

## АНОТАЦІЯ

*Петрус В.В.* Організація трансферу аналітичної методики на фармацевтичному підприємстві. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена розробці науково обґрунтованої концепції організації трансферу аналітичної методики кількісного визначення активного фармацевтичного інгредієнта в таблетках, покритих плівковою оболонкою, з лабораторії розробки до лабораторії контролю якості на фармацевтичному підприємстві України.

Трансфер методики спирається на результати валідації і є нерозривно пов'язаним з нею. Провідним принципом успішної валідації аналітичної процедури є коректне застосування концепції «придатності методики своєму призначенню». Критичний аналіз еволюції даної концепції встановив, що в рамках «класичного» підходу до валідації ціль демонстрації придатності не була досягнута. Підхід ДФУ послідовно реалізував цю ціль в рамках «класичного» підходу. Новий підхід «Life Cycle» відмовився від загально признаного на міжнародном рівні «класичного» підходу і запропонував суттєві системні покращення у порівнянні з «класичним» підходом до валідації, але в практичній реалізації «демонстрації придатності» не досяг цієї цілі. Як наслідок проблеми з підходами до валідації, на теперішній час відсутня прийнятна концепція трансферу аналітичної методики. Наявні підходи до трансферу, які описані в регуляторних керівництвах, характеризуються наступними проблемами:

1. Відсутність метрологічно обґрунтованих критеріїв прийнятності, які ґрунтуються на ризику прийняття некоректного рішення щодо відповідності специфікації. Критерії, наведені в регуляторних керівництвах, не є науково обґрунтованими взагалі (вони наводяться як приклади «найкращої практики»).

2. Організація експерименту трансферу є формальною і не спрямована на контролювання конкретних причин варіювання та ідентифікованих ризиків.

3. Відсутність накопичення знань з метою формулювання стратегії контролю за ідентифікованими ризиками в подальшому рутинному використанні.

4. Не розглядається вплив технологічного варіювання на дизайн аналітичної методики (стратегія усереднення) та на ризики одержання результатів, які не відповідають специфікації.

Для вирішення сформульованих проблем та розробки науково-обґрунтованої концепції трансферу було запропоновано спиратися на базу «класичного» підходу до валідації, як міжнародно визнаного підходу, і об'єднувати досягнення підходу ДФУ і підходу «Life Cycle».

Завданням нашої роботи було:

1. Провести критичний аналіз еволюції концепції «придатності», «Life Cycle» та сучасних підходів до валідації та трансферу аналітичних процедур в регуляторних керівництвах (ISPE, WHO, ASTM, USP та Pharmacopoeial Forum, ДФУ).

2. Спираючись на одержані результати, сформулювати цілі та завдання для трансферу і виходячи з них запропонувати власну концепцію.

3. Розробити стандартизовану процедуру, інтегрувавши підхід ДФУ з підходами «Life Cycle», для розробки аналітичної методики.

4. Розробити аналітичну процедуру кількісного визначення дезлоратадину та провести її валідацію, об'єднавши підходи ДФУ та «Life Cycle».

5. Вивчити властивості об'єкту аналізу, пов'язані з технологією, які впливають на відповідність специфікаціям по показникам якості ЛЗ (кількісне визначення (КВ) та однорідність дозованих одиниць (ОДО)). Для цього:

5.1. Вивчити теоретичні аспекти взаємної узгодженості вимог КВ, ОДО і можливостей технології (включаючи використання гарантуючих специфікацій).

5.2. Оцінити робастність технології по відношенню до параметрів процесу.

5.3. Оцінити технологічне варіювання.

5.4. Розробити стратегію усереднення (необхідна кількість таблеток, з яких проводять КВ), виходячи з одержаного значення технологічного варіювання.

5.5. Оцінити ризик невідповідності специфікації (Out of Specification, OOS) тесту КВ та ОДО при рутинному виробництві.

6. Оцінити прецизійність аналітичної методики в процесі фармрозробки (еквівалентно рутинному використанню методики).

7. Розробити процедури контролю якості результатів аналізу, які є інструментами постійної верифікації аналітичної процедури та призначені для використання як в процесі трансферу, так і в подальшому рутинному аналізі.

8. Розробити дизайн експерименту трансферу аналітичної процедури, який використовує накопичені знання зі всіх попередніх етапів, і включає стратегію контролю та метрологічно обґрунтовані критерії прийнятності.

9. Провести трансфер аналітичної процедури, який дозволяє в підсумку контролювати ризик некоректного висновку щодо відповідності ЛЗ специфікації у приймаючій лабораторії, у тому числі і у подальшому рутинному аналізі.

Концепція трансферу була сформульована наступним чином. Ціль трансферу – підтвердження в мінімальному експерименті того, що знання про амплітуду чинників варіювання, одержані в передаючій стороні (Sending Unit – SU) застосовані для приймаючої сторони (Receiving Unit – RU).

Завдання трансферу:

1. Перевірка виконання вимог до ключових критеріїв аналітичного цільового профілю методики (Analytical Target Profile – ATP), а саме щодо цільової невизначеності і зміщенню результатів.

2. Перевірка коректності стратегії контролю в RU.

У відповідності до запропонованої концепції трансферу на початку був сформульований ATP і виходячи з нього вимоги до метрологічних характеристик методики. Величина варіювання випадкових чинників має не перевищувати цільову невизначеність ( $max\Delta_{As}$ ), яка повинна бути незначущою у порівнянні з межами кількісного вмісту  $\pm 5\%$  ( $max\Delta_{As} = 1,6\%$ ). В свою чергу, величина варіювання систематичних чинників ( $bias$ ) повинна бути незначущою по відношенню до цільової невизначеності ( $bias \leq 0,51\%$ ).

На першому етапі було розроблено попередній дизайн методики (тип розчинника; довжина хвилі, концентраційний діапазон та інше) та спрогнозовано невизначеність результатів виходячи з наявних контрольованих чинників варіювання (мірний посуд, аналітичне обладнання, аналітик), яка повинна бути менше  $max\Delta_{As}$ . Проект методики оптимізовано відповідно до цієї рекомендації.

На другому етапі було проведено оцінку ризиків чинників варіювання. Всі потенційні чинники варіювання були ідентифіковані та розділені на три групи в залежності від їх природи (шумові / контрольовані / експериментальні). Для оцінки кожного типу було розроблено власний підхід, який базується на вимогах до цільової невизначеності та величині варіювання систематичних чинників.

Встановлено, що використання мембранних фільтрів з однаковими технічними показниками від деяких виробників може бути неприйнятним для даного складу таблетки. Використання таких фільтрів викликало завищені значення КВ через «проскок» частини нерозчинних допоміжних речовин через фільтр, що проявляється в опалесценції розчину і наявності однакового за інтенсивністю вкладу у поглинання незалежно від аналітичної хвилі для довгохвильової частини спектру. Для контролю за цим чинником варіювання запропоновано вимірювати оптичну густину випробовуваного розчину при 350 нм. Її відношення до оптичної густини при аналітичній довжині хвилі, у відсотках, повинно бути незначущим ( $\leq 0,51\%$ ).

На третьому етапі була проведена попередня валідація у відповідності з підходом ДФУ. Мета такої валідації полягала в оцінці фактичного впливу контрольованих та експериментальних чинників варіювання. Застосовували модельні розчини для виключення можливого впливу шумових чинників варіювання, які пов'язані з об'єктом аналізу (однорідність зразку). Також метою було встановлення наявності чи відсутності додаткових чинників варіювання, які не були враховані на етапі розробки аналітичної процедури, шляхом дворівневої перевірки фактичної невизначеності – з її прогнозованим значенням та з максимально припустимим.

Проведена валідація продемонструвала відповідність методики призначенню. Проте було виявлено новий значущий чинник варіювання, який додатково вивчено на етапі фармацевтичної розробки.

На четвертому етапі було вивчено властивості об'єкту аналізу, пов'язані з технологією, для уточнення стратегії усереднення і оцінки ризиків невідповідності тестам КВ і ОДО. Для досягнення поставленої мети, нами було розроблено та застосовано для таблеток дезлоратадину алгоритм вивчення робасності технології. Для цього було напрацьовано 9 лабораторних серій ядер таблеток дезлоратадина з

варіюванням параметрів технологічного процесу (сила пресування та швидкість таблетування) та виконано контроль якості за показниками (маса; КВ; ОДО).

Технологія була визнана робасною, тому одержане значення технологічного варіювання може використовуватися як оцінка такого для промислового випуску. Виходячи з одержаних характеристик технологічного варіювання, ризик невідповідності тесту КВ та ОДО класифіковано як «відсутній» та «середній» відповідно. Одержані результати підтвердили необхідність контролю для відхилення середньої маси від номінального значення під час випуску ЛЗ (запропоновано метрологічно обґрунтований критерій  $\pm 1,5\%$ ), відсутність чого практично унеможливило надійне використання «гарантуючих» меж вмісту для КВ.

На п'ятому етапі було використано фармацевтичну розробку як додатковий інструмент оцінки чинників варіювання, пов'язаних з властивостями об'єкту аналізу, та з вивченням прецизійності в умовах, еквівалентних рутинному використанню аналітичної процедури.

Встановлено, що наявність плівкової оболонки створює ризик неоднорідності випробовуваного зразка розтертих таблеток. Оцінка даного ризику показала, що використання наважки розтертих таблеток, яка дорівнювала масі однієї таблетки 105 мг (така наважка уніфікує методики КВ та ОДО), призводить до неприпустимо високого варіювання результатів аналізу  $\Delta_i = 2,7\%$  (критерій  $\leq 1,6\%$ ). Було встановлено, що причиною даного феномену є ефект вичерпування (тобто перші наважки були збагачені плівковою оболонкою, а останні – ядром розтертих таблеток), який призводив до градієнта концентрацій АФІ у випробовуваних розчинах при послідовному взятті наважок.

Проведено оптимізацію аналітичної процедури: було спрогнозовано мінімальну масу зразка, яка повинна забезпечувати достатню однорідність (еквівалентна масі 4-х таблеток), і далі коректність її використання була підтверджена експериментально. Запропоновано при подальшому рутинному застосуванні методики для контролю достатньої однорідності зразка розтертих таблеток послідовно брати наважки і аналізувати першу і останню порцію. Результати не повинні розрізнятися більше, ніж на  $\sqrt{2} \times \max \Delta_{As}$ .

Також було оцінено ризик збільшення невизначеності від пробопідготовки при наступному рутинному використанні методики. Для цього використовували

результати аналізу таблеток дезлоратадину, одержані іншими аналітиками лабораторії, при вивченні стабільності таблеток. Був зроблений висновок про наявність високого ризику, пов'язаного з невизначеністю результатів, яку вносить пробопідготовка для розчину порівняння. Для контролю за невизначеністю пробопідготовки з усіх результатів, одержаних під час валідації методики, був валідований питомий показник поглинання для розчину порівняння. Валідація включала різні спектрофотометри, наявні на підприємстві, і охоплювала пів року по часу. Запропоновано при виконанні рутинного аналізу контролювати питомий показник поглинання для розчину порівняння.

Виходячи з результатів розробки і валідації методики, для контролю за ризиками, які були кваліфіковані як «значущі», була розроблена стратегія контролю з метою забезпечення валідованого статусу методики при подальшому використанні. Вона включає:

1. Кваліфікацію типу фільтру.
2. Кваліфікацію процедури приготування випробовуваного розчину.
3. Кваліфікацію процедури приготування розчину порівняння.

На шостому етапі для дослідної серії, яка була повноцінно вивчена та призначена для трансферу процедури, було зведено бюджет невизначеності (технологічного та аналітичного варіювання):

1. Розраховано генеральне середнє значення КВ з усіх результатів аналізу – 98,9 %.
2. Розраховано максимальне відхилення одиничного значення від генерального середнього  $\Delta_{\Sigma} = 1,94$  %, яке включає аналітичне варіювання та технологічне варіювання.

Використовуючи бюджет варіювання та розроблену стратегію контролю, було розроблено дизайн експерименту для трансферу аналітичної процедури, який гарантує:

1. Коректність вибраного типу фільтруючого матеріалу.
2. Коректність пробопідготовки, а саме, що контрольовані чинники варіювання є під контролем в RU.
3. Коректність процедури розтирання таблеток, а саме, що наважка є репрезентативною.

4. Контроль прецизійності та правильності результатів аналізу, а саме, що експериментальні та шумові чинники варіювання повноцінно були вивчені в SU та передані знання про них до RU.

Проведено трансфер аналітичної процедури до RU у відповідності до запропонованого дизайну. Всі запропоновані критерії були виконані.

Новизна роботи полягає в наступному:

1. Вперше розроблено стандартизовану процедуру розробки аналітичної методики кількісного визначення, яка поєднує принципи «Life Cycle» та метрологічну концепцію ДФУ.

2. Вперше розроблено концепцію трансферу, яка, об'єднує всі етапи життєвого циклу аналітичної процедури, враховує специфіку об'єкту аналізу і технології, і використовує метрологічний підхід ДФУ для формулювання науково обґрунтованих критеріїв прийнятності.

3. Вперше застосовано рекомендований ДФУ прогноз невизначеності як інструмент виявлення чинників варіювання під час валідації аналітичної процедури.

4. Вперше розроблено алгоритм оцінки робастності технології по відношенню до параметрів технологічного процесу на лабораторних серіях з ціллю прогнозування технологічного варіювання для промислових серій.

5. Вперше сформульовано підхід до стратегії усереднення результатів, який дозволяє встановити мінімальну необхідну кількість одиниць ТДЛЗ для аналітичних процедур кількісного визначення АФІ, з яких проводиться усереднення проби, в залежності від технологічного варіювання.

6. Вперше сформульовано метрологічно обґрунтований критерій прийнятності встановлення середньої маси ЛЗ:  $\pm 1.5 \%$  від номінальної, який є необхідною передумовою для застосування «гарантуючих» меж вмісту.

Практичне значення роботи полягає в наступному:

1. Розроблено та валідовано аналітичні методики кількісного визначення та однорідність дозованих одиниць дезлоратадину.

2. Розроблену концепцію трансферу аналітичної процедури кількісного визначення впроваджено в практику вітчизняних фармацевтичних компаній ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» та ТОВ «Сперко».

3. Розроблений підхід до стратегії усереднення результатів, який дозволяє встановити мінімальну необхідну кількість одиниць ТДЛЗ для кількісного визначення АФІ в залежності від технологічного варіювання, впроваджено в практику розробки аналітичних методик вітчизняної фармацевтичної компанії ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ».

4. Розроблений алгоритм прогнозування технологічного варіювання для промислового випуску ТДЛЗ на стадії фармацевтичної розробки впроваджено в практику вітчизняних фармацевтичних компаній ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» та ТОВ «Сперко».

5. Результати досліджень оцінки робастності технології виробництва по відношенню до параметрів процесу, опрацьовані методом найменших квадратів у регресійному аналізі, включені до загального тексту Державної Фармакопеї України (ДФУ 2.4 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту<sup>N</sup>»).

6. Розроблений критерій прийнятності встановлення середньої маси ЛЗ відносно номінальної впроваджено в практику вітчизняної фармацевтичної компанії в рамках постійної верифікації процесу виробництва таблеток Амброксолу гідрохлориду на ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», з метою зменшення ризику випуску неякісної продукції.

*Ключові слова:* дезлоратадин, таблетки вкриті оболонкою, кількісне визначення, розробка методики, валідація методики, трансфер методики, цільова невизначеність, підхід ДФУ і підхід «Life Cycle».

#### *Список публікацій здобувача*

1. Леонтьев Д.А., Петрус В.В., Гризодуб А.И., Воловик Н.В. Количественное определение и однородность дозированных единиц: эффекты неоднородности и обеспечение качества. *Фармаком.* 2018. № 2. С. 45 – 55. (Особистий внесок – розробив алгоритм прогнозу технологічного варіювання на стадії фармацевтичної розробки, брав участь в підготовці статті).

2. Петрус В.В., Леонтьев Д.А., Воловик Н.В., Гризодуб О.І. Прогноз технологічного варіювання для промислового випуску таблеток дезлоратадину. *Фармаком.* 2019. № 1/2. С. 37 – 48. (Особистий внесок – розробка дизайну



експерименту, напрацювання лабораторних серій препарату, розробка та валідація аналітичних методик ОДО, виконання аналізу якості лабораторних серій ЛЗ, брав участь в узагальненні результатів та підготовці статті.

3. Гризодуб О.І., Підприжников Ю.В., Леонтьєв Д.А., Петрус В.В., Іванов Л.В. Пояснювальна записка до проекту розділу 12 «Застосування методу найменших квадратів у регресійному аналізі» загальної статті ДФУ 5.3.N.1. «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту<sup>N</sup>». *Фармаком*. 2019. № 1/2. С.9 – 24. (Особистий внесок – розробка дизайну лабораторного експерименту по дослідженню значущості впливу швидкості і сили пресування, напрацювання лабораторних серій препарату, одержання експериментальних результатів, брав участь в узагальненні результатів та підготовці статті).

4. Гризодуб А. И., Петрус В. В., Леонтьев Д. А., Воловик Н. В. Применение дисперсионного и регрессионного анализа для оценки технологического варьирования при производстве таблеток дипиридамола. *Фармаком*. 2020. № 1/2. С. 24 – 37. (Особистий внесок – розробка дизайну експерименту, напрацювання лабораторних серій препарату, одержання експериментальних результатів, брав участь в узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Leontiev D.A., Petrus V.V., Volovyk N.V., Gryzodub O.I. Validation of the spectrophotometric procedure for desloratadine assay in tablets applying the uncertainty concept of the state pharmacopoeia of ukraine. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. №6. P. 74 – 87 . (Особистий внесок – розробка дизайну аналітичної процедури, розробка плану та дизайну експерименту валідації аналітичної процедури, одержання експериментальних результатів, участь в узагальненні результатів та підготовці статті).

6. Leontiev D.A., Petrus V.V., Volovyk N.V., Gryzodub O.I. A study of the influence of the test sample inhomogeneity on variability in assay results of desloratadine in film-coated tablets. *Sciencerise*. 2020. №5. P. 43 – 51 (Особистий внесок – розробка плану та дизайну експерименту, одержання експериментальних результатів, участь в узагальненні результатів та підготовці статті).

7. Petrus V.V., Leontiev D.A., Volovyk N.V. Fundamentals of the acceptance criteria development for transfer of analytical procedures. *Актуальные проблемы современной*

*медицины и фармации 2017*: сб. тез. докл. LXXI Межд. науч.- практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Минск, 2017. С. 1516.

8. Leontiev D.A., Petrus V.V., Volovyk N.V., Gryzodub O.I. Validation of the desloratadine assay procedure: assessment of variation sources. *Фармация: наука, образование, инновации и производство» (с междунар. участием)*: материалы республиканской научно-практической конференции. г. Ташкент, 3 октября 2017. С. 9 – 10.

9. Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И., Воловик Н.В., Петрус В.В. Критерий приемлемости минимально допустимого числа таблеток для расчета результатов количественного определения. *Научный форум: медицина, биология и химия*: сб.ст. по материалам IX Междунар. науч.-практ. конф. – М.: Изд. «МЦНО». 2018. № 1(9). С. 72 – 78.

10. Leontiev D., Petrus V., Volovyk N., Gryzodub O. Development of the approach for method transfer for assay of desloratadine in film-coated tablets. *Acta Pharmaceutica Hungarica – CESPT Edition*. 2018. №3(88). P. 189 – 190.

11. Leontiev D., Petrus V., Volovyk N., Gryzodub O. Validation of the procedure for spectrophotometric determination of desloratadine in tablets in accordance with the uncertainty concept. *Innopharm 3: Proc. 3rd International Conference on Academic and Industrial Innovations: Transitions in Pharmaceutical, Medical and Biosciences, Goa, India, 22 – 23 October 2018*. P. 170.

12. Petrus V., Leontiev D., Volovyk N., Gryzodub O. An approach to method transfer for assay of desloratadine in film-coated tablets. *EDQM & European Pharmacopoeia: State-of-the-Art Science for Tomorrow's Medicines, Strasbourg, France, 19 – 20 June 2019*.

Режим доступа: [https://www.edqm.eu/sites/default/files/medias/fichiers/Events/edqm\\_european\\_pharmacopoeia\\_state-of-the-art\\_science\\_for\\_tomorrows\\_medicines\\_-\\_poster\\_session.pdf](https://www.edqm.eu/sites/default/files/medias/fichiers/Events/edqm_european_pharmacopoeia_state-of-the-art_science_for_tomorrows_medicines_-_poster_session.pdf) (дата звернення: 21.08.2020).

13. Петрус В.В., Леонтьев Д.А., Гризодуб О.І., Воловик Н.В. Гарантія якості продукції за показником кількісного визначення для твердих дозованих лікарських засобів. *Актуальні питання фармакопейного контролю якості лікарських засобів*: науково-практична конференція, м. Київ, 17 вересня 2019.

Режим доступа: [https://www.researchgate.net/publication/336916038\\_Garantia\\_akosti](https://www.researchgate.net/publication/336916038_Garantia_akosti)

\_produkcii\_za\_pokaznikom\_kilkisnogo\_viznacenna\_dla\_tverdih\_dozovanih\_likarskih\_zasobiv (дата звернення: 21.08.2020).

14. Петрус В.В., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І., Воловик Н.В. Прогноз технологічного варіювання на стадії фармацевтичної розробки для промислового випуску таблеток дезлоратадину. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Харків, 19-20 вересня 2019. С. 337 – 339.

15. Петрус В.В., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І., Воловик Н.В. Розробка концепції трансферу аналітичної процедури. *Управління якістю у фармації: XIV науково-практична конференція з міжнародною участю*, м. Харків, 22 травня 2020. С. 126 – 129.