

# Застосування принципів AQbD для забезпечення надійності результатів тесту розчинення

**Доповідач:** Асмолів Віталій Євгенійович

ТОВ «Фармекс Груп» начальник аналітичної лабораторії центру фармацевтичних розробок.

**Співавтори:** ДП «Фармакопейний центр».

доктор фармацевтичних наук Леонтєв Д.А.,

доктор хімічних наук Гризодуб О.І.,

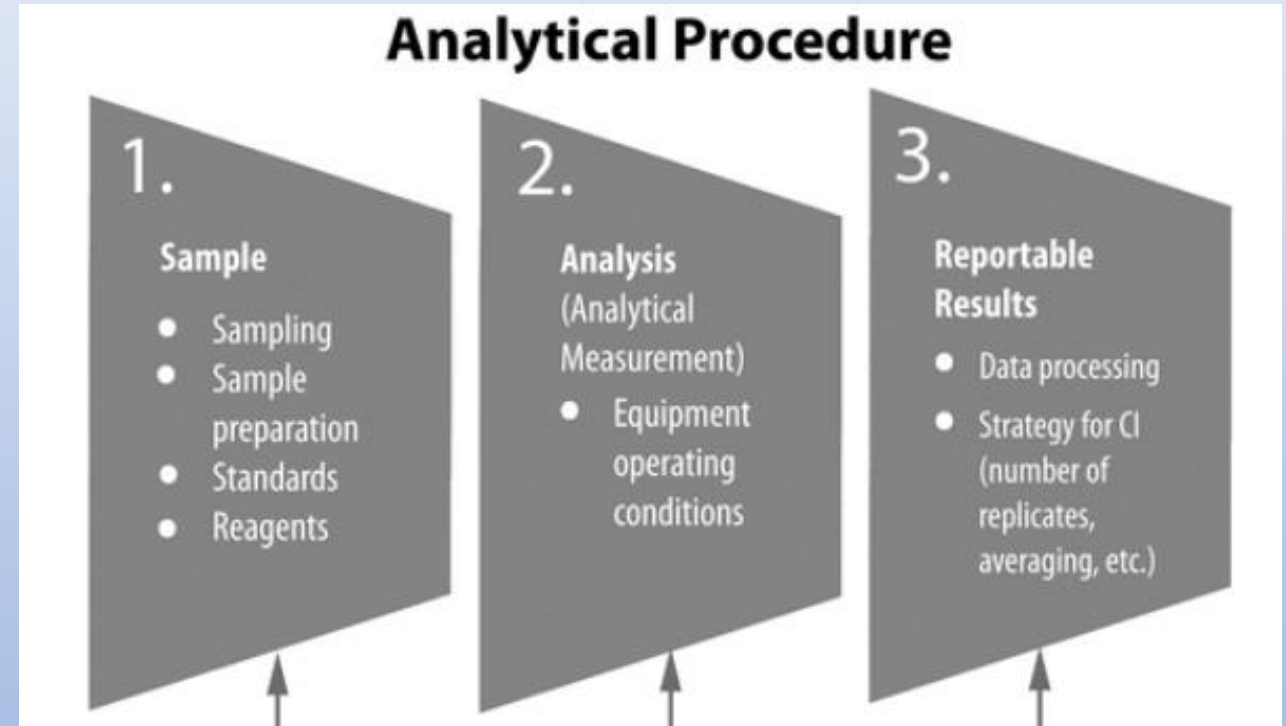
кандидат фармацевтичних наук Воловик Н.В.



# Центральна ідея AQbD – забезпечення якості результатів шляхом ідентифікації джерел варіювання та взяття їх під контроль

Джерела варіювання:

- **Пробопідготовка**  
(невизначеність вагів, мірного посуду, роботи хіміка);
- **Вимірювання** (дрейф/шум спектрофотометру; стабільність розчинів);
- **Обробка результатів**  
(усереднення результатів вимірювань, врахування маси таблетки, середній вміст по серії)



USP <1220> Life cycle

# Бюджет варіювання – ефективний інструмент контролю джерел варіювання для результату аналізу

**Бюджет варіювання для об'єкта аналізу складається з наступних кроків:**

1. Встановити приписане значення вмісту ( $X_{Att}$ ) для об'єкту аналізу незалежним (від тестованої методики аналізу) способом;

2. Оцінити невизначеність для джерел варіювання результату аналізу ( $\Delta_i$ );

3. Оцінити сумарне варіювання ( $\Delta_\Sigma$ )

4. Перевірити виконання бюджету для експериментально отриманого результату аналізу ( $X$ ):

$$|X_{Att} - X| \leq \Delta_\Sigma$$

Застосування даного підходу дозволяє контролювати не тільки прецизійність результатів аналізу, а й правильність.

# Ціль бюджету варіювання

Даний підхід був успішно застосований раніше для випробування кількісного визначення

Мета застосування бюджету варіювання: трансфер методики кількісного визначення з лабораторії, яка проводила розробку та валідацію методики, до лабораторії контролю якості

Об'єкт аналізу: таблетки дезлоратадину, спеціально охарактеризована для трансферу серія таблеток

Джерела варіювання: методика аналізу (варіювання результату) та технологія (варіювання вмісту між таблетками)

Бюджет варіювання: для результату кількісного визначення приймаючої лабораторії були розроблені критерії правильності і прецизійності виходячи зі знань про джерела варіювання.

Volovyk, N., Leontiev, D., Petrus, V., Gryzodub, O., & Pidpruzhnykov, Y. (2020). [Development of an advanced strategy on the assay method transfer](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2020.221721). *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 6 (28), 56-67. doi:<http://dx.doi.org/10.15587/2519-4852.2020.221721>»

# Зведення бюджету варіювання. Випробування «Розчинення»

## Порівняльний аналіз джерел варіювання для тестів «Кількісне визначення» та «Розчинення»

Стадія	Кількісне визначення	Розчинення
Пробопідготовка	Взяття наважки, відбір аліквоти, доведення до об'єму в мірній колбі	Взяття наважки, відбір аліквоти, доведення до об'єму в мірній колбі, <b>неоднорідність ступеня вивільнення, обумовлена приладом для розчинення</b>
Вимірювання	Спектрофотометр, стабільність розчинів	Спектрофотометр, стабільність розчинів
Обробка результату	маса таблетки, неоднорідність таблетованої маси	маса таблетки, неоднорідність таблетованої маси <b>неоднорідність ступеня вивільнення, обумовлена технологією</b>

Випробування «Розчинення» має власну специфіку – у цьому випробуванні виникають специфічні джерела варіювання. Вони зумовлені тим, що:

- 1) з'являється новий параметр, який контролюється тестом "Розчинення" - ступінь вивільнення з одиниці ГЛЗ.
- 2) з'являється додаткове обладнання – не пов'язане безпосередньо з вимірюваннями, але безпосередньо впливає на результат – прилад для розчинення

# Зведення бюджету варіювання. Прилад для розчинення

## Деякі джерела варіювання ступеня вивільнення для тестера розчинення

	Стандартизовані (USP)	Нестандартизовані
Вертикальність валу	$90^0 \pm 0,5^0$	<i>Відомі:</i>
Коливання валу (биття)	$\leq 1,0$ мм	- Положення таблетки відносно центру сосуда [1];
Коливання кошику (биття)	$\leq 1,0$ мм на рівне дна корзини	- Інші
Центрування сосуду	$\leq 2,0$ мм	<i>невідомі: ???</i>
Вертикальність сосуду	$90^0 \pm 0,5^0$	
Висота кошику/лопаті над дном сосуду	$25 \pm 2$ мм	
Швидкість обертання	$\pm 1$ об/мин	
Температура	$37 \pm 0,5$ °C	
Подряпані сосуди	Не допускається	

Для випадків, коли ступінь вивільнення суттєво менший за 100%, безліч додаткових факторів варіювання може критично впливати на результати.

Дослідження, чи всі значні джерела варіювання, пов'язані з приладом для розчинення, раніше не проводилися.

Тому надійний контроль за ступенем вивільнення неможливий, якщо попередньо не забезпечений контроль за факторами варіювання, не пов'язаними з вивільненням.

# Рекомендації щодо ступеня вивільнення USP <1092> THE DISSOLUTION PROCEDURE: DEVELOPMENT AND VALIDATION

USP фактично рекомендує зводити бюджет варіювання для тесту Розчинення під час його розробки:

«При розробці тесту Розчинення необхідно дослідити джерела варіювання, та спробувати зменшити варіювання (результатів), якщо це можливо. Визначення вивільненої кількості (аналіту) після інтенсивного перемішування та/або тривалого часу, також зване «нескінченною точкою» (infinity point) може бути корисним при розробці тесту розчинення ...

... Хоча вимоги досягнення 100% вивільнення відсутня для вивчення профілів розчинення, результат вивільнення в точці нескінченності можна порівняти з результатами випробування однорідності дозування, і отримати важливі результати ... про систематичні помилки методики.»

Однак в USP відсутні метрологічні критерії прийнятності впливу джерел варіювання.

## Зведення бюджету варіювання

Зведення бюджету може бути використане для вирішення важливих завдань забезпечення якості ЛЗ :

- **етап фармрозробки:** науково-обґрунтоване підтвердження контролю за джерелами варіювання для даного об'єкта аналізу;
- **етап трансферу методики до ВКЯ:** протокол передачі методики, що дозволяє оцінити джерела варіювання приймаючої лабораторії;
- **етап наступного рутинного аналізу:** моніторинг ефективності контролю джерел невизначеності у ВКЯ (використання серії препарату з підтвердженим бюджетом варіювання як тестовий зразок для контролю якості результатів аналізу);



## Ціль роботи

Метою нашої роботи є зведення бюджету варіювання для тесту розчинення для об'єкту аналізу (таблетки) зі 100% вивільненням та незначним технологічним варіюванням, застосовуючи для розробки критеріїв та дизайну експерименту метрологічну концепціюДФУ.

**Для досягнення мети необхідно було вирішити такі завдання:**

- підібрати оптимальний об'єкт аналізу (стабільні розчини, однорідна таблеткова маса, 100% вивільнення);
- оптимізувати методики аналізу під завдання зведення бюджету варіювання;
- Забезпечити отримання надійних результатів;
- перевірити виконання бюджету обраного об'єкта.

# Результати

## Критерії та дизайн експерименту для зведення бюджету варіювання.

### Дизайн експерименту.

Для зведення бюджету варіювання у розрахунках використовують масу індивідуальної таблетки.

1) За результатами тесту ОДО:

- Підтверджують однорідність таблетованої маси;
- встановлюють середній вміст АФІ у серії, у перерахунку на мг таблеткової маси.

2) Оцінюють вивільнення АФІ у тесті розчинення, у перерахунку на мг таблеткової маси для ваги індивідуальної таблетки;

3) Оцінюють бюджет варіювання: кількість АФІ, що вивільнилося, в тесті Розчинення повинно співпадати із середнім вмістом АФІ в серії в межах прогнозованої невизначеності.

## Критерії для зведення бюджету:

- Максимально допустима невизначеність  $U^{tg} = 3,0 \%$  (для індивідуальної одиниці ГЛЗ, для випробувань Розчинення та ОДО).
- Прогнозована невизначеність для тестів ОДО та Розчинення має бути незначуща:

$$U_{UDU}^{Progn} \leq 0,32 \times 3,0 = 0,96\%;$$

$$U_{Dissol}^{Progn} \leq 0,32 \times 3,0 = 0,96\%;$$

Для зведення бюджету варіювання використовують двоохрiвневий критерій:

$$|\bar{X}_{UDU} - \bar{X}_{Dissol}| \leq U_{Comb}$$

$$U_{comb} \geq 0,5 \%$$

де  $U_{comb}$  – об'єднана прогнозована невизначеність для прогнозованих джерел варіювання тестів Розчинення та ОДО;

0,5% - граничне значення невизначеності, нижче якого оцінка невизначеності у випробувальній лабораторії є недостовірною.

## Вибір об'єкту аналізу

Об'єкт аналізу вибирали виходячи з того, що варіювання результатів, обумовлене специфічними джерелами варіювання, мають бути мінімальним. А саме:

1) Таблетована маса має бути однорідна. Варіювання між таблетками у вмісті діючої речовини має визначатися масою таблетки.

Як було показано в [2], така однорідність очікується для вмісту АФІ в таблетковій масі більше 75%.

2) Діюча речовина повинна повністю вивільнитися в умовах тесту Розчинення або його модифікації (збільшення часу / інтенсивності перемішування).

3) Аналізовані розчини повинні бути досить стабільними, щоб не вносити значну невизначеність при виконанні тривалої серії аналізів.

Цим умовам задовольняли таблетки метформіну дозуванням 500 мг.

Вміст АФІ у таблетці – 93 %;

Розчини стабільні протягом тривалого часу;

Вивільнення за попередніми результатами без модифікації тесту розчинення 100%.

[2] Аттестация промышленных таблеток в качестве тестовых образцов для профессионального тестирования лабораторий по контролю качества лекарственных средств: учет факторов неоднородности / А. И. Гризодуб, Н. Н. Архипова, Леонтьев Д. А. [и др.] // Фармаком. – 2003. – № 3. – С. 5-19.

# Оптимізація методик аналізу. Однорідність дозованих одиниць

		До оптимізації		Після оптимізації	
		невизначеність, %		невизначеність, %	
Розчин порівняння	Наважка	100 мг	0,2	200 мг	0,1
	Колба	100	0,12	200	0,1
	Аліквота	1 мл	0,98	2 мл	0,61
	колба	100 мл	0,12	200 мл	0,1
невизначеність розчину порівняння			<b>1,00</b>		<b>0,63</b>
Випробуваний розчин	Колба	500 мл	0,07	500 мл	0,07
	Аліквота	1 мл	0,98	2 мл	0,61
	колба	100 мл	0,12	200 мл	0,1
	невизначеність для випробуваного розчину			<b>0,99</b>	
$\max \Delta_{FAO=}$	для одного розчину RSD=0.52		<b>0,50</b>		<b>0,50</b>
Сумарна невизначеність середнього для 10 таблеток:			<b>1,17</b>		<b>0,84</b>

Методики аналізу мають бути оптимізовані таким чином, щоб невизначеність не спотворювала оцінку бюджету варіювання.

-До оптимізації в результатах ОДО була відсутня залежність вмісту АФІ від маси таблетки (проблема з ВР);

-Результати аналізу сильно відрізнялися в межах однієї серії ЛЗ від контролю до контролю (проблема з РП);

ВИСНОВОК: необхідна оптимізація методик з метою підвищення надійності результатів

До оптимізації  $\Delta_{as} \leq 2/3$  від  $\max \Delta_{as}$ ;  
Після оптимізації  $\Delta_{as} \leq 1/3$  від  $\max \Delta_{as}$

# Оцінка бюджету варіювання

## Оцінка однорідності таблетованої маси та встановлення середнього вмісту АФІ у серії.

Була встановлена середня маса таблетки у серії (всього 80 таблеток). RSD для ваги таблеток становила 1.71%.

- Середній вміст АФІ у перерахунку на середню масу таблетки було встановлено за результатами тесту ОДО із 30 одиниць ГЛЗ (представницька вибірка) становила 490,03 мг. 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 відмітити, що:
  - 1) SD для маси таблеток та для вмісту АФІ в таблетці (без перерахунку на індивідуальну вагу таблетки) **практично співпадають** (1.71% и 1.76%). Тобто вплив невизначеності методики аналізу практично відсутні.
  - 2) Таблетована маса **практична однорідна**, тобто при перерахунку результатів ОДО на вагу таблетки варіювання зменшується в 4 рази (RSD 1.76% и 0.42%).
- **Висновок**: отримані результати можуть бути використані для зведення бюджету варіювання.

# Оптимізація методик аналізу. Розчинення

		До оптимізації		Після оптимізації	
			невизначеність, %		невизначеність, %
Розчин порівняння	Наважка	55 мг	0,36	110 мг	0,18
	Колба	100 мл	0,12	200 мл	0,1
	Аліквота	1 мл	0,98	2 мл зважують	0,61
	Колба	100 мл	0,12	200 мл	0,1
невизначеність розчину порівняння			<b>1,06</b>		<b>0,65</b>
Випробуваний розчин	900 мл	зважують	0,0033	зважують	0,0033
	Аліквота	1 мл	0,98	2 мл	0,61
	колба	100 мл	0,12	200 мл	0,1
невизначеність для випробуваного розчину			<b>0,99</b>		<b>0,62</b>
$\max \Delta_{FAO} =$	для одного розчину із RSD=0.52		<b>0,50</b>		<b>0,50</b>
Сумарна невизначеність середнього для 6 таблеток:			<b>1,25</b>		<b>0,88</b>

Аналогічно оптимізовано методику в тесті «Розчинення»:

Було оптимізовано операції пробопідготовки, пов'язані з найбільшими ризиками:

- наважка СЗ збільшена до 110 мг;
- для операції взяття аліквоти при розведенні (2 мл) передбачено ваговий метод;

- введено контроль за питомим показником поглинання для розчину порівняння

До оптимізації  $\Delta_{as} \leq 2/3$  від  $\max \Delta_{as}$ ;

Після оптимізації  $\Delta_{as} \leq 1/3$  від  $\max \Delta_{as}$

# Варіанти методик Розчинення:

- для рутинного аналізу

- для бюджету невизначеності

		Для зведення бюджету		Для рутинного аналізу	
			невизначеність, %		невизначеність, %
Розчин порівняння	Наважка	110 мг	0,18	110 мг	0,18
	Колба	200 мл	0,1	200 мл	0,1
	Аліквота	2 мл зважують	0,01	2 мл	0,61
	Колба	200 мл	0,1	200 мл	0,1
Невизначеність розчину порівняння			<b>0,23</b>		<b>0,65</b>
Випробуваний розчин	900 мл	зважують	0,0033	зважують	0,0033
	Аліквота	2 мл зважують	0,01	2 мл	0,61
	колба	200 мл	0,1	200 мл	0,1
Невизначеність для випробуваного розчину			<b>0,10</b>		<b>0,62</b>
max $\Delta_{\text{FAO}} =$	для одного розчину із RSD=0.52		<b>0,50</b>		<b>0,50</b>
Сумарна невизначеність середнього для 6 таблеток:			<b>0,58</b>		<b>0,88</b>

В результаті були розроблені два варіанти методик:

1. Для зведення бюджету критичні стадії контролюють ваговим методом:

- Взяття аліквоти 2 мл;

- Попереднє зважування таблеток перед проведенням аналізу.

Методика може використовуватися для тестування персонала та розслідування OOS.

2. Для рутинного аналізу все робиться звичайним об'ємним методом – відповідає на питання, відповідає чи не відповідає вимогам специфікації.



# Отримання результатів тесту Розчинення для бюджету

(з врахуванням маси таблеток та маси аліквот)

№ таблетки	Розчинення метформіну за 45 хвилин				Розчинення метформіну за 60 минут			
	Вміст метформіну в мг з врахуванням маси аліквоти	Вміст метформіну в мг з врахуванням маси таблетки	Вміст метформіну у відсотках	Вміст метформіну в мг в перерахунку на 1 мг таблетованої маси	Вміст метформіну в мг з врахуванням маси аліквоти	Вміст метформіну в мг з врахуванням маси таблетки	Вміст метформіну у відсотках	Вміст метформіну в мг в перерахунку на 1 мг таблетованої маси
1-6	499,03	491,35	101,56	0,8786	490,00	488,01	100,41	0,8686
7-12	493,18	489,45	100,76	0,8716	501,42	491,35	102,05	0,8828
13-18	488,16	490,36	99,56	0,8612	492,65	489,45	100,65	0,8707
19-24 тал	492,30	492,33	99,57	0,8651	488,53	490,36	99,63	0,8619
25-30					492,67	492,33	99,65	0,8658
Среднее	493,17	490,87	<b>100,47</b>	<b>0,8691</b>	493,05	490,30	<b>100,57</b>	<b>0,8699</b>
RSD	1,98	1,79	1,14	1,13	1,92	1,74	1,19	1,18

Виходячи із результатів ОДО для 30 таблеток вміст метформіну 490,03 мг, що відповідає 0,8679 мг на 1 мг таблетованої маси

**Різниця в результатах ОДО та Розчинення:**

для 45 хвилин  $(0,8691 - 0,8679) \times 100\% / 0,8679 = 0,14 \%$

для 60 хвилин  $(0,8699 - 0,8679) \times 100\% / 0,8679 = 0,24 \%$

# Висновки.

1. Вперше проведено контроль джерел варіювання для тесту Розчинення (100% вивільнення);
2. Вперше для цілей фармацевтичної розробки для тесту розчинення був застосований підхід вивчення джерел варіювання та оцінки їхнього вкладу в результат аналізу.
3. Розроблено стратегію контролю:
  - Контроль питомого показника поглинання розчину порівняння;
  - Контроль критичної операції пробопідготовки (взяття аліквоти ваговим методом);
  - Контроль результатів шляхом зважування індивідуальних таблеток для тестів ОДО та Розчинення.
4. Показано, що для даного об'єкта аналізу у тестах ОДО та Розчинення лабораторія коректно контролює джерела невизначеності.
5. Необхідна розробка тестів для кваліфікації персоналу, які відсутні у ДФУ – робота з мірними колбами та піпетками з однією міткою.
6. Результати роботи можуть бути використані надалі:
  - як стандартизована процедура фармрозробки для тесту Розчинення у випадках, коли можна забезпечити 100% вивільнення АФІ;
  - як основа для розробки процедури трансферу аналітичної методики для тесту Розчинення - для препаратів зі 100% вивільненням або для яких можна забезпечити 100% вивільнення модифікацією умов проведення тесту;
  - як основа для процедури безперервного моніторингу якості тесту розчинення в рутинному аналізі при серійному виробництві досліджених таблеток метформіну 500 мг;
  - як процедура для атестації тестових зразків для внутрішньо-лабораторного та міжлабораторного контролю якості результатів аналізу.

## Можливі подальші напрямки робіт

- Демонстрація можливості зведення бюджету варіювання є першим кроком для забезпечення якості результатів аналізу для препаратів, у яких вивільнення є суттєво нижчим за 100%.
- Для таких препаратів USP передбачає спеціальний тест для результатів визначення ступеня вивільнення (USP таблетки преднізону).
- Однак в даний час для ГЛЗ з не зі 100% вивільненням відсутній науковий обґрунтований підхід до (1) забезпечення робастності фармрозробки, (2) для трансферу аналітичної методики та (3) для безперервного моніторингу якості в подальшому рутинному аналізі, який би виходив з (1) оцінки ризику прийняття некоректного висновку про якість та (2) з ризику випуску продукції, яка з непринятно високою ймовірністю може бути забракована при повторному аналізі.
- Розробка такого підходу на основі метрологічної концепції ДФУ є нашим наступним завданням.

Дякуємо за увагу