

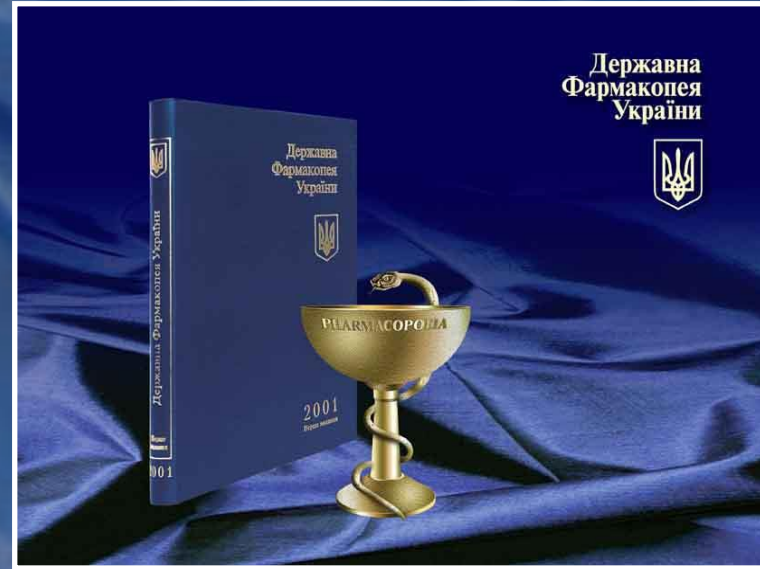
Перетворення валідації аналітичних методик в стандартизовану рутинну операцію

Олександр Гризодуб

ДП «Український науковий фармакопейний
центр якості лікарських засобів»

керівник наукового напрямку «Валідація,
статистичні методи»

доктор хімічних наук, професор



Навіщо потрібна валідація?

Мета валідації аналітичної методики полягає в демонстрації того, що вона придатна для свого передбачуваного застосування (ДФУ, 5.3.N.2. «Валідація аналітичних методик і випробувань»).

Принципи і основні вимоги до валідації були розроблені ІСН і введені до всіх провідних Фармакопей, у тому числі, до Європейської Фармакопеї (ЄФ) і, відповідно, до ДФУ.

В процесі валідації отримують валідаційні характеристики, на підставі яких роблять позитивний або негативний висновок щодо валідації методики.

Всі методики, які вносяться до специфікації або монографії Фармакопеї, мають бути валідовані. Якщо методика не валідована, то результати аналізу за нею не можна вважати достовірними.



Валідаційні характеристики

ІСН/ЄФ-ДФУ встановлює такі основні валідаційні метрологічні характеристики, які необхідно отримати в процесі проведення валідації:

- діапазон застосування (регламентується ІСН/ЄФ),
- специфічність,
- прецизійність,
- правильність,
- межа виявлення,
- межа кількісного визначення,
- лінійність.



Етапи валідації

Валідація включає такі 3 основні етапи:

1. Формулювання критеріїв прийнятності валідаційних характеристик.
2. Отримання валідаційних характеристик.
3. Порівнянні їх із критичними значеннями і висновок про придатність методики для передбачуваного застосування.

Як видно, валідація методики обов'язково передбачає формулювання і обґрунтування критеріїв прийнятності (що таке «добре» і що таке «погано»).

Без наявності науково обґрунтованих критеріїв прийнятності валідація принципово неможлива.



Недостатність вимог ІСН-ЄФ

ІСН-ЄФ наводить валідаційні характеристики, але не встановлює критеріїв їх прийнятності і принципів їх побудови. Ці критерії користувач має обґрунтовувати самостійно, виходячи із специфіки аналітичного завдання.

При цьому можуть пропонуватися різні критерії і підходи, які дають протилежні висновки з валідації. Зокрема, відповідно до одного підходу (виробника) методика вважається **валідованою**, а згідно з іншим (регулятор) – **ні**.

Відсутність офіційних критеріїв призводить до того, що **валідація методики перетворюється на наукову розробку**, яка вимагає високої кваліфікації, забирає багато часу і коштів. Приймаючи до уваги величезну кількість специфікацій виробників, а також необхідність розробки численних монографій ДФУ, **стандартизація процесу валідації вимагала термінового вирішення**.



Постановка задачі

Необхідно **перетворити валідацію на рутинну операцію**, що проводиться за стандартизованою процедурою, яка не вимагає високої кваліфікації, коштів і часу і дає однозначний висновок про валідацію.

Для цього необхідно було:

- створити теоретичну базу, яка б давала принципи формування науково обґрунтованих критеріїв прийнятності валідаційних характеристик;
- розрахувати ці критерії для всіх основних фармакопейних методів аналізу і випробувань;
- розробити стандартизовані процедури валідації (СПВ) для всіх основних методів аналізу і випробувань;
- продемонструвати ефективність застосування цих СПВ на конкретних методиках.



Теоретична база: основні поняття і підходи, що були розроблені і застосовані

1. Різниця між кількісним визначенням і контролем якості.
2. Поняття *Підтверджуючого* і *Доказового* підходів.
3. Нормалізовані координати.
4. Принцип незначущості.
5. Поняття статистичної і практичної незначущості.
6. Лінійна статистична модель для функції багатьох випадкових змінних.
7. Прогноз невизначеності методики аналізу на підставі не фактичних, а максимально допустимих невизначеностей.

Ці поняття і підходи були розроблені для СПВ, однак їх значення має загальноаналітичний характер і, разом з національною статтею 5.3.N.1. «*Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту*», є методичною базою всього метрологічного забезпечення якості результатів фармакопейних методів аналізу.



Сфера застосування розробленої теоретичної бази

- Стандартизовані процедури валідації (СПВ)
- Атестація стандартних зразків
- Кваліфікація обладнання для виконання фармакопейних методик
- Кваліфікація аналітичного посуду
- Кваліфікація аналітичного персоналу
- Атестація тестових зразків і оцінка результатів ППТ
- Метрологічне забезпечення якості результатів аналізу ЛЗ



Основні етапи стандартизації процесу валідації аналітичних методик

Стандартизація процесу валідації аналітичних методик була поділена на такі етапи:

1. Постановка аналітичної задачі.
2. Стандартизація процедури проведення валідації.
3. Стандартизація координат, що використовуються.
4. Стандартизація підходу до встановлення критеріїв прийнятності.
5. Вибір статистичної моделі
6. Обґрунтування, формулювання і стандартизація критеріїв прийнятності валідаційних характеристик.
7. Стандартизація наведення результатів валідації.
8. Прогноз повної невизначеності методики аналізу.



Приклади валідаційних критеріїв для різних напівширин допусків вмісту (B) і об'єктів ($g = 9$)

| $B\%$ | $max\Delta_{As}\%$ | $max\delta\%$ | $maxSD_{rest}$ | $min R_c$ | $max a \%$ |
|---|--------------------|---------------|----------------|-----------|------------|
| Субстанції: КВ , Діапазон 80-120%, $SD_{range} = 13.7\%$. | | | | | |
| 1.0 | 1.0 | 0.32 | 0.53 | 0.9993 | 1.6 |
| 2.0 | 2.0 | 0.64 | 1.06 | 0.9970 | 3.2 |
| ГЛЗ: КВ + Р + ОД , Діапазон 60-135%, $SD_{range} = 25.7\%$. | | | | | |
| 5 | 1.60 | 0.51 | 0.84 | 0.9995 | 2.4 |
| 7.3 | 2.34 | 0.75 | 1.23 | 0.9989 | 2.4 |
| 10 | 3.20 | 1.02 | 1.56 | 0.9981 | 2.4 |
| ГЛЗ: КВ , Діапазон 80-120%, $SD_{range} = 13.7\%$. | | | | | |
| 5 | 1.60 | 0.51 | 0.84 | 0.9981 | 2.6 |
| 10 | 3.20 | 1.02 | 1.69 | 0.9924 | 5.1 |



Приклад валідації за СПВ. Об'єкт – таблетки амброксолу г/х 30 мг (АГХ)

Процедури, що валідуються: *СФ Кількісне визначення, Розчинення і Однорідність дозування*

Допуски вмісту: $B = \pm 7.3\%$, Діапазон: 60-135%.

Лінійність $Y_i = b \times X_i + a$:

| Параметри | Результати | Вимоги | Висновок |
|-----------|------------|----------|------------|
| b | 0.9937 | - | - |
| s_b | 0.0087 | | |
| a | 0.78 | < 2.4 | Відповідає |
| s_a | 0.86 | | |
| RSD_o | 0.58 | < 1.23 | Відповідає |
| R_c | 0.9997 | > 0.9989 | Відповідає |

Межа кількісного визначення (факультативно):

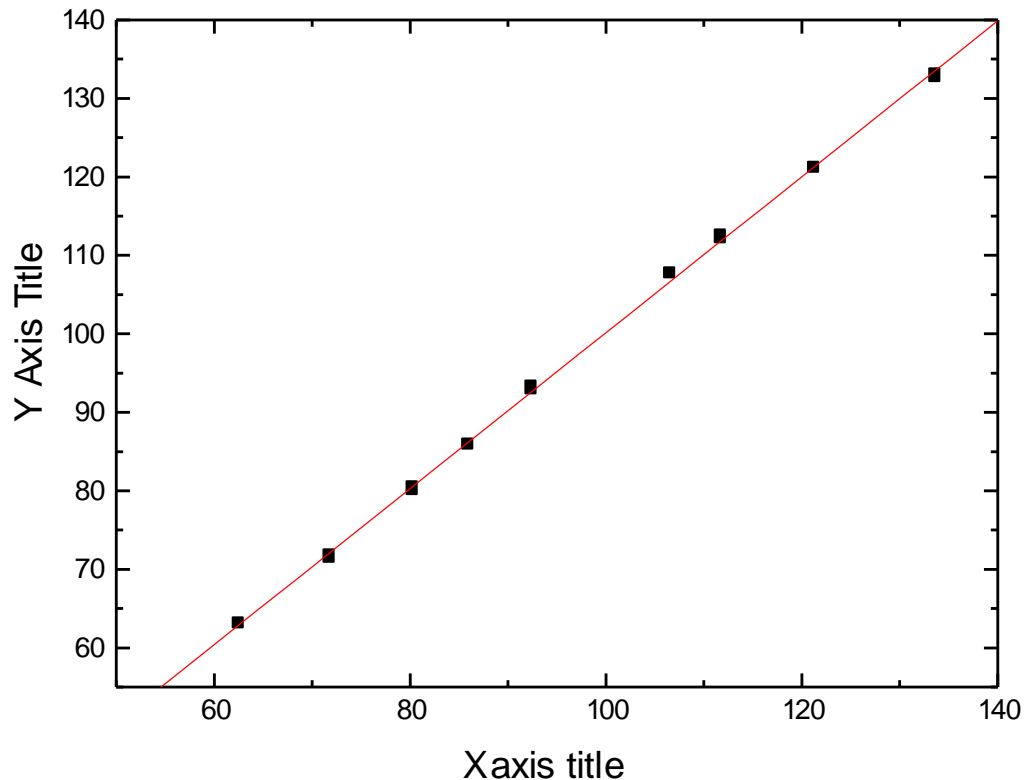
$MKB = 10 \times s_a = 8.6\% < 32\%$, **відповідає** вимогам.



Залежність оптичної густини від концентрації АГХ в нормалізованих координатах

$$Y_i = 0.9937 \times X_i + 0.78$$

Linear Regression Template



Прецизійність і правильність. Результати аналізу модельних сумішей (МС)

| МС | Маса АГХ, мг ($m_{st} = 29.7$) | X_i % | A $A_{st} = 0.732$ | Y_i % | Z_i % |
|---|-------------------------------------|---------|-------------------------|---------|---------------------------|
| 1 | 18.6 | 62.51 | 0.462 | 63.1 | 100.9 |
| | | | | | |
| 9 | 39.8 | 133.7 | 0.973 | 132.8 | 99.4 |
| Середнє = | | | | | 100.3 |
| $SD_Z =$ | | | | | 0.58 |
| $\Delta_{As} \leq 2.34$ | | | | | 1.07 Відповідає |
| $\delta =$ | | | | | 0.30 |
| <i>Незначущість систематичної похибки:</i> | | | | | |
| Статистична: $\delta \leq 1.07/3 = 0.36$ | | | | | Відповідає |
| Практична: $\delta \leq 0.73$ | | | | | Відповідає |
| Загальний висновок: | | | | | Відповідає |



Внутрішньолабораторна прецизійність

| № модельної суміші | Z_i , % | | |
|---|---------------------------|--------------|--------------|
| | 1 день | 2 день | 3 день |
| 1 | 99.42 | 99.66 | 99.96 |
| 2 | 99.57 | 99.76 | 98.87 |
| 3 | 97.23 | 96.99 | 99.09 |
| 4 | 97.53 | 97.63 | 98.61 |
| 5 | 99.53 | 99.12 | 98.53 |
| Середнє | 98.65 | 98.63 | 99.01 |
| Об'єднане середнє Z_{intra} | 98.77 | | |
| $SD_{Z-intra}$ | 0.98 | | |
| $\Delta_{intra} \leq 2.34$ | $1.76 \times 0.98 = 1.72$ | | |

Висновок: Внутрішньолабораторна прецизійність **відповідає**
ВИМОГАМ



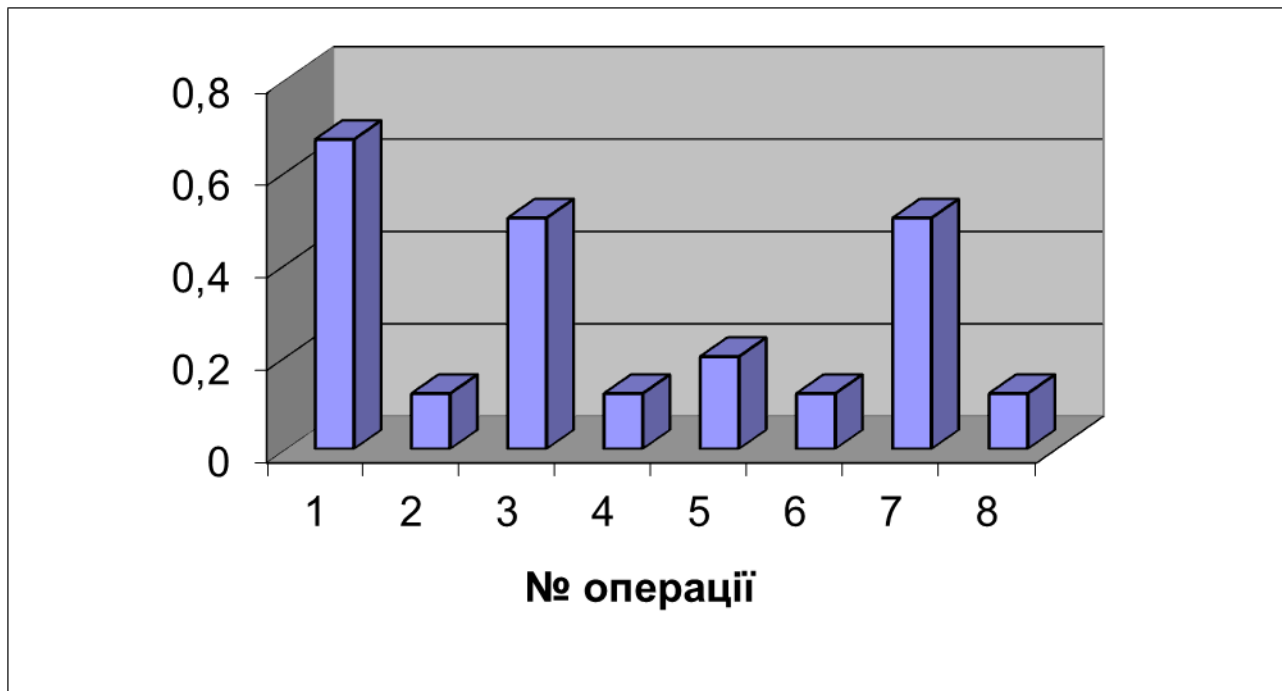
Стабільність розчинів

| Час, хвилини | Оптична густина | | Y, % |
|---|------------------------|----------------------|--------------|
| | Випробуваний розчин | Розчин порівняння | |
| 0 | 0.7522 | 0.7560 | 99.50 |
| 15 | 0.7527 | 0.7567 | 99.46 |
| 30 | 0.7539 | 0.7595 | 99.26 |
| 45 | 0.7549 | 0.7592 | 99.44 |
| 60 | 0.7567 | 0.7618 | 99.33 |
| Середнє | 0.7541 | 0.7586 | 99.40 |
| RSD% | 0.24 | 0.31 | 0.10 |
| $\Delta\gamma$ % \leq 0.73 | | | 0.22 |

Висновок: Стабільність розчинів **відповідає** вимогам



Діаграма розподілу невизначеності пробопідготовки по операціям



Як видно, найбільший внесок в загальну невизначеність методики аналізу вносять операції зважування стандарту АГХ (операція 1) і взяття аліквот малого об'єму (10 мл) (операції 3, 7). Такий розподіл невизначеності пробопідготовки є типовим для всіх методик аналізу.

Для яких методик розроблені СПВ?

1. Кількісне визначення (КВ) методом стандарту (МС) для СФ, ГХ і ВЕРХ.
2. Методики КВ для тестів «Розчинення» і «Однорідність дозованих одиниць».
3. Методики КВ для вивчення профілів розчинення при дослідженні біоеквівалентності “*in vitro*”.
4. КВ методом титрування.
5. КВ ААС в варіантах МС і калібрувального графіку (КГ).
6. КВ сумарних біопрепаратів в варіантах МС і КГ.
7. КВ СФ в варіанті методу показника поглинання.
8. Контроль супутніх домішок ГХ и ВЕРХ в варіанті МС.
9. Контроль залишкових розчинників ГХ методом добавок.
10. Контроль залишкових домішок в промивних водах при очистці обладнання.



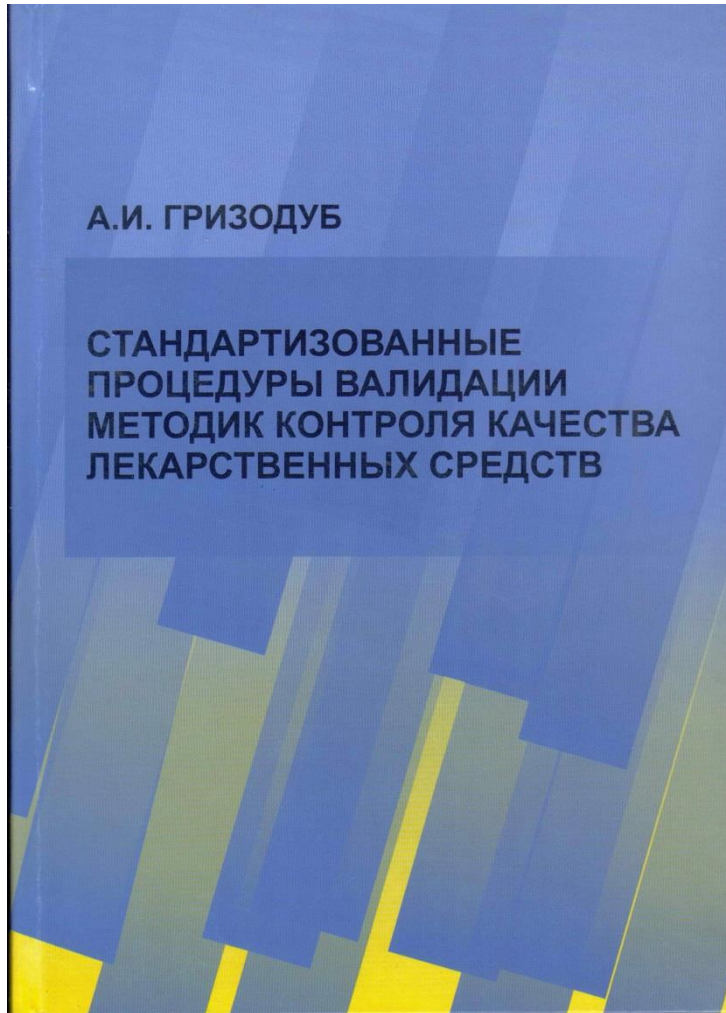
Перетворення валідації на рутинну операцію

За результатами проведених досліджень і численних наукових статей була розроблена і включена до ДФУ 2.4 національна стаття 5.3.N.2. *«Валідація аналітичних методик і випробувань»*, яка включає главу С. *«Рекомендації Державної Фармакопеї України: стандартизовані процедури валідації кількісних методик контролю якості лікарських засобів»* (СПВ).

Стаття 5.3.N.2. не має аналогів серед інших Фармакопей. Вона викладена на 114 стор., складається з 8 теоретичних розділів, 8 прикладів їх практичного застосування і охоплює практично всі фармакопейні методи аналізу. Це значно полегшує користувачам розробку і валідацію аналітичних методик і **перетворює валідацію на рутинну процедуру.**



Теоретична база (англомовний переклад у вільному доступі на сайті ФЦ)



STANDARDIZED VALIDATION SCHEMES FOR DRUG QUALITY CONTROL PROCEDURES

Oleksandr Gryzodub

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Translated from Russian

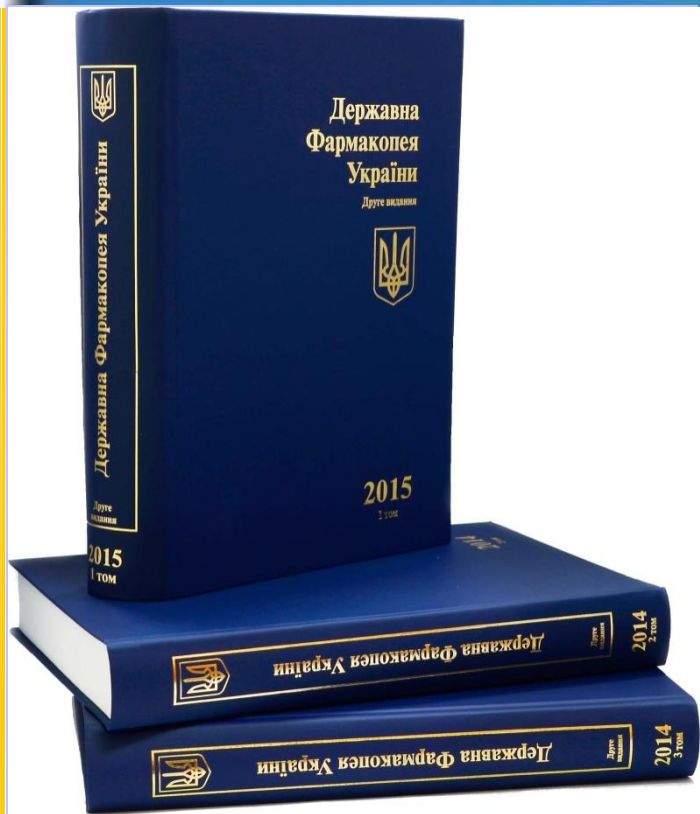
Gryzodub O.I. Standardized validation schemes for drug quality control procedures / Oleksandr Ivanovich Gryzodub. — Kharkiv: State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», 2016. — 396 p. ISBN 978-966-97390-1-8

© State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», 2016



Ось такою заплутаною була
валідація до стандартизованих
процедур ДФУ





Дякую за увагу!

