

УДК 543.544; 615.074

РЕКОМЕНДАЦИИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ФАРМАКОПЕИ «РЕГУЛИРОВАНИЕ УСЛОВИЙ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ» И ИХ ОГРАНИЧЕНИЯ ДЛЯ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ

Н. А. Эпштейн^{1*}, В. Л. Севастьянова¹, А. И. Королева¹

Резюме. Рассмотрены рекомендации о допустимых изменениях условий хроматографирования, приведенные в главе 2.2.46 Европейской Фармакопеи в разделе «Регулирование условий хроматографирования». На основании опыта исследований робастности методик ВЭЖХ и УЭЖХ и литературных данных указано, какие из этих рекомендаций не годятся или имеют существенные ограничения для методик определения примесей. Приведен пример, подтверждающий некоторые из указанных ограничений. Для методик определения примесей рекомендуется: использовать допустимые изменения условий хроматографирования из главы 2.2.46 Европейской Фармакопеи раздела «Adjustment of chromatographic conditions» только в случае отсутствия близко расположенных или частично перекрывающихся пиков примесей, не используемых для контроля разрешающей способности хроматографической системы на хроматограммах испытуемого раствора фармацевтической субстанции / лекарственного препарата на конце срока годности; альтернативное условие – отсутствие таких пиков на хроматограммах растворов, получаемых при стрессовых исследованиях с субстанцией лекарственного вещества; устанавливать допустимые пределы изменения (коррекции) условий хроматографирования на основании исследования робастности методик и включать их при необходимости как дополнение к условиям хроматографирования.

Ключевые слова: допустимые изменения условий хроматографирования, примеси, ограничения, ВЭЖХ, УЭЖХ.

RECOMMENDATIONS OF THE EUROPEAN PHARMACOPOEIA «ADJUSTMENT OF CHROMATOGRAPHIC CONDITIONS» AND THEIR RESTRICTIONS FOR THE METHODS OF IMPURITIES DETERMINATION

N. A. Epshtein^{1*}, V. L. Sevastianova¹, A. I. Koroleva¹

Abstract. The recommendations of admissible corrections of the chromatographic conditions provided in chapter 2.2.46 of the European Pharmacopoeia in the section "Adjustment of chromatographic conditions" are examined. Based on experience of the investigation of robustness of HPLC and UPLC methods and literary data, the article points out which of these recommendations are not suitable or have significant restrictions for the methods of impurities determination. An example that confirms some of the specified restrictions is given. For methods for determining impurities, it is recommended: to use admissible corrections of the chromatographic conditions from chapter 2.2.46 of the European Pharmacopoeia, in section "Adjustment of chromatographic conditions" only in the absence of closely located or partially overlapping peaks of impurities not used for control of the resolution of chromatographic system on the chromatograms of the test solution of pharmaceutical substance / drug at the end of its shelf-life or on the chromatograms of the sample solutions after stress testing; an alternative condition is the absence of such peaks on the chromatograms of the solutions obtained under stress testing with the drug substance; to set admissible limits for the change (corrections) of the chromatographic conditions on the basis of the investigation of the robustness of the methods, and to include them, if necessary, in the methods.

Keywords: adjustment of chromatographic conditions, impurities, restrictions, HPLC, UPLC.

1 – АО «ШТАДА ФармДевелопмент» АО «НИЖФАРМ», 127273, Россия, г. Москва, ул. Отрадная, д. 2Б, стр. 9

1 – Autonomous Incorporation «STADA PharmDevelopment», SC «NIZHPHARM», 2B, b. 9, Otradnaya str., Moscow, 127273, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: naumeptshtein@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Вопросы, связанные с ревалидацией хроматографических методик, до сих пор являются актуальными на практике из-за большого количества факторов, способных влиять на валидационные характеристики методики и ее робастность [1–4]. В главе 2.2.46 Европейской Фармакопеи (EP) «Chromatographic separation techniques» в разделе «Adjustment of chromatographic conditions» («Регулирование условий хроматографирования») приведены рекомендации о допустимых

изменениях условий хроматографирования [5]. При этом отмечено, что не нужна ревалидация методики, если изменяют условия хроматографирования в указанных пределах и при этом выполняются требования пригодности хроматографической системы. Однако наш опыт исследования робастности методик ВЭЖХ и УЭЖХ показал, что многие из рекомендуемых допустимых изменений условий хроматографирования, указанных в EP [5], имеют существенные ограничения, а некоторые даже не годятся в случае методик определения примесей. Это согласуется с наличием в [6] реко-

мендаций, аналогичных приведенным в главе 2.2.46 EP, но только для методик количественного определения (Assay), и введением дополнительных ограничений для допустимого изменения состава подвижной фазы, размера частиц, размера колонки и т.д. в USP [7].

Цель статьи: проанализировать допустимые изменения (далее корректировки) условий хроматографирования для жидкостной хроматографии, указанные в главе 2.2.46 Европейской Фармакопеи, с точки зрения их пригодности для методик определения примесей, а также дать рекомендации, основанные на литературных данных и на нашем опыте.

Прежде всего подчеркнем, что допустимые корректировки условий хроматографирования должны основываться на теоретических доводах, а также на опыте исследования робастности аналитических методик [1]. На основании этой предпосылки мы провели анализ рекомендаций «Adjustment of chromatographic conditions» из главы 2.2.46 Европейской Фармакопеи с точки зрения их пригодности для методик определения примесей. Результаты анализа систематизированы

в таблице 1, в ней указаны ограничения, препятствующие применению некоторых рекомендаций EP [5] по допустимым корректировкам условий хроматографирования для методик определения примесей. Эти ограничения дополнены важными, на наш взгляд, рекомендациями из Фармакопеи США [7].

Проиллюстрируем некоторые из ограничений, указанных в таблице 1, на примерах, полученных при исследовании робастности изократической методики определения примесей в новом препарате, которые произвели на нас особенно сильное впечатление.

Условия хроматографирования: колонка XBridge C18, 250×4,6 мм, 5 мкм; подвижная фаза: 0,05 М фосфатный буфер с pH=8,0 – метанол – ацетонитрил (47:46:7); скорость потока 1,0 мл/мин; объем вводимой пробы 10 мкл; детектор УФ 215 нм; температура колонки 35 °С. В требованиях пригодности хроматографической системы нормируется разрешение между пиком основного вещества и примеси с RRT около 1,09: Peak-to-valley ratio (p/v) – не менее 1,5.

Таблица 1.

Результаты оценки пригодности для методик определения примесей рекомендаций о допустимых изменениях условий хроматографирования, указанных в главе 2.2.46 Европейской Фармакопеи

Рекомендация EP	Ограничение использования
1	2
Изократическое элюирование	
Состав подвижной фазы: содержание компонента-растворителя, присутствующего в меньшем количестве, может корректироваться в пределах $\pm 30\%$ (относительное содержание) или $\pm 2\%$ (абсолютное содержание) в зависимости от того, какое из них больше. Например, для меньшего по содержанию компонента, составляющего 10% подвижной фазы, корректирование относительного содержания на 30% допускает предельные значения от 7% до 13%, а корректирование абсолютного содержания на 2% допускает предельные значения от 8% до 12%, т.е. корректирование по относительному содержанию больше. Для меньшего по содержанию компонента, составляющего 5% подвижной фазы, корректирование относительного содержания на 30% допускает предельные значения от 3,5% до 6,5%, а корректирование абсолютного содержания на 2% допускает предельные значения от 3% до 7%, т.е. в данном случае корректирование по абсолютному содержанию больше. Абсолютное содержание других компонентов не может быть изменено более чем на 10%.	Высокий риск неприемлемости этих корректировок для методик определения примесей, если на хроматограммах могут быть близко расположенные или частично перекрывающиеся пики примесей, которые не указаны в требованиях пригодности хроматографической системы (ППХС) – критические методики. Нет теоретического обоснования. Фармакопея США допускает изменение содержания минорных компонентов подвижной фазы (содержание $\leq 50\%$) на $\pm 30\%$ относительных; при этом изменение содержания любого компонента подвижной фазы не должно превышать 10% абсолютных (по отношению ко всей подвижной фазе) [7].
Скорость подвижной фазы: $\pm 50\%$. При изменении размеров колонки допускается большее корректирование (см. формулу ниже).	Неприменимо для критических методик. Нет теоретического обоснования.
Температура: ± 10 °С в случае контролируемой рабочей температуры при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье.	То же
pH водного компонента подвижной фазы: $\pm 0,2$ pH при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье или $\pm 1,0$ pH в случае испытания неионизированных веществ.	То же не исключено. Поэтому для критических методик следует проверять сохранение специфичности при изменении pH на $\pm 0,2$ pH.
Концентрация солей в буферном компоненте подвижной фазы: $\pm 10\%$.	Иногда неприменимо для ионообменной хроматографии; нет теоретического обоснования.
<i>Характеристики колонки:</i>	
Неподвижная фаза: <ul style="list-style-type: none"> не допускается изменение заместителей неподвижной фазы (т.е. не допускается замена C₁₈ на C₈); 	Не учтена важность различия в селективности однопорных сорбентов. Для методик определения примесей: даже замена однопорной колонки (например, одного сорбента C ₁₈ на другой сорбент C ₁₈) требует ревалидации методики по характеристике «специфичность».

Рекомендация ЕР	Ограничение использования
1	2
<p>размер частиц: допускается максимальное уменьшение размера на 50%, увеличение не допускается;</p>	<p>Нет теоретического обоснования. Фармакопея США обуславливает допустимое изменение размера частиц тем, что должно оставаться постоянным или изменяться в пределах от -25% до +50% отношение длины колонки (L) к размеру частиц (dp) или число теоретических тарелок должно изменяться в пределах от -25% до +50% по отношению к номинальным значениям.</p>
<p>Размер колонки:</p> <ul style="list-style-type: none"> длина: $\pm 70\%$; внутренний диаметр: $\pm 25\%$. <p>При изменении размера колонки скорость подвижной фазы (ПФ) может корректироваться при необходимости по формуле:</p> $F_2 = F_1 \frac{L_2 \cdot d_2^2}{L_1 \cdot d_1^2},$ <p>где F_1 – скорость ПФ, указанная в частной фармакопейной статье (ФС), мл/мин; F_2 – скорректированная скорость ПФ, мл/мин; L_1 – длина колонки, указанная в частной ФС, мм; L_2 – длина используемой колонки, мм; d_1^2 – внутренний диаметр колонки, указанный в частной ФС, мм; d_2^2 – внутренний диаметр используемой колонки, мм.</p>	<p>Формула имеет теоретическое обоснование для сохранения времени удерживания вещества, однако ее применение не гарантирует валидность методики определения примесей по характеристике «специфичность».</p> <p>Фармакопея США вводит дополнительное требование: эффективность колонки не должна изменяться больше чем на 20%.</p>
<p>Длина волны детектора: корректирование не допускается.</p>	<p>Есть теоретическое обоснование.</p>
<p>Объем вводимой пробы: может быть уменьшен при условии, что используемое детектирование и повторяемость пика(ов) остаются удовлетворительными; увеличение не допускается.</p>	<p>Лучше использовать рекомендацию Фармакопеи США: «Объем инъекции можно регулировать настолько, насколько это согласуется с принятой прецизионностью, линейностью и пределами детектирования» [7].</p>
Градиентное элюирование	
<p>Состав подвижной фазы градиентного элюирования: незначительное корректирование состава подвижной фазы и системы градиента допустимо при следующих условиях:</p> <ul style="list-style-type: none"> выполняются требования пригодности хроматографической системы; основной(ые) пик(и) элюируется в пределах $\pm 15\%$ от указанного(ых) времени(ен) удерживания; элюирующая способность конечного состава подвижной фазы должна быть не ниже, чем у состава, указанного в частной фармакопейной статье. <p>Если соответствие требованиям пригодности хроматографической системы не может быть достигнуто, предпочтительной зачастую является оценка объема задержки или замена хроматографической колонки.</p>	<p>В большинстве случаев эти рекомендации неприменимы для методик определения примесей из-за потери селективности методики; допустима только коррекция программы градиента с учетом объема задержки.</p> <p>Фармакопея США не рекомендует использовать коррекции состава подвижной фазы для изменения условий хроматографирования методик с градиентным элюированием [7] (потребуется ревалидация методики).</p>
<p>Объем задержки (Dwell Volume). Конфигурация используемого оборудования может значительно изменить разрешение, время удерживания или относительное удержание, описанные в методике, например из-за избыточного объема задержки. В частных фармакопейных статьях обычно включают изократическую стадию до начала программы градиентного элюирования, обеспечивая адаптацию к временным точкам градиента с учетом разницы в объеме задержки между системой, использованной при разработке частной фармакопейной статьи, и фактически используемой системой. Адаптация продолжительности изократической стадии в зависимости от используемого аналитического оборудования входит в ответственность пользователя. Если в частной фармакопейной статье приведен объем задержки, установленный при ее разработке, то временные точки (t, мин), указанные в таблице градиента, могут быть заменены на адаптированные временные точки (t_c, мин), рассчитанные по формуле:</p> $t_c = t \cdot \frac{D - D_o}{F},$ <p>где D – объем задержки, мл; D_o – объем задержки, использованный при разработке методики, мл; F – скорость подвижной фазы, мл/мин.</p> <p>Изократическая стадия, введенная с данной целью, может быть исключена при наличии данных по валидации методики, применяемой без указанной стадии.</p>	<p>Есть теоретическое обоснование.</p>
<p>pH водного компонента подвижной фазы: корректирование не допускается.</p>	<p>Требование основано на практике</p>

Рекомендация ЕР	Ограничение использования
1	2
Концентрация солей в буферном компоненте подвижной фазы: корректирование не допускается.	Требование основано на практике
Скорость подвижной фазы: корректирование допускается при изменении размеров колонки (см. формулу, указанную ниже). Неподвижная фаза: не допускается изменение заместителей неподвижной фазы (т.е. не допускается замена C_{18} на C_8);	Не учтена важность различия в селективности однопористых сорбентов. Для методик определения примесей даже замена однотипной колонки (например, одного сорбента C_{18} на другой сорбент C_{18}) требует ревалидации методики по характеристике «специфичность».
размер частиц: корректировка не допускается;	Требование основано на практике
Размер колонки: • длина: $\pm 70\%$; • внутренний диаметр: $\pm 25\%$. При изменении размера колонки скорость подвижной фазы может корректироваться при необходимости по формуле (обозначения см. выше): $F_2 = F_1 \frac{L_2 \cdot d_2^2}{L_1 \cdot d_1^2}$	Допустимая коррекция теоретически не обоснована и не гарантирует валидность методики определения примесей по характеристике «специфичность». Фармакопея США не рекомендует коррекции F , L и d для методик с градиентным элюированием [7].
Температура: $\pm 5^\circ\text{C}$ в случае контролируемой рабочей температуры при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье.	Нет теоретического обоснования. Увеличение температуры действует как увеличение содержания более сильного элюента, поэтому высокий риск потери селективности в случае критических (см. выше) методик.
Длина волны детектора: корректирование не допускается.	Есть теоретическое обоснование.
Объем вводимой пробы: может быть уменьшен при условии, что используемое детектирование и повторяемость пика(ов) остаются удовлетворительными; увеличение не допускается.	Лучше использовать рекомендацию Фармакопеи США: «Объем инъекции можно регулировать настолько, насколько это согласуется с принятой прецизионностью, линейностью и пределами детектирования» [7].

В таблице 2 представлены факторы высокого и среднего риска и пределы их изменения при исследовании робастности методики. Обращаем внимание на то, что в качестве допустимого предела изменения содержания элюентов рассматривали $\pm 2,0\%$ относитель-

ных и наихудшие случаи в соответствии с обоснованием, приведенным в [1].

На рисунках 1–3 приведены хроматограммы испытуемого раствора, полученные при условиях, указанных в методике, а также при изменении факторов,

Таблица 2.

Факторы высокого и среднего риска и пределы их изменения при исследовании робастности рассматриваемой методики

№	Факторы	Единица измерения	Значение по методике	Пределы изменения	Уровень (-1)*	Уровень (+1)*
1.	Состав подвижной фазы (ПФ)	%	Буфер – MeOH – ACN = 470:460:70	$\pm 2\%$ отн.	Буфер/MeOH/ACN = 479,4 : 450,8 : 68,6	Буфер/MeOH/ACN = 460,6 : 469,2 : 71,4
2.	Буфер: значение pH буфера	pH	8,0	$\pm 0,10$ pH	7,90	8,10
3.	Буфер: концентрация соли в буфере (C_{buff})	мг/мл	Раствор смеси 6,80 г калия дигидрофосфата и 1,872 г натрия гидроксида в 1000 мл воды, доведенный до pH=8,00.	$\pm 10\%$	Раствор смеси 6,12 г калия дигидрофосфата и 1,685 г натрия гидроксида в 1000 мл воды, доведенный до pH=8,00.	Раствор смеси 7,48 г калия дигидрофосфата и 2,059 г натрия гидроксида в 1000 мл воды, доведенный до pH=8,00.
4.	Скорость потока (F)	мл/мин	1,0	$\pm 2\%$	0,98	1,02
5.	Температура колонки (T)	$^\circ\text{C}$	35	$\pm 3^\circ\text{C}$	32	38
6.	Длина волны (λ)	нм	215	± 2 нм	213	217
7.	Колонка*	–	–	–	Колонка 1	Колонка 2

Примечание: * Хроматографическая колонка 2 содержит такой же сорбент, как и колонка 1, но другой серии.

оказавшихся критическими [1] для этой методики: скорости потока, температуры колонки и pH фосфатного буферного раствора.

Влияние изменения скорости потока на ±2,0%.

При сопоставлении хроматограмм на рисунке 1 (вверху) видно, что в соответствии с теорией при увеличении скорости потока F на 2,0% пики основного вещества и примесей немного смещаются влево (зеленый цвет), а при уменьшении F на 2,0% смещаются вправо (синий цвет) относительно условий хроматографирования по методике (красный цвет). При этом разрешение между пиком основного вещества и примеси с RRT около 1,09 изменяется незначительно и соответствует требованиям пригодности хроматографической системы. В то же время, как видно из рисунка 1 (внизу, увеличенный масштаб), увеличение скорости потока всего на 2,0% приводит к практически полному перекрыванию некоторых пиков примесей, а именно выходящих при номинальных (по методике) условиях с RRT около 0,49 (RT≈27,5 мин) и около 0,53 (RT≈29,1 мин), а также к значительному перекрыванию пиков примесей в об-

ласти 14–16 мин и 21–23 мин. Отметим, что при номинальных условиях пики этих примесей были хорошо разделены и поэтому не были включены в требования пригодности хроматографической системы.

Влияние изменения температуры хроматографической колонки.

Увеличение температуры (T) хроматографической колонки и, следовательно, подвижной фазы на три градуса (+3 °C), как видно из рисунка 2 (вверху), действует аналогично увеличению содержания более сильного элюента [8] – пики смещаются влево (зеленый цвет), а при уменьшении T на три градуса (-3 °C) – смещаются вправо (синий цвет) относительно условий хроматографирования по методике (красный цвет). При этом разрешение между пиком основного вещества и примеси с RRT около 1,09 изменяется незначительно и соответствует требованиям пригодности хроматографической системы. Из увеличенного участка хроматограммы (рисунок 2, внизу) видно, что изменение температуры хроматографической колонки всего на +3 °C приводит к значительному перекрыванию пиков примесей, выходящих при номи-

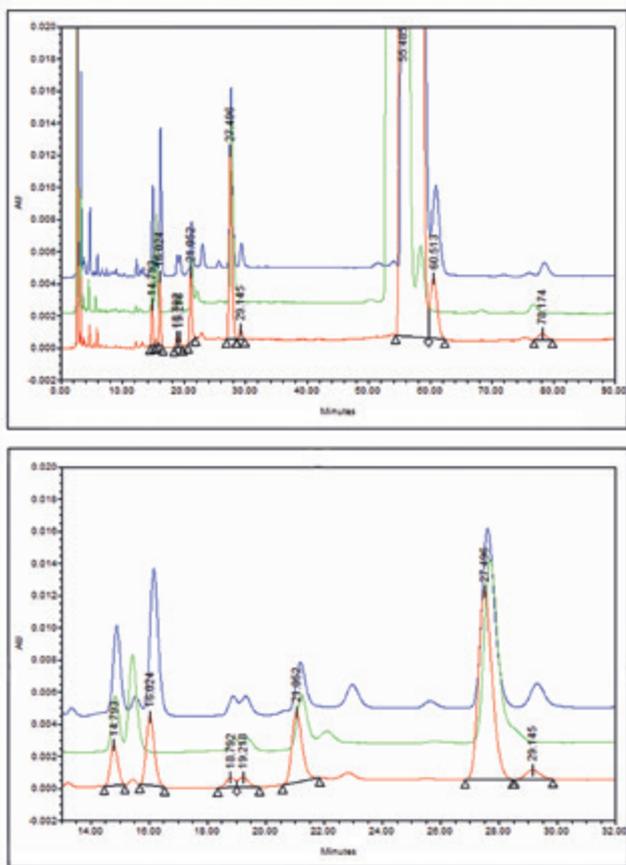


Рисунок 1. Наложение хроматограмм испытуемых растворов для определения примесей: красный цвет – нормальные условия, синий цвет – при уменьшении скорости потока на 2,0%, зеленый цвет – при увеличении скорости потока на 2,0%. Внизу – увеличенный масштаб (с небольшим сдвигом) для большей наглядности перекрывания пиков в области 14–16 мин, 21–23 мин и 27–30 мин при увеличении скорости потока на 2,0%

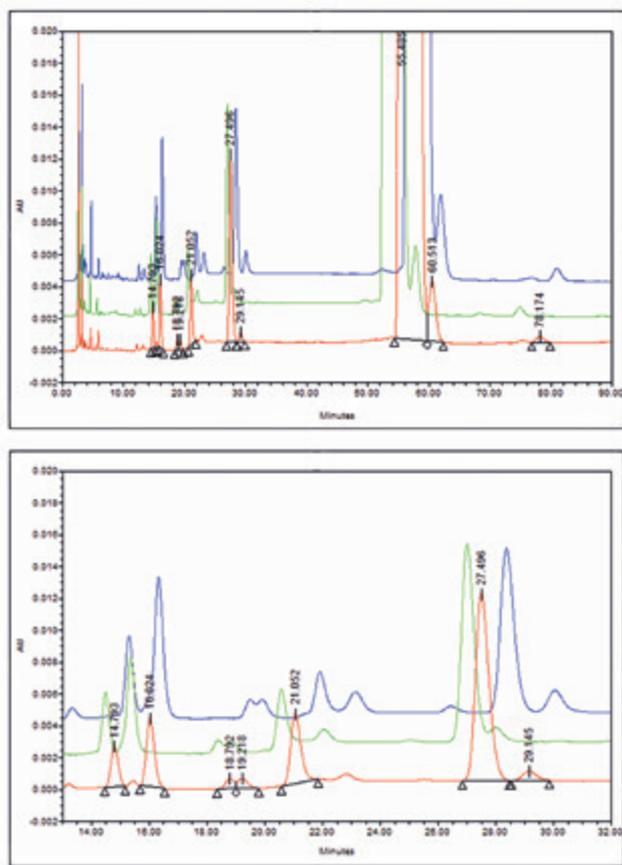


Рисунок 2. Наложение хроматограмм испытуемых растворов для определения примесей: красный цвет – нормальные условия, синий цвет – при уменьшении температуры колонки на 3 °C, зеленый цвет – при увеличении температуры колонки на 3 °C. Внизу – увеличенный масштаб (с небольшим сдвигом) для большей наглядности перекрывания пиков в области 27–30 мин при увеличении температуры колонки на 3 °C

нальных условиях с RRT около 0,49 (RT≈27,5 мин) и около 0,53 (RT≈29,1 мин); это приводит к большой ошибке определения содержания этих примесей по сравнению с результатом их обсчета по хроматограмме, полученной при номинальных условиях. Пики примесей в области 14–16 мин и 21–23 мин остаются достаточно хорошо разделенными, то есть увеличение температуры имеет разное воздействие на разные примеси, и это можно объяснить прежде всего различной энергией сорбции молекул примесей.

Влияние изменения pH фосфатного буфера.

Уменьшение pH фосфатного буфера на 0,1 (pH=7,9), как видно из рисунка 2 (вверху), приводит к тому, что пики некоторых примесей смещаются влево (зеленый цвет), а при увеличении pH на 0,1 (pH=8,1) – смещаются вправо (синий цвет) относительно условий хроматографирования по методике (красный цвет). При этом разрешение между пиком основного вещества и примеси с RRT около 1,09 изменяется незначительно и соответствует требованиям пригодности хроматографической системы. Из увеличенного участка хроматограммы (рисунок 3, внизу) видно, что уменьшение pH буфера всего лишь на 0,1 приводит к практически полному перекрытию пиков примесей, выходящих при номинальных условиях с RRT около 0,49 (RT≈27,5 мин) и около 0,53 (RT≈29,1 мин), а также к значительному перекрытию пиков примесей в области 14–16 мин и 21–23 мин.

В таблице 3 в качестве примера приведены значения разрешения Rs между пиками примесей, выходящих при номинальных условиях с RRT около 0,49 (RT≈27,5 мин) и около 0,53 (RT≈29,1 мин).

На основании полученных результатов можно сделать следующие важные выводы: даже при выполнении требований к пригодности хроматографической системы изократическая методика определения примесей может стать неробастной при:

- увеличении скорости потока F на 2,0%, хотя EP допускает изменение F на ±50% (таблица 1);
- увеличении температуры T колонки на 3 °C, хотя EP допускает изменение T на ±10 °C (таблица 1);

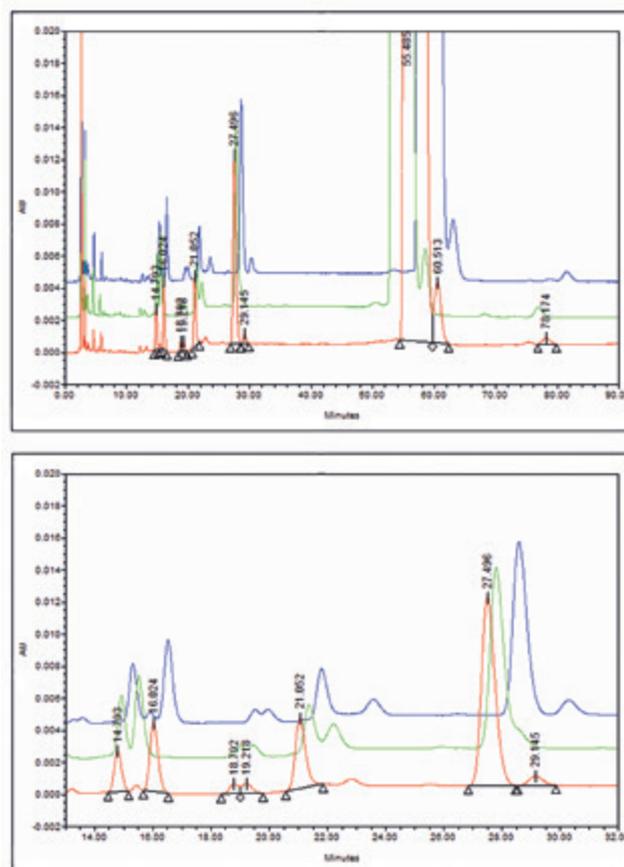


Рисунок 3. Наложение хроматограмм испытуемых растворов для определения примесей: красный цвет – нормальные условия, синий цвет – при увеличении pH буфера на 0,1 (pH=8,1), зеленый цвет – при уменьшении pH буфера на 0,1 (pH=7,9). Внизу – увеличенный масштаб (с небольшим сдвигом) для большей наглядности перекрытия пиков в области 14–16 мин, 21–23 мин и 27–30 мин при уменьшении pH буфера на 0,1

- уменьшении pH на 0,1, хотя EP допускает изменение pH на ±0,2 (таблица 1).

Как видим, значения критических изменений скорости потока и температуры оказались значительно меньшими, чем допускается в разделе «Adjustment of chromatographic conditions» главы 2.2.46 Европейской Фармакопеи [5], также меньшим оказалось и критическое значение pH.

Таблица 3.

Критические факторы, установленные при исследовании робастности изократической методики определения примесей*

Отклик \ Факторы	F (-2,0%)	F (+2,0%)	T (-3 °C)	T (+3 °C)	pH (+0,1pH)	pH (-0,1pH)
Разрешение Rs между пиками с RRT около 0,49 (RT~27 мин) и около 0,53 (RT~29 мин) на хроматограмме испытуемого раствора**	2,0	Практически полное перекрытие пиков	1,85	Значительное перекрытие пиков***	1,9	Практически полное перекрытие пиков

Примечание: * Обозначения факторов см. в табл. 2.

** При условиях по методике Rs ≈ 1,9.

*** Приводит к большой ошибке определения содержания примесей по сравнению с результатом обсчета хорошо разделенных пиков на хроматограмме, полученной при условиях по методике

Характерно, что у рассмотренной методики на хроматограммах испытуемого раствора, а также растворов образцов после стрессовых экспериментов имелись близко расположенные пики примесей, которые не были указаны в требованиях пригодности хроматографической системы, так как они были достаточно хорошо разделены при номинальных условиях. Возможность перекрытия некоторых из таких пиков была установлена только при исследовании робастности методики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные выше результаты, а также наш опыт исследования робастности методик ВЭЖХ и УЭЖХ показывает, что:

- в случае методик определения примесей индикатором непригодности рекомендаций Европейской Фармакопеи [5] о допустимых изменениях условий хроматографирования является наличие на хроматограммах испытуемого раствора фармацевтической субстанции / лекарственного препарата на конце срока годности или на хроматограммах растворов образцов субстанции после стрессовых исследований близко расположенных или частично перекрывающихся пиков примесей, не используемых для контроля разрешающей способности хроматографической системы (критические методики согласно таблице 1).

Для методик определения примесей рекомендуем:

- использовать допустимые изменения условий хроматографирования из главы 2.2.46 Европейской Фармакопеи раздела «Adjustment of chromatographic conditions» только при отсутствии на хроматограмме испытуемого раствора фармацевтической субстанции / лекарственного препарата на конце срока годности близко расположенных или частично перекрывающихся пиков примесей, не используемых для контроля разрешающей способности хроматографической системы. Альтернативное условие – отсутствие таких пиков на хроматограммах растворов, получаемых при стрессовых исследованиях с субстанцией лекарственного вещества. Для снижения риска невалидности методики при изменении условий хроматографирования целесообразно учитывать ограничения, указанные в таблице 1;
- устанавливать допустимые пределы изменения (допустимые коррекции) условий хроматографирования на основании исследования робастности методик и включать их при необходимости как дополнение к условиям хроматографирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эпштейн Н. А., Севастьянова В. Л., Королева А. И. Исследование робастности при валидации методик ВЭЖХ и УЭЖХ: современный подход, включающий анализ рисков // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018. № 1(22). С. 96–110. [Epshtein N. A., Sevast'yanova V. L., Koroleva A. I. Issledovanie robastnosti pri validatsii metodik VEZhKh i UEZhKh: sovremennyy podkhod, vključayushchii analiz riskov // Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. 2018. № 1(22). С. 96–110.]
2. Vander Heyden Y., Nassart D. L. Review of the use of robustness and ruggedness in analytical chemistry // Robustness of analytical chemical methods and pharmaceutical technological products / Ed. by Hendriks M.W.B., de Boer J.H., Smilde A.K. – Amsterdam: Elsevier Science B.V. 1996. P. 79–147.
3. Vander Heyden Y., Nijhuis A., Smeyers-Verbeke J. et al. Guidance for Robustness/Ruggedness Tests in Method Validation // J. Pharm. and Biomed. Analysis. 2001. V. 24. № 5–6. P. 723–753.
4. Эрмер Й., Миллер Дж. Х. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучших практик. – М.: ВИАЛЕК. 2013. 495 с. [Ermer I., Miller Dzh. Kh. Validatsiya metodik v farmatsevticheskom analize. Primery nailuchshikh praktik. – М.: ВИАЛЕК. 2013. 495 с.]
5. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice / Ed. by Remer J., Miller J. H. – Wenham: Wiley-VT Verlag GmbH & Co. Ka. 2005. 403 p.
6. European Pharmacopoeia 9th ed. Chapter 2.2.46. Chromatographic separation techniques. 2017.
7. Majors R. E., Snyder L. R., Dolan J. W. Adjusting Conditions for a Routine Reversed Phase HPLC Assay. Part 2: Changing Separation Conditions // LC•GC Europe. 2005. V. 18. № 6. P. 324–329.
8. The United States Pharmacopoeia. <621> Chromatography. USP39–NF34. 2016.
9. Snyder L. R., Kirkland J. J., Glajch J. L. Practical HPLC Method Development. 2nd ed. – N.Y.: J. Wiley, 1997. P. 242.