



ДЕРЖАВНА ФАРМАКОПЕЯ УКРАЇНИ – ЄВРОПЕЙСЬКА ЯКІСТЬ ВІТЧИЗНЯНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ



Гарантія якості продукції і відповідність вимогам нормальної аналітичної практики Підхід ДФУ

Дмитро ЛЕОНТЬЄВ
Наталя ВОЛОВИК
Олександр ГРИЗОДУБ

д.фарм.н., ст. наук. співроб.
к.фарм.н, старший дослідник
д.х.н., професор

25-26 листопада 2021

Державне підприємство «Український науковий
фармакопейний центр якості лікарських засобів»

www.sphu.org

ВИМОГИ ДО РІВНІВ ВИПРОБУВАЛЬНОЇ ТА КАЛІБРУВАЛЬНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ В КОНТРОЛІ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

В фармацевтичному секторі, як і для аналітичної хімії, потрібно розрізняти завдання двох рівнів:

- (1) завдання **випробувальної** лабораторії – контроль якості ЛЗ на відповідність специфікаціям;
- (2) завдання **калібрувальної** лабораторії. Це, наприклад - калібрування РСЗ для КК ЛЗ.

Завдання випробувальної лабораторії – відповідають рівню «нормальної аналітичної практики».

Завдання калібрувальної лабораторії – перевищують рівень НАП настільки, що потребують спеціальних критеріїв і іншої аналітичної техніки.

Приклад – спеціальні критерії: атестація РСЗ потребує досягнення невизначеності $0.32 \times \max \Delta_{\text{assay}}$.

Приклад – спеціальна техніка: для атестації РСЗ використовуються вагові розведення розчинів (особливо для аліквот!), що дуже рідко використовується для КЯ ЛЗ.

Проблема: на теперішній час систематична класифікація, які вимоги є достатніми для яких завдань лабораторії (контролю якості та розробки) не проводилася. Тому фактично вирішено тільки *деякі* завдання для калібрувальної лабораторії, наприклад, найбільш очевидне – атестація РСЗ.

Приклад невідповідності рівня роботи лабораторії завданню: з результатів, які одержані вочевидь у відповідності з НАП (КЯ ЛЗ), бажано одержати інформацію, для одержання якої потрібно використовувати «калібрувальну техніку» - так, з результатів КЯ ЛЗ потрібно **аналізувати тенденції**. Якщо результат аналізу *мінімально відповідає* вимогам НАП (а в багатьох лабораторіях навіть цей рівень не досягнуто), то *з таких результатів неможна одержати інформацію щодо тенденцій*.

Теоретичне не вирішене питання: Яка потрібна роздільна здатність для невизначеності, щоб задовольняти одержання необхідної інформації?

Актуальність роботи

Важливо: (1) результати зведення бюджету варіювання використовуються на наступного вирішення багатьох завдань. Це:

- робасність фармацевтичної розробки;
- оцінювання стабільності препарату;
- трансфер аналітичної методики;
- контроль якості результатів аналізу при подальшому рутинному використанні методики (OOS, кваліфікація персоналу, безперервний моніторинг якості, ін.).

Важливо: (2) на варіювання результатів визначення «ступеню розчинення» впливають водночас і технологічні фактори (середнє вивільнення для серії, варіювання між одиницями дозованого засобу – за рахунок як закладки, так і старіння), і аналітичні (сама методика + прибор для розчинення).

Тому раціонально продовжувати розглядати проблему відповідності рівню калібрувальної лабораторії саме зі *зведення бюджету* для тесту *Розчинення*.

Ці завдання можуть бути ефективно вирішені, якщо починати за найпростішого випадку – практична відсутність варіювання за рахунок неоднорідності таблеткової маси, 100% вивільнення, стабільність – як аналізу, так і показника вивільнення.

Мета роботи:

-запропонувати підхід до забезпечення належної якості результатів аналізу для завдань контролю якості лікарських засобів (КЯ ЛЗ) на різних етапах життєвого циклу методики аналізу (ЖЦ), враховуючи різні рівні вимог.

Для досягнення цієї мети потрібно вирішити наступні завдання:

- визначити завдання КЯ ЛЗ, які відносяться до рівня калібрувальної лабораторії, на різних етапах ЖЦ;
- запропонувати критерії, які б обумовлювали належну «роздільну здатність» результатів, для того щоб використовувати їх для завдань калібрувальної лабораторії;
- провести апробацію запропонованого підходу для конкретного завдання КЯ ЛЗ, яке відноситься до рівня калібрувальної лабораторії – запропоновано:
 - на етапі *фармацевтичної розробки*
 - вивчення *бюджету варіювання*
 - для тесту *розчинення*.

Обраний об'єкт аналізу

(1)таблетки метформіну, дозування 500 мг.

Було експериментально підтверджено, що таблетки метформіну відповідають встановленим вимогам.

(2)таблетки моксифлоксацину 500 мг.

Таблетки ципрофлоксацину теоретично відповідають встановленим вимогам.

Результати та їх обговорення

Аналіз завдань, які потрібно відносити до рівня калібрувальної лабораторії, та ступень вирішення проблеми для цих завдань:

Розробка методики аналізу: **вирішено**

Валідація методики аналізу: **вирішено**

Фармацевтична розробка:

- зведення бюджету варіювання для тесту Кількісне визначення (КВ) – **вирішено**

Петрус В.В., Леонтьев Д.А., Воловик Н.В., Гризодуб А.И. Применение дисперсионного и регрессионного анализа при прогнозе технологического варьирования для таблеток дипиридамола// Фармаком. – 2020. – No ½, с. 24-36

- зведення бюджету варіювання для тесту Розчинення – **не вирішено**

- оцінка результатів стабільності - **не вирішено**

Трансфер аналітичної методики:

- тест Кількісне визначення – **вирішено**

- тест Розчинення – **не вирішено**

Подальше рутинне використання методики:

- атестація вторинних стандартних зразків - **вирішено**

- розслідування результатів OOS - **не вирішено**

- аналіз тенденцій, безперервна верифікація методики, кваліфікація персоналу - **не вирішено**

Важно: застосування «калібрувального» рівня дуже важливо в рутинному аналізі!

Запропонований підхід для досягнення «роздільної здатності»



- застосовують спеціальні вимоги до прогнозованого значення максимально припустимої невизначеності результату аналізу (U_{prog}^{tg});
- використовують спеціальні підходи до контролю фактичної невизначеності результатів.

Вимоги до U_{prog}^{tg} – дворівневий підхід

Петрус В.В. Організація трансферу аналітичної методики на фармацевтичному підприємстві. – Дис-дра філософії 226 – фармація, промислова фармація. – Харків, 2020. – 205 с. <https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2021/03/disertacija-petrus-v.v..pdf>

- **Мінімальні вимоги** $U_{prog}^{tg} \leq (1 - 0.32) \times U^{tg}$; де U^{tg} (або $\max \Delta_{assay}$) – максимально припустима невизначеність результатів (для тестів Розчинення і Однорідність дозованих одиниць $U^{tg} = 3.0\%$).

Такі вимоги забезпечують, що U_{prog}^{tg} **значуще відрізняється** від U^{tg} , тобто досягнуто мінімальне покращення метрологічних показників (менше зменшення невизначеності не має сенсу)

- **Максимальні вимоги** $U_{prog}^{tg} \leq 0.32 \times U^{tg}$.

Такі вимоги забезпечують, що U_{prog}^{tg} **стає значущою по відношенню до U^{tg}** , тобто досягнуто максимальне з точки зору практичної значущості покращення метрологічних показників (більше зменшення невизначеності не має сенсу).

Спеціальний контроль фактичної невизначеності результатів - QbD



Підхід **Якість, вбудована в розробку** (Quality by design) «... сфокусований на *розумінні* чинників варіювання, їх *контролю* і (як наслідок) *послабленні їх впливу*».

Такий контроль за чинниками варіювання було реалізовано для КВ: Volovyk, N., Leontiev, D., Petrus, V., Gryzodub, O., & Pidpruzhnykov, Y. (2020). [Development of an advanced strategy on the assay method transfer. ScienceRise: Pharmaceutical Science, 6 \(28\), 56-67. doi:http://dx.doi.org/10.15587/2519-4852.2020.221721](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2020.221721)

Початок роботи зі зведенням бюджету варіювання для тесту Розчинення – що було «на вході»:

- для всіх методик U^{t_g} було *менше* ніж U^{t_g} _{prog} ;
- всі методики контролю були валідовані у відповідності з ДФУ

Аналіз одержаних раніше результатів в лабораторії розробки (без контролю для рівня калібрувальної лабораторії) показав, що вони *неінформативні для завдань зведення бюджету*.

Така ж сама проблема є і у провідних фармацевтичних компаній – див. наприклад публікації: [Görög, S. \(2005\). The sacred cow: the questionable role of assay methods in characterising the quality of bulk pharmaceuticals. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 36 \(5\), 931–937.](#)

[Elder, D. \(2014\). Are HPLC-UV Methods Fit for Purpose as True Arbiters of Quality for APIs?](#)

[Use of a Quality-by-Design approach to justify removal of the HPLC weight % assay from routine API stability testing protocols June 2009 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 50\(5\):794-6](#)

Принципова позиція:

- (1) Чи є необхідний рівень для «калібрувальних завдань» **ДОСЯЖНИМ** для лабораторії КЯ ЛЗ, яка мінімально відповідає фармакопейним вимогам?

Відповідь: **ТАК**

- (2) Чи може лабораторія розраховувати, що вона має такий рівень – без того, щоб поставити за ціль його досягти?

Відповідь: **НІ**

ВИСНОВОК:

- (1) Потрібно розробляти спеціальну програму, націлену на досягнення необхідного значення фактичної невизначеності результатів, яку ефективно контролює лабораторія;
- (2) Для того, щоб така програма результативно працювала, потрібно, щоб вона була відображена в Державній Фармакопеї України

Зведення бюджету варіювання для тесту Розчинення - результати Крок 1 - оптимізація методик

Важливо: для тестів ОДО та Розчинення надзвичайно ефективним заходом є *зважування індивідуальних таблеток перед аналізом*.

Співвідношення користь/затрати для цього прийому є настільки високими, що можна рекомендувати використовувати зважування при кожному аналізі!

Чинник варіювання – *завищена невизначеність від роботи з мірним посудом*.

Найбільш критична операція – використання аліквот (робота з піпетками) і колб невеликих об'ємів.

Спосіб оптимізації:

- (1) В методиках аналізу рекомендовано використовувати аліквоту не менше 2.0 мл.
- (2) Рекомендовано застосовувати для завдань калібрувального рівня ваговий метод (аліквоти).
- (3) Мінімальні об'єми мірних колб, для яких використовується об'ємний метод, збільшені до 200 мл.

Результат:

1. *Розроблені оптимізовані методики* з підвищеною надійністю – КВ, ОДО, Розчинення.
2. Методики мають *два рівня виконання* – для завдань **КЯ** та «**калібрувальних**», відмінності:
 - аліквоту 2 мл беруть ваговим способом замість об'ємного;
 - індивідуальні таблетки зважують перед аналізом.

Крок 2 - контроль результатів

Вивчення можливості використання аліквот в «випробувальних» завданнях. Тест Розчинення/ОДО, аліквоту 2.0 мл (ваговим методом) порівнювали з номінальною місткістю.

- Виявлені серії аналізів (6 таблеток), для яких **всі аліквоти** були взяті з недотриманням НАП!
- частота перевищення відхилення - 54% (аналіз 30 індивідуальних таблеток)
- найбільше відхилення – в 3 рази!

Корегуючі дії - було проведене:

- (1) навчання персоналу (лекція)
- (2) експериментальний контроль виконання вимог НАП після лекції
- (3) експериментальний контроль з наглядом за витримуванням всіх вимог роботи з піпеткою.

Результати (8 аналітиків, та ж сама піпетка, 10 вимірювань) Аналітик	1	2	3	4	5	6	7	8	Частота %
Відхилення > НАП від 2.0 мл	0	1	5	1	0	3	0	9	24
Відхилення > НАП від середнього вмісту	0	0	0	0	0	1	0	2	4
Після нагляду								0	0

Висновки: (1) Навчання *дуже ефективно* знизило кількість невідповідних результатів.

(2) Для коректного оцінювання роботи аналітика *критично використовувати фактичну місткість* піпетки, а не номінальну – **для кваліфікації персоналу потрібні калібровані піпетки.**

(3) дуже бажано *розробити стандартизовану процедуру кваліфікації персоналу* (піпетки з однією рискою, мірні колби), *які на теперішній час відсутні в ДФУ.*

Крок 2 - контроль результатів - розчин порівняння



Чинник варіювання – завищена невизначеність від роботи з мірними колбами + зважування.

Для сучасних спектрофотометрів питомий показник поглинання є стабільним на рівні $\pm 0.5\%$ (!!!)

(APPLICABILITY OF SPECIFIC ABSORBANCE TO ASSAYS OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES AND FINISHED PRODUCTS Leontiev D. A., Petrus V. V., Asmolov V. E., Volovyk N. V., Gryzodub O. I.

<https://www.researchgate.net/publication/354850363> APPLICABILITY OF SPECIFIC ABSORBANCE TO ASSAYS OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES AND FINISHED PRODUCTS)

Для **розчину порівняння** відхилення від «номінальної» концентрації (помилки взяття наважки + розведення) можна ефективно контролювати **по питомому показнику** (A^1). 1

Вхідні результати до застосування контролю чинників варіювання: максимальна розбіжність в A^1 в різних серіях аналізів досягала **6%** (!!!)

Корегуючі дії: Введено спеціальний контроль за збіжністю A^1 в межах серії аналізу (як тимчасова міра) – як і при атестації РСЗ, **готують 2 незалежних розчина порівняння**, розбіжність в A^1 не повинна перевищувати (1) прогнозовану невизначеність або (2) 0.5% (що є більше). 1

Результати:

(1) Для 6 серій аналізів, виконаних в лабораторіях розробки та КЯ, середня розбіжність = **0.31%** (!!!)

(2) Середнє значення A^1_1 для кількісного визначення метформіну склало 79.81 – відхилення від A^1_{12}

для методики БФ - **0.013%** (!!!)

Подальші дії: використовувати одержане значення A^1 для контролю **всіх аналізів на підприємстві**.

Крок 2 - контроль результатів - випробовуваний розчин



Зважування індивідуальних таблеток як потужний інструмент контролю якості результатів

Зважування індивідуальних таблеток при виконанні тестів ОДО та Розчинення необхідно для любых завдань «калібрувального» рівня!

Можна рекомендувати зважувати індивідуальні таблетки так ж для завдання «випробувального» рівня, або включати цей прийом із заданою регулярністю – наприклад, 1/20 рутинних аналізів.

Одержані результати:

На етапі фармрозробки були спеціально проаналізовані таблетки - *ОДО прямим методом* (замість розрахункового, який засто совується в документації) зі *зважуванням індивідуальної таблетки*. Розраховували RSD для *результатів ОДО (X)* і для *відношення вміст/маса таблетки (X/m)*.

Результати, одержані перед засто суванням контролю чинників варіювання:

	RSD							RSD _{pooled}	RSD _m
X	1,68	1,30	0,97	1,40	1,11	1,96	1,56	1,46	0,67
X/m	1,77	1,46	0,75	1,27	1,01	1,77	1,65	1,43	n=120

Оскільки в масі таблетки вміст діючої речовини $\gg 75\%$, очікується, що для «безпроблемної» технології таблеткова маса повинна бути однорідною (*Фармаком. – 2003. – № 3. – С. 5-19*).

Як результат, варіювання вмісту діючої речовини будуть обумовлені варіюванням ваги таблетки.

Врахування маси таблетки не призводить до зменшення RSD. Результати не інформативні.

Крок 2 - контроль результатів - випробовуваний розчин

Результати, одержані після застосування *контролюякості результатів*:

- SD для вмісту АФІ в одиниці ГЛС становило 1.76%, SD з урахуванням ваги індивідуальної таблетки становило 0.42% (тобто в 4 рази менше).

Важливо, що :

- 1) SD для *ваги таблеток* та для *вмісту АФІ* у таблетці (без перерахунку на індивідуальну вагу таблетки) практично збігаються (1.71% та 1.76%). Тобто. вплив невизначеності методики аналізу практично відсутній.
- 2) експериментальні результати підтверджують, що таблеткова маса однорідна, що збігається з *розумінням фізичної моделі*.

Кінцева оцінка якості одержаних результатів

Оцінка невизначеності результатів.

Прогнозоване значення	Оцінка з фактичних результатів
Тест ОДО: 0.54 % (фактично на рівні незначущості)	RSD (30 одиниць)×t = 0.61×1.6973 = 1.04
Тест Розчинення: 0.50 (незначуще)	Вивільнення 45 хв: RSD (30 одиниць)×t = 0.95×1.6973 = 1.62 Вивільнення 60 хв: RSD (30 одиниць)×t = 0.98×1.6973 = 1.66

Середній результат:

Відхилення від атестованого значення для точки 45 мін: **0.17%**

Відхилення від атестованого значення для точки 60 мін: **0.05%**

Висновок:

- результати не під контролем для рівня калібрувальної лабораторії

- результати прийнятні для рівня випробувальної лабораторії.

Середні результати: Ми одержали чудову збіжність!

Індивідуальні результати: невизначеність не під контролем

Висновки

- (1) на рівні прогнозованої невизначеності *не вдалося контролювати результати аналізу.*
- (2) для великого обсягу результатів, які реально одержані в лабораторій підприємства, вдалося досягти невизначеність яка відповідає рівню випробувальної лабораторії.
- (3) треба розслідувати результати аналізів.

Що потрібно робити:

- необхідно впровадити в практику контроль за відомими чинниками варіювання – взяття наважки та обімне розведення.



ДЕРЖАВНА ФАРМАКОПЕЯ УКРАЇНИ –
ЄВРОПЕЙСЬКА ЯКІСТЬ ВІТЧИЗНЯНИХ
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ



ДЯКУЮ ЗА УВАГУ!