Фармацевтическая химия 2

2 занятие.

Статистическая обработка результатов количественного определения. Валидация.

Статистическая обработка результатов количественного определения по методу Стьюдента.

Критерий Стьюдента (t-критерий) является наиболее распространённым критерием оценки результатов измерений в виду своей простоты и многофункциональности.

1) Определение среднего значения результатов определения:



где:

n – число определение;

X1; X2; X3; Xn – полученные значения в результате определения.

***Пример:*** Например результаты определения, X1 = 96,5%, X2 = 98,0%, X3 = 100,0%, X4 = 99,5%, X5 = 97,5%. В этом случае:



2) Вычисления среднеквадратического отклонения от среднего значения:



В нашем примере:



3) Вычисление стандартного отклонения:



В нашем примере:



4) Определение точности определения при n-1 и α=0,95:

,

где:

tα – коэффициент Стьюдента при n-1, (то есть в нашем случае для 5-1 равен 2,776 (берётся из таблицы)



5) Вычисление относительно ошибка анализа:



В нашем случае:

 .

Таблица значений коэффициента Стъюдента.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **n-1** | **α=0,95** | **n-1** | **α=0,95** |
| 1 | 12,706 | 7 | 2,365 |
| 2 | 4,303 | 8 | 2,306 |
| 3 | 3,182 | 9 | 2,262 |
| 4 | 2,776 | 10 | 2,228 |
| 5 | 2,571 | 11 | 2,201 |
| 6 | 2,447 | 12 | 2,179 |

Валидация аналитической методики – это экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач.

Настоящая общая фармакопейная статья регламентирует характеристики аналитических методик, определяемые с целью их валидации, и соответствующие критерии пригодности валидируемых методик, предназначенных для контроля качества лекарственных средств: фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов.

Валидации подлежат методики количественного определения, в том числе методики определения примесей и методики определения предела содержания. Методики проверки подлинности подвергаются валидации при необходимости подтвердить их специфичность.

При валидации проводится оценка аналитической методики по перечисленным ниже характеристикам, выбираемым с учетом типовых рекомендаций, приведенных в таблице:

* специфичности (specificity);
* пределу обнаружения (detection limit);
* пределу количественного определения (quantitation limit);
* аналитической области (range);
* линейности (linearity);
* правильности (trueness);
* прецизионности (precision);
* устойчивости (robustness).

**Характеристики методик, определяемые при валидации**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Наименование**  **характеристики** | **Основные типы методик** | | | |
| **Испытание  на подлин­ность** | **Посторонние примеси** | | **Количественное определение** |
| **Количественные методики** | **Предел содержания** | **Основного действующего вещества, нормируемых компонентов** |
| Специфичность\*\*) | Да | Да | Да | Да |
| Предел обнаружения | Нет | Нет | Да | Нет |
| Предел  количественного определения | Нет | Да | Нет | Нет |
| Аналитическая область | Нет | Да | Нет | Да |
| Линейность | Нет | Да | Нет | Да |
| Правильность | Нет | Да | \* | Да |
| Прецизионность**:**  – повторяемость (сходимость)  – промежуточная  (внутрилабораторная) прецизионность | Нет    Нет | Да    Да | Нет    Нет | Да    Да |
| Устойчивость | Нет | \* | \* | \* |

\*)может определяться при необходимости;

\*\*)отсутствие специфичности одной аналитической методики может быть компенсировано использованием другой аналитической методики.

Ревалидацию (повторную валидацию) методик проводят при изменении:

* технологии получения объекта анализа;
* состава лекарственного средства (объекта анализа);
* ранее утвержденной методики анализа.

**Правильность (accuracy).** Правильность методики - это близость получаемых с использованием данной методики результатов к истинному значению. Правильность методики может быть определена посредством выполнения анализа образцов материала, приготовленных с количественной точностью. При возможности такие образцы должны содержать все компоненты материала, включая анализируемые. Также должны быть приготовлены образцы, содержащие анализируемое вещество в количестве примерно на 10 % выше и ниже ожидаемого содержания. Правильность может быть также определена путем сравнения результатов с таковыми, полученными при использовании альтернативной методики, которая была провалидирована ранее.

**Точность (precision).** Точность методики - это степень согласованности между отдельными результатами испытаний. Она измеряется отклонением отдельных результатов от среднего значения и обычно выражается как стандартное отклонение или как коэффициент вариации (относительное стандартное отклонение), при условии использования полной методики для повторного анализа отдельных идентичных образцов, отобранных из одной и той же однородной серии материала.

**Сходимость (внутрилабораторная вариация).** Это точность методики при ее выполнении одним и тем же аналитиком при одних и тех же условиях (те же реактивы, оборудование, задание каких-либо параметров и лаборатория) и в течение короткого промежутка времени. Сходимость методики оценивается проведением полных определений на отдельных идентичных образцах, отобранных из одной и той же однородной серии материала, и таким образом обеспечивает измерение точности методики в нормальных рабочих условиях.

**Воспроизводимость (reproducibility).** Это точность методики, когда она проводится в различных условиях (обычно в разных лабораториях) на отдельных, предположительно идентичных образцах, отобранных из одной и той же однородной серии материала. Сравнение результатов, полученных разными аналитиками, при использовании разного оборудования или при проведении анализа в разное время, также может предоставить ценную информацию.

**Надежность (robustness или ruggedness).**Надежность - это способность методики давать результаты анализа с приемлемой правильностью и точностью при изменении условий. Она является мерой степени влияния изменений условий работы или окружающей среды на получаемые результаты анализа отдельных, предположительно идентичных образцов из одной и той же однородной серии материала.

**Линейность и диапазон (linearity и range).**Линейность аналитической методики - это ее способность давать результаты, которые прямо пропорциональны концентрации анализируемого вещества в образцах. Диапазон методики выражается как высшая и низшая концентрации, в пределах которых продемонстрировано, что анализируемое вещество определяется с приемлемой точностью, правильностью и линейностью. Эти характеристики определяются посредством применения данной методики для выполнения анализа серии образцов, имеющих концентрации анализируемого вещества, перекрывающие требуемый диапазон.

**Избирательность (selectivity).** Избирательность или специфичность методики - это ее способность измерять анализируемое вещество так, чтобы быть свободной от влияния других компонентов анализируемого образца. Избирательность (или ее отсутствие) может быть выражена как отклонение результатов, полученных при применении методики для определения анализируемого вещества в присутствии ожидаемого количества других компонентов, по сравнению с результатами, полученными для этого же анализируемого вещества без добавления других веществ. Когда другие компоненты известны и доступны, избирательность может быть определена путем сравнения результатов испытания определяемого вещества в образце с добавлением и без добавления потенциально мешающих веществ.

**Чувствительность (sensitivity).**Чувствительность - это способность методики испытания регистрировать небольшие изменения концентрации. Чувствительность есть наклон калибровочной кривой.

**Предел обнаружения (limit of detection).** Предел обнаружения - это наименьшее содержание, при котором анализируемое вещество может быть обнаружено, но не обязательно определено количественно при использовании данной методики при требуемых экспериментальных условиях.

**Предел количественного определения (limit of quantitation).**Предел количественного определения - это наименьшая концентрация анализируемого вещества в образце, которая может быть определена с подходящей правильностью и точностью при применении требуемой методики. Он измеряется путем анализа образцов, содержащих уменьшающиеся количества анализируемого вещества и определением наименьшего уровня содержания, при котором может быть достигнута приемлемая степень правильности и точности. Во многих случаях предел количественного определения приблизительно в два раза выше предела обнаружения.