

Рекламная статья / Sponsored article

Внешние стандартные образцы или относительные факторы отклика: вопросы количественного определения примесей в фармацевтических препаратах



Статья предоставлена компанией LGC STANDARDS

Точное и воспроизводимое количественное определение примесей в фармацевтических препаратах является важной частью разработки лекарств. Примеси должны быть доведены до уровня, который гарантирует, что качество продукта будет таким же хорошим или лучше, чем качество материалов, используемых в доклинических исследованиях безопасности и клинических испытаниях. Рекомендации Q3A и Q3B Международного Совета по Гармонизации (ICH) в отношении лекарственных веществ и фармацевтических препаратов обеспечивают нормативные ожидания в отношении исследования и контроля примесей, включая вещества, связанные с процессом, и продукты разложения. Пороговые значения для идентификации и оценки безопасности примесей могут основываться на относительных процентах или непосредственно в миллиграммах воздействия, в зависимости от природы лекарственных веществ и продуктов¹. Таким образом, точная оценка уровней примесей необходима как для руководства разработкой, так и в течение всего жизненного цикла препарата.

External Reference Standards or Relative Response Factors: Considerations for Quantitation of Impurities in Pharmaceuticals

The article is presented by the company LGC STANDARDS

Accurate and reproducible quantitation of impurities in pharmaceuticals is an important part of drug development. Impurities must be controlled to levels that will ensure the quality of the product is as good or better than the quality of materials used in preclinical safety studies and clinical trials. International Council for Harmonisation (ICH) Q3A and Q3B guidelines for drug substances and drug products, respectively, provide regulatory expectations for investigation and control of impurities including process-related substances and degradation products. Thresholds for identification and safety qualification of impurities can be based on relative percentages or directly in milligrams of exposure, depending on the nature of drug substances and products¹. Therefore, an accurate assessment of impurity levels is needed both to guide development efforts and during the entire lifecycle of the drug.

ВВЕДЕНИЕ

Определение примесей для большинства фармацевтических препаратов осуществляется с помощью метода ВЭЖХ с УФ-детектированием. Количественное определение может быть выполнено в сравнении с внешним стандартом самой примеси или путем сравнения с реакцией активного фармацевтического ингредиента (АФИ). Если отклик (площадь пика / концентрация) примеси отличается от отклика АФИ, то можно применить **относительный коэффициент отклика (ОКО)** для более точного определения процентного содержания примеси. Относительные коэффициенты отклика определяются в уравнении 1 и могут применяться независимо от того, используется ли метод нормализации диапазона (% от общей площади пика) или разбавленный раствор стандарта АФИ.

$$\text{ОКО} = \frac{(\text{отклик примесей} / \text{концентрация примесей})}{(\text{отклик АФИ} / \text{концентрация АФИ})} \quad (1)$$

Несколько факторов влияют на выбор количественного определения примесей с использованием стандартных образцов на примеси или АФИ с ОКО. В данной статье рассматриваются эти факторы и вопросы, которые необходимо учесть для осознанного выбора.

Эта статья не рассматривает в деталях количественное определение примесей в фармакопейных монографиях. Тем не менее, следует отметить, что Фармакопея США (USP) и Европейская Фармакопея (Ph. Eur.) используют различные условные обозначения для ОКО при расчете примесей. Понимание этих различий важно, чтобы избежать искажения результатов, т. е. в случае, когда информация о фармакопее используется в нефармакопейных целях. В Ph. Eur. монографиях поправочный коэффициент ПК (CF) применяется, когда отклики примеси и АФИ различны. ПК определяется как 1/ОКО и появляется в чис-

¹ ICH Q3A(R2), Q3B(R2).

лителе расчетов примесей как множитель. В обновленных монографиях USP OKO (RRF) обозначены как F и отображаются в знаменателе расчетов. В более старых монографиях используются другие обозначения, поэтому очень важно понять, как относительные факторы отклика или поправочные коэффициенты, используемые в конкретной ситуации, были определены и применяются.

ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА В СРАВНЕНИИ С АФИ

Общепризнанно, что использование эталона для данной примеси является наиболее точным и надежным средством количественного определения примесей. Тем не менее, существуют случаи, когда рекомендуется количественное определение примеси по сравнению с АФИ.

Стандарты примесей может быть трудно выделить или синтезировать в адекватных количествах, необходимых для повседневного использования. Стандарты должны быть адекватно охарактеризованы для подтверждения идентичности и оценки чистоты, и эта характеристика должна тщательно контролироваться для учета потенциальных изменений с течением времени. Доступность и стоимость стандартов улучшились в последние годы из-за появления коммерческих источников у специализированных производителей стандартных примесей. Некоторые из которых работают в соответствии с ISO 17034: 2016 (общие требования к компетенции производителей стандартных образцов) и аккредитованы, чтобы обеспечить максимально возможный уровень качества для повышения точности.

Изготовление внешних стандартных растворов примесей может быть более сложным и трудоемким для лабораторных операций. Этот процесс можно облегчить путем замораживания или охлаждения изготовленных стандартных образцов, в случае если гарантирована их стабильность в течение длительного срока.

Некоторые лекарства имеют сложные примесные профили со многими компонентами, что затрудняет характеристику всех примесей. В таких случаях приоритет при рассмотрении стандартных образцов следует отдавать индивидуально указанным примесям.

ЗНАЧЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА ОТКЛИКА

Использование ответа АФИ и OKO для точного количественного определения примесей требует точного значения OKO. Определение OKO достигается путем сравнения реакции примеси с реакцией АФИ для известных концентраций соединений в условиях аналитического метода ВЭЖХ. Эталонный стандарт АФИ часто используется для сравнения, поскольку

он был тщательно охарактеризован, ему присвоено значение для анализа, и для приготовления растворов примесей известной концентрации требуется образец примеси. Необходимо подтверждение идентичности примеси, а также знание общей чистоты образца, с помощью которого можно присвоить значение для анализа. OKO примеси часто рассчитывается как отношение наклонов графиков линейности для примеси и АФИ.

В фармакопейных монографиях¹ часто считается, что OKO (RRF) между 0,8 и 1,2 достаточно близки к 1,0, поэтому OKO можно не применять, то есть OKO принимается равным 1,0, но это не так. Более того, для работы с нефармакопейными методами этот подход принимается регуляторными органами только в том случае, если примесь фактически переоценена, то есть истинный OKO выше 1,0, но расчет выполняется с использованием OKO равным 1,0.

Как обсуждается ниже, OKO подвержены изменчивости в зависимости от спектров участвующих соединений и экспериментальных условий анализа, таких как специфические для прибора факторы. Когда методы передаются в лабораторию или внедряется фармакопейный метод, рекомендуется проверить указанные OKO, чтобы убедиться, что инструментальные различия не вызвали значительного расхождения.

ТОЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА ОТКЛИКА

Правильное количественное определение примесей с использованием OKO зависит от точности самого OKO. Для точного определения OKO необходима правильная оценка значения анализа пробы примесей. Как и в случае эталонных стандартов АФИ, назначение анализа для примесей только путем нормализации площади ВЭЖХ не является адекватным. При назначении анализа необходимо учитывать противоионы соли, влагу, неорганические примеси, остаточные растворители и т.д. Например, выделение примеси путем лиофилизации может оставлять высокие уровни воды. Могут также присутствовать трифторацетатные соли из препаративной ВЭЖХ-выделения или сольваты из синтезирующего кристаллизационного растворителя. Статья «Характеристика некомпендиальных примесных эталонных стандартов: насколько хорошо это достаточно хорошо?» описывает подходы к назначению данного анализа².

Переоценка анализа примесей приводит к недооценке OKO, что приводит к завышению количества

¹ USP общая статья 621, Ph. Eur.

² Обратите внимание и публикацию Mikromol «Характеристика некомпендиальных примесных эталонных стандартов: насколько хорошо это достаточно хорошо?». Available at: <https://www.lgcstandards.com/RU/ru/Resources/Mikromol-White-Papers>.

примеси, измеренной в образцах. Потенциальное влияние может состоять в том, что пороговые значения ICH будут неправильно превышены, что приведет к ненужным исследованиям или усилиям по разработке, как будет объяснено более подробно в следующем параграфе.

Процентная ошибка в сообщении уровня примеси с использованием ОКО возрастает по мере того, как содержание стандарта примеси уменьшается, но при расчете ОКО принимается за 100 %. Если содержание стандарта примеси составляет менее 100 %, но вместо этого предполагается, что оно составляет 100 %, ОКО будет присвоено значение, меньшее «истинного» ОКО. Затем при выполнении анализа примесей результаты будут разделены на более низкий ОКО, чем фактический, что приведет к более высокому расчетному результату для примеси.

Например, если ОКО был назначен, предполагая, что стандарт на примеси имел 100%-ый анализ, который на самом деле имел только 70%-ый анализ, была бы получена ошибка переоценки в 43 %. В этом случае, если уровень примесей был на уровне 0,12 %, он будет указан как 0,17 % из-за неправильного ОКО.

Неправильный результат превышает порог квалификации ICH 0,15 % в этом примере, где фактический результат, определенный с точным ОКО (или точно назначенным стандартом внешнего загрязнения), будет ниже порога. Влияние переоценки анализа примесной пробы при назначении ОКО показано на рисунке 1.

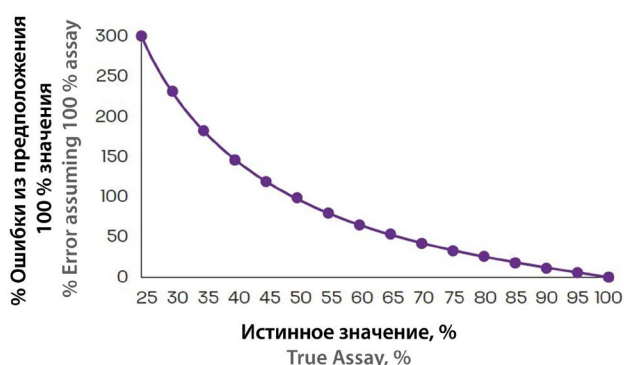


Рисунок 1. Ошибка в примесях приводит к неточно определенному ОКО из-за переоценки анализа пробы примесей

Figure 1. An error in impurities leads to an inaccurately determined RED due to overestimation of the analysis of an impurity sample

В таком случае завышенная оценка приведет к скрытым расходам, связанным с квалификационными исследованиями, которые затем требуются в соответствии с руководящими принципами ICH Q3A/Q3B. По тому же механизму можно видеть, что переоценка может также привести к ненужным не отвечающим требованиям спецификации [Out-of-Specifi-

cation (OOS)] результатам. Отслеживание результатов OOS считается дорогостоящим мероприятием. Исследование результатов OOS лабораториями и квалифицированным персоналом часто может занять много часов. Одна смета расходов составляет \$3000 (США) за простое расследование с легко определяемой причиной¹. Понятно, что в случае задержки производства или выпуска продукции могут возникнуть гораздо большие затраты.

Необходимость точной характеристики анализа примесной пробы для назначения ОКО предполагает, что стандарт примесей может быть установлен и использован вместо установления и применения ОКО. Количество доступной примеси по сравнению с количеством, необходимым для обычного использования, может затем стать решающим фактором для использования стандарта.

ОЦЕНКА АНАЛИЗА ДЛЯ НЕКОМПЕНДИАЛЬНЫХ ПРИМЕСНЫХ СТАНДАРТОВ²

Перед оценкой пробы примеси необходимо получить данные для подтверждения структуры материала. Обычно это достигается с помощью спектроскопических методов, таких как МС, ЯМР и ИК. Другие данные, такие как элементный состав, также могут поддерживать идентификацию образца.

Значение анализа часто рассчитывается по балансу массы, где примеси определяются и вычитаются из 100 %. Основным соображением для точного присвоения баланса массы является то, что все значительные примеси были учтены. Другие компоненты в образце, такие как противоионы или сольватированные растворители, включая воду, также должны учитываться.

Количественный ¹H-ЯМР (кЯМР) во многих случаях полезен для определения пробы образца³. Площадь резонансного пика или группы пиков, характерных для соединения, можно сравнить с площадью пика внутреннего стандарта известного соединения. Зная количество протонов, которые вызывают соответствующие пики, можно рассчитать анализ пробы примеси. кЯМР может быть особенно полезен, когда примесь не может быть получена путем внешней покупки или внутреннего синтеза. Когда примесь должна быть извле-

¹ How Painful Are OOS Investigations? Available at: <http://complexors.com/?p=64>. Accessed: 09.03.2018.

² Стандарты компендиальных примесей здесь выходят за рамки, поскольку они предназначены для использования только в сочетании с фармакопейными методами. Их использование в других целях не охватывается фармакопеей. (например: USP general chapter 11, Ph.Eur. general text 5.12.).

³ a) Malmström J., Hansen L., Ryager A., Olsen H. J Pharm Sci. 2005;94:2549–2567. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16200561>. b) Liu S., Hu C. Anal Chim Acta. 2007;602:114–121. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17936115>.

чена из АФИ или готовых лекарственных форм в достаточных количествах с помощью предварительной ВЭЖХ для идентификации и количественного определения, кЯМР может оказать огромную помощь в определении значений чистоты или анализа, учитывая небольшое количество доступного материала.

Точность, необходимая для назначения анализа примесей, должна учитывать предполагаемое использование стандарта на примеси. Например, если образец используется в качестве качественного пикового маркера, этого может быть достаточно для подтверждения идентичности и установления отсутствия других компонентов, которые могли бы привести к значительным пикам. Процессы идентификации примесей и определения характеристик описаны более подробно в сопроводительном документе¹.

ДРУГИЕ «ПОДВОДНЫЕ КАМНИ» ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА ОТКЛИКА

Сходимость

Постоянство ОКО изо дня в день, на разных приборах и в разных лабораториях важна для долгосрочного использования метода. Одним из основных факторов, влияющих на значение ОКО, является УФ-спектр примеси и АФИ². Если небольшие изменения в длине волны вызывают относительно большие изменения в примесях и откликах АФИ, то значение ОКО подвержено высокой изменчивости. Это особенно заметно, когда спектры примеси и АФИ имеют наклон в противоположных направлениях в небольшом диапазоне вокруг номинальной длины волны детектирования. Это проиллюстрировано на рисунке 2, где показаны спектры для АФИ (А) и примесей В и С. Длина волны детектирования составляла 280 нм, чтобы обеспечить детектирование обеих примесей. Изучение спектров показывает, что небольшое уменьшение длины волны от 280 нм даст более высокий отклик для примеси С и более низкий отклик для АФИ. Противоположная ситуация возникает при небольшом увеличении длины волны.

¹ Эталонные стандарты на примеси в идеале производятся по специальной системе качества, такой как ISO 17034: 2016, которая отличает их от исследовательских химикатов. Риск использования исследовательских химикатов взаимозаменяемо с эталонными стандартами иллюстрируется недавним проектом по перепрофилированию лекарств Broad Institute, который показал, что 29 % из исследованных 8500+ образцов соединений не прошли контроль качества, показав чистоту менее 85 %, даже для продуктов, для которых была заявлена гораздо более высокая чистота. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5568558/>

² Olsen B. A., Argentine M. D. J. Chromatogr. A. 1997;762: 227–233. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9098981>.

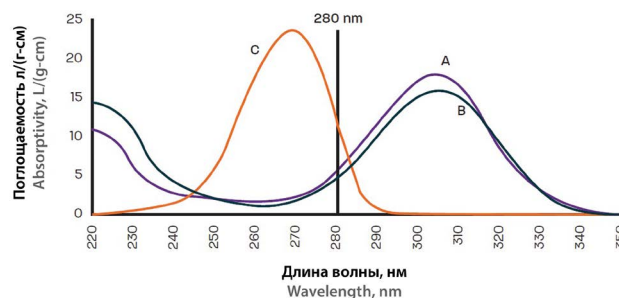


Рисунок 2. УФ-спектры лекарственного вещества А и примесей В и С. Длина волны детектирования метода составляет 280 нм

Figure 2. UV spectra of drug substance A and impurities B and C. The detection wavelength of the method is 280 nm

ОКО для примеси С изменяется примерно на 30 % при изменении длины волны от 280 нм до ± 2 нм. Небольшие изменения длины волны приводят к незначительному изменению ОКО для примеси В, поскольку ее спектр изменяется почти идентично спектру АФИ. К сожалению, устойчивость ОКО относительно небольших изменений длины волны не всегда оценивается при разработке и валидации метода. Другие факторы детектора, такие как тип детектора (переменная длина волны или матрица фотодиодов) и полоса пропускания или другие настройки, могут влиять на прочность ОКО, но по этим факторам доступно мало информации³.

Диапазон применения Относительного Коэффициента Отклика

Есть ли предел диапазона применения ОКО? Например, следует ли применять ОКО вне диапазона 0,1–10? Одно из указаний предполагает, что минимальный ОКО должен быть ограничен до 0,2, но выбор остается за разработчиками методов. Цель метода будет являться фактором для этого решения, но очень низкие значения ОКО могут вносить большие ошибки или изменчивость в количественные результаты для примесей, поскольку интеграция и хроматографическая изменчивость увеличиваются. Кроме того, когда проводится анализ следов для соединений, таких как мутагенные примеси, рекомендуется использовать внешний контроль, поскольку приемлемые пороговые значения определяются воздействием соединения на основе массы⁴.

Сопоставимость методов

Трудно сравнивать результаты между различными методами, если в одном или обоих методах используются неточные или ненадежные ОКО. Это вызывает

³ Техническое руководство по разработке монографий. 7-е изд., 2015.

⁴ Руководство ICH M7 по мутагенным примесям.

трудности сравнения, особенно если пределы спецификации примесей основаны на результатах с неточными ОКО. В таких случаях рекомендуется изменить метод на более точный.

СТАНДАРТНЫЕ ПОДХОДЫ

Как упоминалось ранее, наличие, характеристика и простота подготовки являются факторами, которые следует учитывать при использовании эталонных стандартов примеси. Стандартные растворы в одноразовых или многоразовых флаконах, которые можно хранить в условиях, обеспечивающих адекватную стабильность примесей, могут уменьшить необходимое количество примеси. Приготовление стандартных растворов для инъекций также может быть более эффективным с растворами, которые можно хранить в течение длительных периодов времени.

Внешний стандартный образец также служит в качестве положительной идентификации пика примеси, вместо того чтобы полагаться на относительные времена удерживания, которые подвержены изменчивости. Положительная идентификация пиков особенно полезна, если несколько возможных примесей близки по удержанию и их присутствие колеблется от образца к образцу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количественное определение примесей с использованием внешних стандартов обеспечивает точное определение результатов в массовых процентах, которое предотвращает неверные выводы при сравнении уровней примесей с порогами примесей ICH. Внешние стандарты примесей также обеспечивают точные результаты, которые могут обеспечить основу для сопоставимости в течение жизненного цикла аналитического метода для примесей, то есть для проверки того, что продукт соответствует техническим характеристикам во время обычного контроля качества. В идеале, такие эталонные стандарты производятся в рамках специальной системы качества, такой как ISO 17034: 2016 (Общие требования к компетентности производителей эталонных материалов), представляющей максимально возможный уровень качества. Количественный анализ по сравнению с ответом АФИ, модифицированным с помощью относительных факторов отклика, также может успешно использоваться при соответствующих обстоятельствах, если ОКО назначаются точно. Надежное определение ОКО требует наличия примесной пробы, анализ которой точно определен. Потенциальные проблемы прочности с ОКО (RRF) должны быть рассмотрены при включении ОКО в методы для обычного долгосрочного использования.