содержание основного компонента, мг/см <sup>3</sup>	Показатель точности (границы, в которых находится абсолютная погрешность измерения с вероятностью P=0,95), ± Δ <sub>ГВЭТ</sub> %
Аскорбиновая кислота	50,9	2,3
	99,5	4,0
Новокаин	4,89	0,20
	21,47	0,60
Тиосульфат натрия	306,3	4,9

Проверка значимости смещения результатов измерений, полученных по аттестуемой методике от результатов измерений, полученных на ГВЭТ 176-1-2010, проведена в соответствии с [17] с помощью t-критерия. Установлена незначимость смещения.

При незначимости смещения показатель правильности методики рассчитывали по формуле:

$$\Delta_{c,m} = 1,96 \sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{ГВЭТ}^2}{3} + \sum_{\xi=1}^P \left( \frac{\partial C_i}{\partial \Delta P_{\xi}} \right)^2} \cdot \Delta^2(\Delta P_{\xi}) = 1,96 \cdot \sigma_{c,m}, \quad (12)$$

где  $S_m^2$  – дисперсия, характеризующая разброс результатов измерений в условиях воспроизводимости, мг/см<sup>3</sup>;

$L$  – число результатов измерений, см<sup>3</sup>;

$\Delta_{ГВЭТ}^2$  – погрешность результата измерений, полученного на ГВЭТ 176-1-2010, мг/см<sup>3</sup>;

Полученные показатели точности методики измерений представлены в табл. 5.

### Организация и проведение МСИ

Следующим шагом в обеспечении качества лекарственных средств является участие испытательных ла-

бораторий в межлабораторных сличительных (сравнительных) испытаниях для подтверждения надлежащего внедрения методики в лабораторную практику [22].

В 2018 г. ФГУП «УНИИМ» провел специальные МСИ для лабораторий Росздравнадзора в области количественного определения основных компонентов лекарственных препаратов методом КРС раунд: МСИ 241-Л2(КР)-1/2018, в области подтверждения подлинности (идентификации) инъекционных лекарственных препаратов методом КРС раунд: МСИ 241-Л1(КР)-1/2018.

В качестве объектов исследования в данном раунде МСИ были выбраны инъекционные лекарственные препараты со следующими основными компонентами:

- 2,3-Димеркаптопропансульфонат натрия (синоним: (RS)-2,3-бис(сульфанил)пропан-1-сульфонат; унитиол) обозначен как образец для проведения МСИ, Л(КР)№ 1 (см. рис. 5). Наименование лекарственного препарата – унитиол-ферейн [23].

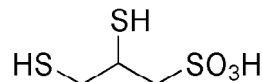


Рис. 5. Образец для проведения МСИ Л(КР) № 1

Таблица 5. Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости  
Table 5. Measurement range, accuracy, measurement repeatability and measurement reproducibility

Диапазон измерений, мг/см <sup>3</sup>	Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости единичного измерения), σ <sub>p</sub> , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости единичного измерения), σ <sub>R</sub> , %	Показатель точности (границы, в которых находится относительная погрешность измерения с вероятностью P=0,95), ± δ, %
от 1 до 350	5	8	20



- 2-(2-Карбоксилатоэтил)-1,1,1-триметилгидразиний (синоним: 3-(2,2,2-триметилгидразиний пропионата дигидрат; мельдоний) обозначен как образец для проведения МСИ, Л(КР) № 2 (см. рис. 6). Наименование лекарственного препарата – мельдоний [24].

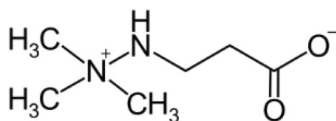


Рис. 6. Образец для проведения МСИ Л(КР) № 2

- Сульфат магния обозначен как образец для проведения МСИ, Л(КР) № 3 (см. рис. 7). Наименование лекарственного препарата – магния сульфат [25].

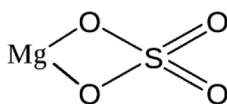


Рис. 7. Образец для проведения МСИ Л(КР) № 3

Использованные лекарственные препараты выпущены в объеме одной партии. Дополнительной подготовке не подвергались.

В качестве приписанных значений определяемых показателей использованы значения, полученные

на Государственном вторичном эталоне единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации компонентов в твердых и жидких веществах и материалах на основе объемного титриметрического метода анализа ГВЭТ 176-1-2010. Схема передачи единицы представлена на рис. 8.

Исследование однородности и стабильности приписанных значений проводили с учетом [26]. Оценку неоднородности проводили методом однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Для этого отбирали шесть образцов, в каждом из которых провели пять параллельных измерений на ГВЭТ 176-1-2010. Результаты расчета приведены в табл. 7.

Выводы о соответствии требованиям неоднородности образцов для проведения МСИ приведены в табл. 8.

Оценку стандартного отклонения от долговременной нестабильности проводили методом классического старения с учетом [26].

Для исследования отобрали шесть образцов для МСИ, проводили измерения через равные промежутки времени, затем проводили проверку наличия тренда данных во времени с помощью линейной аппроксимации полученных данных.

Результаты измерений представлены на рисунках 9–11. Результаты оценки стандартного отклонения от нестабильности представлены в табл. 9.

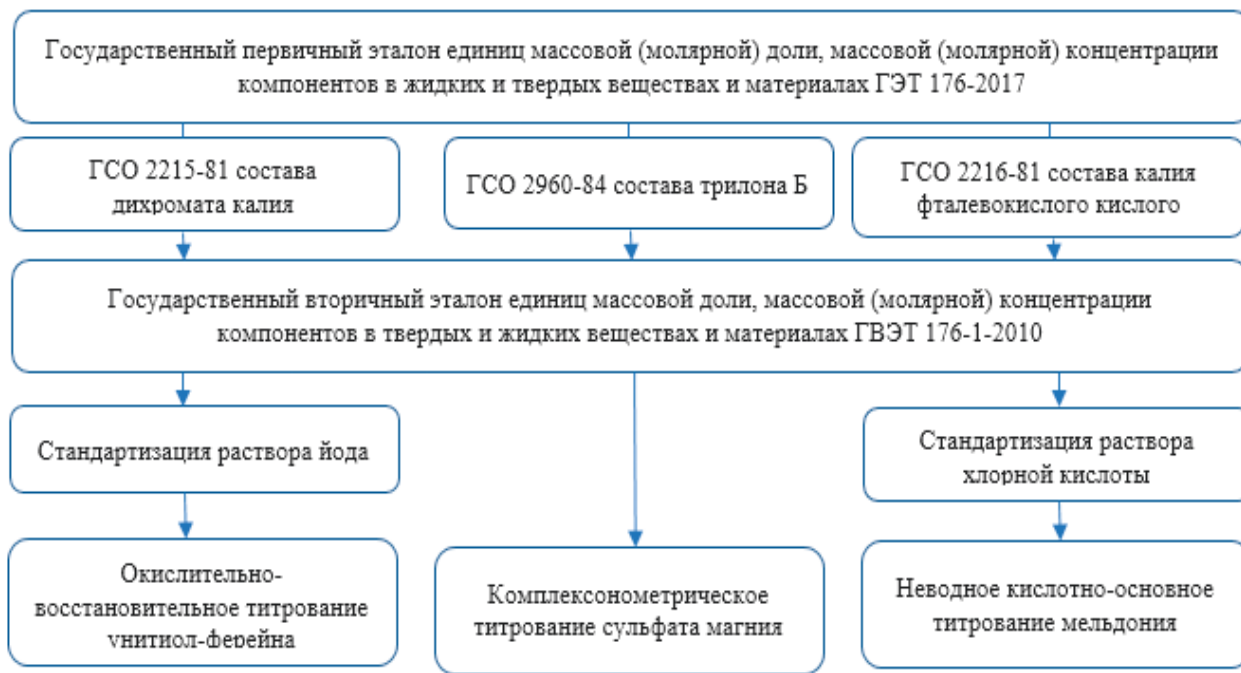


Рис. 8. Схема метрологической прослеживаемости с помощью ГВЭТ 176-1-2010

Fig. 8. Metrological traceability chain up to the GET 176-1-2010 State Primary Measurement Standard

Таблица 6. Значения приписанных значений и стандартных отклонений компетентности для показателя – содержание основного компонента

Table 6. Assigned values and standard deviation for professional assessment for the active ingredient content

Образец для проведения МСИ	Приписанное значение образцов, установленное на ГВЗТ 176-1-2010, С, мг/см <sup>3</sup>	$\sigma_{r0}$ , %	$\sigma_{R0}$ , %	$\sigma_{L0}$ , %	$\hat{\sigma}_0$ , %	$\hat{\sigma}$ , мг/см <sup>3</sup>
Унитиол-ферейн Л(КР) № 1	49,8	5	8	6,2	7,2	3,6
Мельдоний Л(КР) № 2	100,1	5	8	6,2	7,2	7,2
Сульфат магния Л(КР) № 3	264,7	5	8	6,2	7,2	19,0

Таблица 7. Результаты расчета стандартного отклонения от неоднородности

Table 7. Results of standard deviation due to inhomogeneity calculations

Образец для проведения МСИ	Сумма квадратов отклонений внутри одного образца, $MS_{within}$ , (мг/см <sup>3</sup> ) <sup>2</sup>	Сумма квадратов отклонений между образцами, $MS_{among}$ , (мг/см <sup>3</sup> ) <sup>2</sup>	Стандартное отклонение от неоднородности, ( $\sigma_H$ ), мг/см <sup>3</sup>
Унитиол-ферейн Л(КР) № 1	9,41	11,39	0,61
Мельдоний Л(КР) № 2	7,85	76,43	1,73
Сульфат магния Л(КР) № 3	11,09	95,8	4,12

Таблица 8. Выводы по неоднородности образцов

Table 8. Homogeneity estimation

Образец для проведения МСИ	$\sigma_H$	$\hat{\sigma}$	$0.3 \cdot \hat{\sigma}$	Оценка
Унитиол-ферейн Л(КР) № 1	0,61	3,6	1,07	однороден
Мельдоний Л(КР) № 2	1,73	7,2	2,2	однороден
Магния сульфат Л(КР) № 3	4,12	19	5,7	однороден

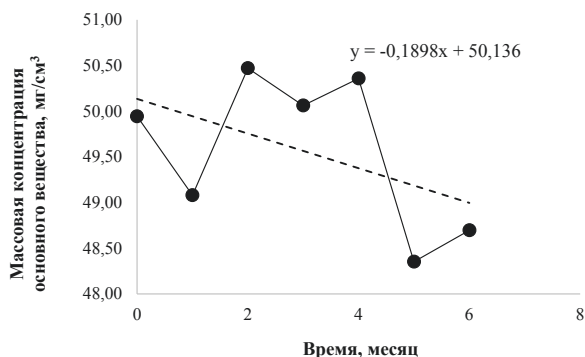


Рис. 9. Результаты измерений содержания основного компонента в образце унитиол-ферейна Л(КР) № 1 при исследовании нестабильности

Fig. 9. Measurement results of the active ingredient content for the Unithiol-Ferein sample (RS) No.1 when studying instability

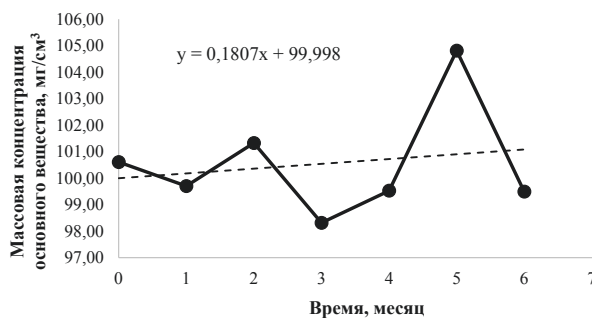


Рис. 10. Результаты измерений содержания основного компонента в образце мельдония Л(КР) № 2 при исследовании нестабильности

Fig. 10. Measurement results of the active ingredient content for the meldonium sample (RS) No. 2 when studying instability

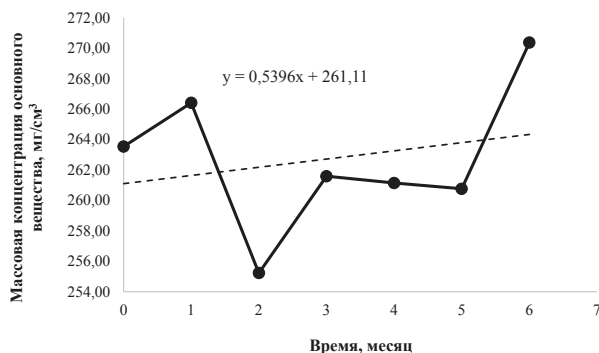


Рис. 11. Результаты измерений содержания основного компонента в образце сульфата магния Л(КР) № 3 при исследовании нестабильности

Fig. 11. Measurement results of the active ingredient content for the magnesium sulphate sample (RS) No. 3 when studying instability

Как видно из табл. 9, для образцов выполняются условия  $|b_1| < t_{0,05;(n-2)} \cdot s(b_1)$ , что указывает на незначимость наклонов линейных аппроксимаций и на отсутствие тренда аттестованного значения в период исследования нестабильности образцов для поведения МСИ.

Качество результатов измерений оценивали в соответствии с ГОСТ ISO/IEC 17043 [27] и ГОСТ Р ИСО 13528 [28] путем сравнения значений z-индексов с установленными нормативами контроля.

Все участники раундов при реализации методики измерений, основанной на КРС, в области подтверждения подлинности (идентификации) и при определении показателя «содержание основного компонента» в инъекционных лекарственных средствах подтвердили удовлетворительные результаты. Результаты расчета z-индексов представлены в графическом виде на рис. 12, 13 в виде графиков Юдена, где цифрами обозначены номера лабораторий [28].

Таблица 9. Результаты оценки стандартной неопределенности от долговременной нестабильности  
Table 9. The results of evaluating the standard uncertainty due to long-term instability

Образец для проведения МСИ	Отрезок, отсекаемый на оси ординат, $b_0$	Наклон, $b_1$	$s(b_1)$	$t_{0,05;(n-2)} \cdot s(b_1)$	$\sigma_{its}$
Унитиол-ферейн Л(КР) № 1	50,14	-0,19	0,21	0,49	1,24
Мельдоний Л(КР) № 2	100,00	0,18	0,58	1,37	3,47
Магния сульфат Л(КР) № 3	261,11	0,54	1,27	3,01	7,61

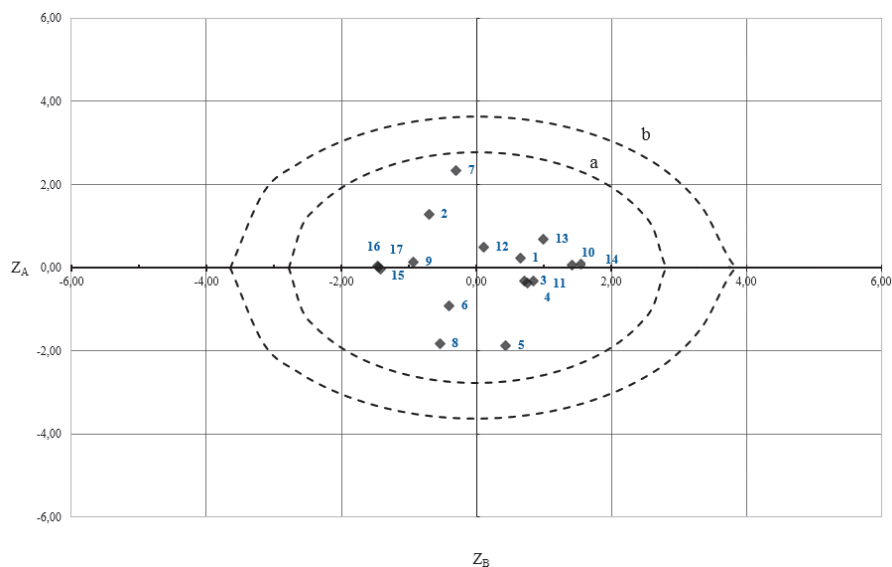


Рис. 12. График Юдена для z-индексов по данным МСИ, где  $Z_A$  – значения z-индексов лабораторий, полученных для унитиол-ферейна;  $Z_B$  – значения z-индексов лабораторий, полученных для мельдония; а – уровень значимости 95%; б – уровень значимости 99%

Fig. 12. Youden-plot for z-scores according to interlaboratory comparison results where  $Z_A$  denotes values of z-scores of laboratories obtained for Unithiol-Ferein;  $Z_B$  denotes values of z-scores of laboratories obtained for meldonium

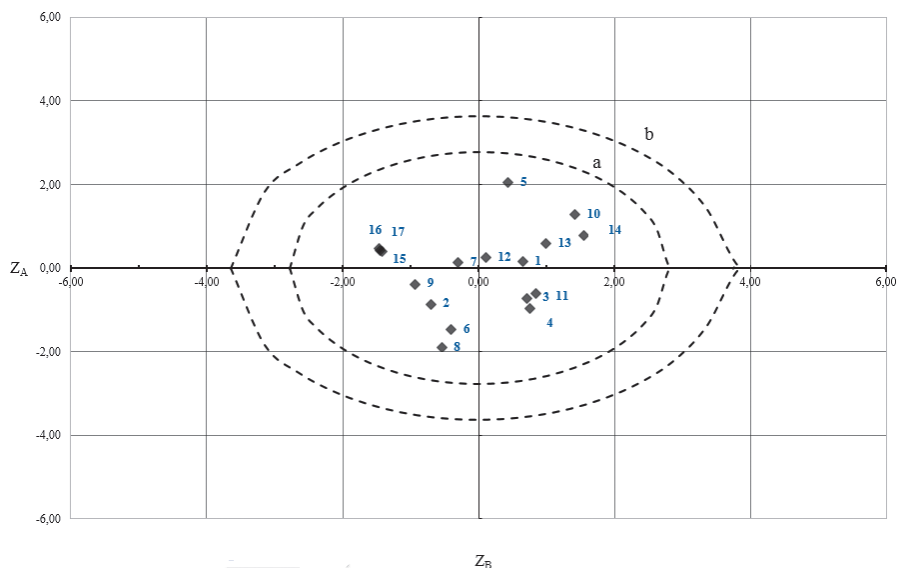


Рис. 13. График Юдена для z-индексов по данным МСИ, где  $Z_A$  – значения z-индексов лабораторий, полученных для унитиол-ферейна;  $Z_B$  – значения z-индексов лабораторий, полученных для сульфат магния; а – уровень значимости 95 %; б – уровень значимости 99 %

Fig. 13. Youden-plot for z-scores according to interlaboratory comparison results where  $Z_A$  are values of z-scores of laboratories obtained for Unithiol-Ferein;  $Z_B$  – values of z-scores of laboratories obtained for magnesium sulphate; a – confidence probability of 95 %; b – confidence probability of 99 %

Как видно из графиков Юдена, отсутствуют результаты измерений, заметно отличающиеся от остальных данных. Кроме того, все результаты измерений находятся внутри эллипса с доверительной вероятностью 95 %, что указывает на отсутствие смещения результатов измерений относительно приписанного значения, а также адекватность выбранного метода анализа.

### Выводы

Проведена аттестация методики идентификации и последующего количественного определения основных компонентов в инъекционных лекарственных средствах методом спектрометрии комбинационного рассеяния света.

В рамках аттестации методики измерений проведен многофакторный эксперимент по оценке влияния методических факторов. Установлены значения величин коэффициентов влияния, с помощью которых проведен расчет показателя правильности методики измерений.

Организованы и проведены МСИ для лабораторий Росздравнадзора в области подтверждения подлинности (идентификации) и при определении показателя «содержание основного компонента» в инъекционных лекарственных средствах методом спектрометрии комбинационного рассеяния света.

Прослеживаемость результатов приписанных значений при проведении МСИ обеспечена путем проведения измерений на Государственном вторичном эталоне единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации компонентов в твердых и жидких веществах и материалах на основе объемного титриметрического метода анализа ГВЭТ 176-1-2010.

Результатами МСИ подтверждены метрологические характеристики методики идентификации и последующего количественного определения содержания основных компонентов методом КРС для лекарственных препаратов, находящихся в инъекционной форме.

Результаты исследования, полученные в ходе исследования образцов для проведения МСИ, могут быть использованы для создания стандартных образцов содержания основных компонентов в инъекционных лекарственных препаратах унитиол-ферейна, мельдония и сульфата магния.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Спектроскопия комбинационного рассеяния в медицинской диагностике: электрон. метод. указания / сост.: В. Н. Гришанов. Электрон. текстовые и граф. данные (0,23 Мб). Самара: Изд-во СГАУ, 2015. 1 эл. опт. диск (CD-ROM).
2. Диагностика водно-этанольных растворов методом спектроскопии комбинационного рассеяния света / С. А. Буриков [и др.] // Оптика атмосферы и океана, 2009. № 11. С. 1–7.
3. Аграфенин А. В. Одновременное количественное определение глицерина и ацетата калия в водном растворе методом КРС // Микроэлементы в медицине. 2014. Т. 15. № 3. С. 48–51.
4. Tondepu C., Toth R., Navin C. V., Lawson L. S., Rodriguez J. D. Screening of unapproved drugs using portable Raman spectroscopy // Anal. Chim. Acta. 2017. Vol. 973. P. 75–81.
5. Carron K., Cox R. Qualitative analysis and the answer box: a perspective on portable Raman spectroscopy // Anal. Chem. 2010. Vol. 82. P. 3419–3425.
6. Buckley K., Matousek P. Recent advances in the application of transmission Raman spectroscopy to pharmaceutical analysis // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2011. Vol. 55. P. 645–652.
7. Strachan C. J., Rades T., Gordon K. C., Rantanen J. Raman spectroscopy for quantitative analysis of pharmaceutical solids // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2007. Vol. 59. P. 179–192.
8. Vankeirsblick T., Vercauteren A., Baeyens W., Van der Weken G., Verpoort F., Vergote G., Remon J. P. Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis // TrAC Trends in analytical Chemistry. 2002. Vol. 21. P. 869–877.
9. Connie M., Gryniewicz-Ruzicka, Rodriguez J. D., Arzhantsev S., Buhse L. F., Kauffman J. F. A Comparison of chemometric methods for the analysis of Raman Spectra of contaminated pharmaceutical materials // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.– 2012. Vol. 61. P. 191–198.
10. Hennigan M. C., Rydes A. G., Gordon K. C., Rantanen J. Raman spectroscopy for quantitative analysis of pharmaceutical solids // Journal of Pharmacy and Pharmacology.– 2007. Vol. 59. P. 179–192.
11. Matero S., Den Berg F. V., Poutiainen S., Rantanen J., Pajander J. Towards better process understanding: Chemometrics and multivariate measurements in manufacturing of solid dosage forms // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013. Vol. 102. P. 1358–1403.
12. Rantanen J. Process analytical application of Raman spectroscopy // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2007. Vol. 59. P. 171–177.

## REFERENCES

1. Grishanov V. N. Raman spectroscopy in medical diagnostics. CD-ROM, SGAU, Samara, 2015. (In Russ.).
2. Burikov S. A. et al. Diagnostics of water-ethanol solutions using Raman spectroscopy. Atmospheric and Oceanic optics 2009;11:1–7 (In Russ.).
3. Agrafenin A. V. Simultaneous quantitative determination of glycerol and potassium acetate in aqueous solution by Raman spectroscopy. Trace elements in medicine 2014;15(3):48–51 (In Russ.).
4. Tondepu C., Toth R., Navin C. V., Lawson L. S., Rodriguez J. D. Screening of unapproved drugs using portable Raman spectroscopy. Anal. Chim. Acta. 2017; 973:75–81.
5. Carron K., Cox R. Qualitative analysis and the answer box: a perspective on portable Raman spectroscopy. Anal. Chim. Acta. 2010;(82):3419–3425.
6. Buckley K., Matousek P. Recent advances in the application of transmission Raman spectroscopy to pharmaceutical analysis. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 2011;55: 645–652.
7. Strachan C. J., Rades T., Gordon K. C., Rantanen J. Raman spectroscopy for quantitative analysis of pharmaceutical solids. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2007;59:179–192.
8. Vankeirsblick T., Vercauteren A., Baeyens W., van der Weken G., Verpoort F., Vergote G., Remon J. P. Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis. TrAC Trends in analytical Chemistry 2002;21: 869–877.
9. Connie M., Gryniewicz-Ruzicka, Rodriguez J. D., Arzhantsev S., Buhse L. F., Kauffman J. F. A comparison of chemometric methods for the analysis of Raman Spectra of contaminated pharmaceutical materials. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 2012;61:191–198.
10. Hennigan M. C., Rydes A. G., Gordon K. C., Rantanen J. Raman spectroscopy for quantitative analysis of pharmaceutical solids. Journal of pharmacy and pharmacology 2007;59: 179–192.
11. Matero S., Den Berg F. V., Poutiainen S., Rantanen J., Pajander J. Towards better process understanding: Chemometrics and multivariate measurements in manufacturing of solid dosage forms. Journal of Pharmaceutical Sciences 2013;102: 1358–1403.
12. Rantanen J. Process analytical application of Raman spectroscopy. Journal of Pharmaceutical Sciences 2007;59:171–177.

13. ОФС.1.2.1.1.0009.15 Рамановская спектроскопия // Фармакопейя.рф. URL: [www.pharmacopoeia.ru/wp-content/uploads/2016/10/OFS.1.2.1.1.0009.15-Ramanovskaya-spektrometriya.pdf](http://www.pharmacopoeia.ru/wp-content/uploads/2016/10/OFS.1.2.1.1.0009.15-Ramanovskaya-spektrometriya.pdf).
14. Galeev R., Ma B., Saveliev A., Ilishat A. Quantitative analysis of injectable drug products using non-invasive wideband Raman Technology // American Pharmaceutical review. 2015. Vol. 18. № 6.
15. Лемешко Б. Ю. Критерии проверки отклонения распределения от нормального закона. Руководство по применению: монография. М.: ИНФРА-М, 2018.160 с
16. РМГ 61–2010 ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного анализа.
17. CCQM-K130 (2018) The international key comparison database // BIPM. URL: [www.kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB\\_ApB\\_info.asp?cmp\\_idy=1472&cmp\\_cod=CCQM-K130&prov=exalead](http://www.kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB_ApB_info.asp?cmp_idy=1472&cmp_cod=CCQM-K130&prov=exalead)
18. CCQM-K149 International Key comparisons // BIPM. URL: [www.kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB\\_ApB\\_info.asp?cmp\\_idy=2625&cmp\\_cod=CCQM-K149&prov=exalead](http://www.kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB_ApB_info.asp?cmp_idy=2625&cmp_cod=CCQM-K149&prov=exalead)
19. Key comparison Final report of CCQM-K130 nitrogen mass fraction measurements in glycine /M. Medvedevskikh et al. // Metrologia, Vol. 54, Technical Supplement 2017. doi:10.1088/0026–1394/54/1A/08004
20. Дерффель К. Статистика в аналитической химии. Пер. с нем. М.: Мир, 1994. 268 с.
21. ГОСТ ИСО/МЭК 17025–2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. М.: Стандартиформ, 2018. 28 с.
22. PN 002691/01 Фармакопейная статья предприятия. Раствор для внутримышечного и подкожного введения 5%. Унитиол-ферейн.
23. ЛСР-000864/10–100210 Стандарт качества лекарственного средства. Фармакопейная статья предприятия. Вућнлол, раствор для внутривенного и парабубарного введения 100 мг/мл. Мельдоний.
24. НД 8570–03Магния сульфат. Раствор для внутривенного и внутримышечного введения 200 и 250 мг/мл.
25. ГОСТ ISO Guide 35–2015 Стандартные образцы. Общие статистические принципы сертификации (аттестации). М.: Стандартиформ, 2016. 61 с.
26. ГОСТ ISO/IEC 17043–2013 Основные требования к проведению проверки квалификации. М.: Стандартиформ, 2014. 34 с.
27. ГОСТ Р ИСО 13528–2010 Статистические методы. Применение при экспериментальной проверке компетентности посредством межлабораторных сравнительных испытаний. М.: Стандартиформ, 2012. 56 с.
13. OFS.1.2.1.1.0009.15 Raman spectroscopy. A general pharmacopoeial monograph, Ministry of Health of the Russian Federation. <http://pharmacopoeia.ru/wp-content/uploads/2016/10/OFS.1.2.1.1.0009.15-Ramanovskaya-spektrometriya.pdf>. (In Russ.).
14. Galeev R., Ma B., Saveliev A., Ilishat A. Quantitative analysis of injectable drug products using non-invasive wideband Raman Technology. American Pharmaceutical review. 2015;18(6).
15. Lemeshko B. Yu. Criteria for Testing the Distribution Deviation from the Normal Law: Application Guide. Moscow, INFRA-M, 2018 (In Russ.).
16. RMG 61–2010 State system for ensuring the uniformity of measurements. Accuracy, trueness and precision measures of the procedures for quantitative chemical analysis. Methods of evaluation, Standartinform, Moscow (In Russ.).
17. CCQM-K130 (2018) The international key comparison database. BIPM, France. [https://kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB\\_ApB\\_info.asp?cmp\\_idy=1472&cmp\\_cod=CCQM-K130&prov=exalead](https://kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB_ApB_info.asp?cmp_idy=1472&cmp_cod=CCQM-K130&prov=exalead).
18. CCQM-K149 International Key comparisons (2018) BIPM, France [https://kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB\\_ApB\\_info.asp?cmp\\_idy=2625&cmp\\_cod=CCQM-K149&prov=exalead](https://kcdb.bipm.org/appendixB/KCDB_ApB_info.asp?cmp_idy=2625&cmp_cod=CCQM-K149&prov=exalead) Accessed 30 October 2018.
19. Medvedevskikh M et al. Key comparison Final report of CCQM-K130 nitrogen mass fraction measurements in glycine. Metrologia 2017;54:08004. doi:10.1088/0026–1394/54/1A/08004
20. Derffel K. Statistics in Analytical Chemistry. Moscow, Mir, 1994. (In Russ.).
21. GOST ISO/IEC 17025–2009 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Standartinform, Moscow, 2018, 28 p. (In Russ.).
22. PN 002691 /01 Manufacturer’s pharmacopoeial monograph. Solution for intramuscular and subcutaneous injection 5%. Unithiol-Ferein. (In Russ.).
23. LSR-000864 /10–100210 The quality standard of pharmaceutical products. Manufacturer’s pharmacopoeial monograph. Idrinol, a solution for intravenous and parabolbar injection of 100 mg /ml. Meldonium. (In Russ.).
24. ND 8570–03 Magnesium sulphate. Solution for intravenous and intramuscular injection 200 and 250 mg /ml. (In Russ.).
25. GOST ISO Guide 35–2015 Reference materials. General and statistical principles for certification. Standartinform, Moscow, 2016, 61 p. (In Russ.).
26. GOST ISO/IEC 17043–2013 Conformity assessment. General requirements for proficiency testing. Standartinform, Moscow, 2014, 34 p. (In Russ.).
27. GOST R ISO 13528–2010 Statistical methods for application in proficiency testing using interlaboratory comparisons. Standartinform, Moscow, 2012, 56 p. (In Russ.).

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Медведевских Мария Юрьевна** – канд. техн. наук, заведующий лабораторией метрологии влагометрии и стандартных образцов ФГУП «УНИИМ».  
Российская Федерация, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4  
e-mail: lab241@uniim.ru  
ResercherID: G-6171–2017

**Крашенинина Мария Павловна** – канд. техн. наук, старший научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов, ФГУП «УНИИМ».  
Российская Федерация, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4  
e-mail: krasheninina\_m@uniim.ru  
Resercher ID: B-8302–2019

**Галеева Екатерина Владимировна** – руководитель группы РАМАН-спектроскопии и перспективных разработок ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора.  
Российская Федерация, г. Москва, Славянская площадь, д. 4, стр. 1  
e-mail: miniram532@gmail.com  
ORCID:0000–0003–4588–675X

**Галеев Роман Рашитович** – директор Ярославской лаборатории, ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора.  
Российская Федерация, г. Москва, Славянская площадь, д. 4, стр.1  
e-mail: galeev.roman.r@gmail.com  
ORCID: 0000-0003-0284-4963

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Maria Yu. Medvedevskikh** – Ph. D. (Engineering), Head of Laboratory for Moisture Measurement and Certified Reference Materials, Ural Research Institute for Metrology.  
4 Krasnoarmeyskaia St., Ekaterinburg, 620075, Russian Federation  
e-mail: lab241@uniim.ru  
Researcher ID: G-6171–2017

**Maria P. Krasheninina** – Ph. D. (Engineering), Deputy Head of the Laboratory for Moisture Measurement and Certified Reference Materials, Ural Research Institute for Metrology.  
4 Krasnoarmeyskaia St., Ekaterinburg, 620075, Russian Federation  
e-mail: lab241@uniim.ru  
Resercher ID: B-8302–2019

**Ekaterina V. Galeeva** – Information and Methodological Center for Expert Evaluation, Recording and Analysis of Circulation of Medical Products of Roszdravnadzor.  
4 str. 1 Slavyanskaya ploshchad' St., Moscow, Russian Federation  
e-mail: miniram532@gmail.com  
ORCID: 0000–0003–4588–675X

**Roman R. Galeev** – Information and Methodological Center for Expert Evaluation, Recording and Analysis of Circulation of Medical Products of Roszdravnadzor.  
4 str. 1 Slavyanskaya ploshchad' St., Moscow, Russian Federation  
e-mail: galeev.roman.r@gmail.com  
ORCID: 0000-0003-0284-4963

