	ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России ЛАБОРАТОРИЯ ТОКСИКОЛОГИИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ		
СОП №:	Номер версии:		Число страниц:
Х/П-006-2022/4	4		8
	Дата начала действия СОП:		Дата окончания действия СОП:
	13.04.2022		13.04.2024
Наименование СОП:	**Аналитическая проверка доз в токсикологических исследованиях GLP статуса**		
Составлено/ Пересмотрено:	_____ подпись	13.04.2021/ 17.03.2022 дата	Л.А. Смирнова А.Ю. Гетманенко
Проверено: Руководитель СОК	_____ подпись	29.03.2022 дата	В.Н. Перфилова
Утверждено: Руководитель лаборатории	_____ подпись	05.04.2022 дата	Л.И. Бугаева
Форма обучения:	чтение✓		практические занятия✓

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ЦЕЛЬ: Описание проведения аналитической проверки доз тестируемых и контрольных веществ в токсикологических исследованиях GLP статуса.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ СОП предназначена сотрудникам провизорской службы и аналитического отдела.

2. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

2.1 Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»

3. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

За аналитическую проверку доз отвечает аналитический отдел. За отбор проб для проведения анализа отвечает провизорская служба

4. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

СОП устанавливает порядок отбора, транспортировки, передачи на анализ проб тестируемых и контрольных веществ и их подготовленных смесей. В соответствии с данной СОП осуществляется документальное оформление вышеуказанных процедур.

5. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

5.1.Тест-объект (исследуемое вещество) – объект, вещество или изделие, являющееся предметом исследования.

5.2.Контрольный объект (контрольное вещество, вещество сравнения) – вещество/лекарственное средство, используемое в качестве основы для сравнения с исследуемым веществом (тест-объектом).

5.3.**Проба (образец)** – часть тестируемого или контрольного объекта, взятая с целью изучения, анализа или сохранения.

5.4.Лекарственная форма (смесь) – комбинация тест-объекта и различных ингредиентов, таких как вспомогательные вещества, которые объединяются и вводятся и/или наносятся на тест-систему в другой форме, например: таблетка, капсула, раствор.

5.5.Препарат тест-объекта (или подготовленный тест-объект) может быть лекарственной формой (смесью), содержащей тест-объект или тест-объект в носителе, где комбинация получается путем разбавления, смешивания, диспергирования, суспендирования, солюбилизации и/или другого процесса, предназначенный для введения в тест-систему.

5.6. Тест-система – любая биологическая, химическая или физическая система или их комбинация, используемая в исследовании.

5.7.**Краткосрочное исследование –** исследование с коротким временем проведения и широко применимыми стандартными методами

6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
СОП – стандартная операционная процедура
ХЧ – химически чистый
GLP – Good Laboratory Practice
OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development

7. ПРИМЕНЯЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ / ИНСТРУМЕНТЫ/РЕАКТИВЫ

7.1. Оборудование
- 7.1.1. Холодильник Stinol
- 7.1.2. КС ВЭЖХ с диодно-матричным детектором
- 7.1.3. КС ВЭЖХ с флуоресцентным детектором
- 7.1.4. КС Спектрофотометр СФ 2000
- 7.1.5. Весы аналитические Pioneer Ohaus 64
- 7.1.6. pH-метр Hanna
- 7.1.7. Центрифуга Eppendorf
- 7.1.8. Центрифуга СМ-50
- 7.1.9. Мешалка магнитная Yellow line MSH basic
- 7.1.10. Дозаторы поршневые переменного объема

7.2. Реактивы
- 7.2.1. Ацетонитрил (УФ-200)
- 7.2.2. Фосфатные буферные растворы
- 7.2.3. Кислота серная

7.2.4. Кислота ортофосфорная
7.2.5. Натрия гидроксид
7.2.6. Кислоты гептансульфоновой натриевая соль
7.2.7. Натрия додецилсульфат
7.2.8. Кислота уксусная (ледяная) ХЧ
7.2.9. Триэтиламин

8. ПРОЦЕДУРА ВЫПОЛНЕНИЯ

8.1. Общие положения

8.1.1. Аналитическая проверка доз производится в случае применения испытуемых объектов в определенной среде/носителе (при приготовлении растворов, суспензий, эмульсий, мягких лекарственных форм) с целью установить их однородность, концентрацию и стабильность в условиях этой среды.

8.1.2. Контроль доз производится по параметрам «концентрация», «однородность» и «стабильность».

8.2. Методы, используемые для аналитического определения концентрации, однородности и стабильности доз тест-объектов

8.2.1. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области – это простой, количественный и качественный спектральный метод, позволяющий количественное определение биологически активных веществ в фармацевтических субстанциях и лекарственных формах.

8.2.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – инструментальный метод оценки концентраций исследуемых биологически активных веществ в многокомпонентных системах. Позволяет проводить как качественный, так и количественный анализ.

8.3. Определение концентрации, однородности и стабильности

8.3.1. Определение концентрации препаратов тестируемых и контрольных веществ производится согласно методике, разработанной и валидированной для субстанций соответствующих веществ (СОП Подбор хроматографических условий и анализ данных, СОП Измерение оптической плотности растворов).

8.3.2. Контроль однородности препаратов производится путём отбора проб из верхней и нижней частей емкости для приготовления. Перед отбором проб емкость необходимо закрыть и тщательно встряхнуть. Объем каждой пробы должен составлять 0,5 мл, если не указано иное в аналитической СОП на данную методику.

8.3.3. Анализируемый образец признается однородным, если значения концентраций в пробах, взятых из верхней и нижней частей емкости, соответствуют параметрам прецизионности методики количественного определения.

8.3.4 Контроль стабильности препарата осуществляется:

8.3.4.1. В случае, если разведение тест-объекта осуществляется в том же носителе, который использовался при разработке и валидации метода количественного определения исследуемых субстанций, стабильность препарата определяется по междневным и внутридневным колебаниям значений концентрации при валидации методики.

8.3.4.2. В случае, если разведение тест-объекта осуществляется в ином носителе, то производят приготовление тестовых образцов для определения стабильности в сроки, установленные Протоколом исследования, но не менее чем за 72 часа до начала введения вещества в тест-систему. Тестовые образцы изготавливаются согласно технологии приготовления доз для введения, в объеме не менее 1 мл. Стабильность тестового образца определяют в течение установленного в Протоколе исследования

срока хранения приготовленных доз. Если не указано иначе, временной интервал для оценки стабильности составляет 24 часа. Анализируемый образец признается стабильным, если значения концентраций в пробах, взятых в начале и в конце установленного срока хранения, соответствуют параметрам прецизионности методики количественного определения.

8.3.5. В случае, если исследование продолжается более 30 дней, повторный отбор проб для контроля однородности и стабильности осуществляют также на 30-й день введения, и далее с интервалом 30 дней (допускается отклонение до 2 суток).

8.4. Передача и транспортировка образцов для анализа

8.4.1. Отобранные пробы должны быть помещены в транспортировочные контейнеры, снабженные этикетками согласно СОП Маркировка тестируемых и контрольных веществ.

8.4.2. Контейнеры с пробами передаются представителю аналитического отдела в провизорской комнате, при передаче подписывается форма согласно Приложению 1. После подписания формы ответственность за сохранность переданных образцов принимает на себя аналитический отдел.

8.4.3. Контейнеры с пробами должны быть переданы на анализ как можно быстрее. Если немедленный анализ проб невозможен, пробы должны храниться в аналитическом отделе в условиях, соответствующих таковым для хранения анализируемого вещества/препарата. Сведения об условиях и сроке хранения заносятся в форму (Приложение 1).

8.4.4. Результаты анализа вносят в протокол (Приложение 2).

9. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

9.1. OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE AND COMPLIANCE MONITORING. Number 19: Advisory Document of the Working Group on Good Laboratory Practice on the Management, Characterisation and Use of Test Items. – 2018

10. ПРИЛОЖЕНИЯ

10.1. ФОРМЫ-БЛАНКИ «Передача образцов на анализ», «Условия хранения образца»

10.2. Бланк протокола анализа

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

ПЕРЕДАЧА ОБРАЗЦОВ НА АНАЛИЗ

Информация об образцах				
№ исследования				
№ образца				
Наименование вещества (веществ) в исследовании				
Тип образца (раствор, субстанция, иное – указать)				
Количество, ед. измерения				
№ серии				
Дата, время отбора проб				
Срок годности				
Условия хранения				
Дата, время передачи на анализ				

Условия хранения образца				
№ п/п	**Помещено на хранение (дата, время)**	**Комната №**	**Холодильник №**	**Полка №**

Сотрудник провизорской службы:

«____»_____ _____ г. _____ /_____/

дата подпись расшифровка

Сотрудник аналитического отдела:

«____»_____ _____ г. _____ /_____/

дата подпись расшифровка

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Протокол анализа от ____ _____20__ г.
_____Код исследования_____ _____ _____

Наименование объекта исследования _____
Дата передачи образца _____
Наименование и концентрация полученных образцов_____
_____

Наименование	**Код образца**	**Концентрация, мкг/мл**	**Примечания**

Ход определения:
(вносятся данные об аналитическом методе)

Описание растворения
(вносятся данные о приготовлении стандартных растворов и растворов анализируемых образцов)

Полученные данные анализа _____ вносятся в таблицу 1.
Таблица 1.

№ п/п пробы	Концентрация изготовленных растворов, мг/мл	Измеренная концентрация, рассчитанная по калибровочному графику, мг/мл
Среднее значение концентрации, мг/мл		
Абсолютный разброс концентрации, мг/мл		
Разность концентраций относительно среднего, % (допустимо не более 15%)		

Пересчет концентраций в дозы для введения животным с использованием ЭТ Microsoft Excel (https://lis.ncils.ru/?page_id=289).
Таблица 2

Измеренная концентрация, мг/мл	Норматив отклонения от концентрации изготовленных растворов от измеренных, %	Значение отклонения концентрации изготовленных растворов от измеренных, %	Приготовленная доза вещества для введения, мг/кг	Рассчитанная доза, мг/кг	Ошибка приготовления, % (не более 15%)

Заключение*: (описывается соответствие/ несоответствие заявленной дозе образца, его однородности, стабильность и нормативной документации)*

Ответственный исполнитель_____
Руководитель аналитического отдела_____
Руководитель исследования_____

Лист регистрации изменений от 17.03.2022 в СОП № Х/П-006-2022 версия 4

№ изм.	№ страницы	№ пункта	Внесенные изменения
1	1	Титульный лист	Изменена кодировка СОП. Проведено форматирование СОП
2	3-4	8	В пп.8.3.3 уточнена формулировка критериев однородности образца.; В пп. 8.3.4.2 уточнены сроки проведения анализа стабильности приготовленных доз; внесены данные о приготовлении тестовых образцов; В пп. 8.3.5. уточнены сроки проведения повторных анализов стабильности; В пп. 8.4.4 внесена ссылка на приложение 2.
3	4	10	Добавлено приложение 2 «Протокол анализа»

Руководитель лаборатории:

«____»_____ _____ г. _____ /_____/

дата подпись расшифровка