



РАССЛЕДОВАНИЕ ОТКЛОНЕНИЙ ПРИ КОНТРОЛЕ ПРЕПАРАТА ПО ПОКАЗАТЕЛЮ "РОДСТВЕННЫЕ ПРИМЕСИ" МЕТОДОМ ВЭЖХ

Т. Р. Козак, О. С. Горячева

Татьяна Романовна Козак, магистр; Ольга Сергеевна Горячева, канд. хим. наук, доцент
Ярославский государственный технический университет, Ярославль, Россия, goryachevaoa@ystu.ru

Ключевые слова:

статины, гиполипидемическое действие, высокоэффективная жидкостная хроматография, родственные примеси, расследование отклонений

Аннотация. Изучено расследование отклонений при контроле лекарственного препарата по показателю «Родственные примеси» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Изучены родственные примеси лекарственного препарата. Рассмотрены три гипотезы, которые могли повлиять на конечный результат. Выявлено, что при выполнении процедуры подготовки пробы ошибку совершал персонал.

Для цитирования:

Козак Т.Р., Горячева О.С. Расследование отклонений при контроле препарата по показателю "Родственные примеси" методом ВЭЖХ // *От химии к технологии шаг за шагом*. 2023. Т. 4, вып. 2. С. 24-28. URL: <http://chemintech.ru/index.php/tor/2023-4-2>

Введение

Во время производства лекарственных препаратов, субстанция подвергается различным воздействиям, в результате которых возможны процессы распада или другие побочные реакции. В субстанции и готовых лекарственных препаратах могут присутствовать примеси – продукты распада и технологические примеси [1]. В соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи все фармацевтические субстанции должны подвергаться испытаниям по показателю «Родственные примеси». Должны быть установлены идентифицируемые и неидентифицируемые примеси. Устанавливаются пределы их содержания. В случае обнаружения отклонений от заданных пределов необходимо провести расследование отклонений при контроле качества лекарственного препарата. Эта процедура является неотъемлемой частью фармацевтической системы качества.

Выпуск лекарственных препаратов и субстанций в рамках требований Федерального закона от 12 апреля 2010 года № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» предполагает, что в них не может быть иных примесей, кроме тех, что естественным образом возникают в рамках нормального технологического процесса. Также не должно быть примесей, которые попали случайным образом, например, из-за плохой очистки технологического оборудования, так называемые посторонние примеси [1, 2].

Проанализировать наличие тех или иных посторонних примесей в лекарственном препарате или субстанции помогает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии [3, 4].



Основная часть

В качестве объекта исследования выбрана активная фармацевтическая субстанция (АФС) лекарственного препарата, обладающего гиполипидемическим действием. При испытаниях исследуемой фармацевтической субстанции по показателю «Родственные примеси» были обнаружены отклонения от значений, указанных в регламентирующей документации. Согласно существующим на фармацевтическом предприятии процедурам необходимо решить две задачи:

- установить, являются примеси идентифицируемыми или неидентифицируемыми;
- установить причину отклонения указанного показателя.

Для решения первой задачи необходимо разобраться, какие примеси будут родственными для испытуемой АФС. Объект исследования относится к группе статинов. Статины – это группа препаратов, основным механизмом действия которых является ингибирование 3-гидрокси-3-метил-глутарил-КоА-редуктазы (ГМГ-КоА), фермента, участвующего в синтезе холестерина (в основном, в печени). Ингибируя ключевой этап биосинтеза стеролов, статины являются основными препаратами, снижающими уровень холестерина и профилактирующими сердечно-сосудистые события [5].

Механизм действия рассматриваемого лекарственного препарата обусловлен ингибированием ГМГ-КоА редуктазы – фермента, лимитирующего стадии синтеза холестерина (ХС), снижающего выработку мевалоновой кислоты из ГМГ-КоА. Ингибирование ГМГ-КоА редуктазы приводит к увеличению количества рецепторов липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) на мембранах гепатоцитов и стимуляции катаболизма ЛПНП, а также к снижению уровня высокочувствительного С-реактивного белка. Помимо гиполипидемического действия розувастатин обладает и плеiotропными свойствами, включая ингибирование агрегации тромбоцитов, антикоагулянтное действие, уменьшение воспаления в атеросклеротической бляшке и улучшение функции эндотелия [6].

Анализ литературных данных [6] показывает, что для исследуемой ФС характерны следующие родственные примеси:

7-[4-(4-фторфенил)-6-изопропил-2-[N-метил(N-метилсульфонил)амино]пиримидин-5-ил]-(3R,5R)-3,5-дигидрокси-(E)-гепт-6-еновая кислота или анти-изомер (3R,5R). Данное вещество является технологической примесью.

7-[4-(4-фторфенил)-6-изопропил-2-[N-метил(N-метилсульфонил)амино]пиримидин-5-ил]-3R-дигидрокси-5-оксо-(E)-гепт-6-еновая кислота или 5-кетокислота – примесь является продуктом деградации.

6-[(E)-2-[4-(4-фторфенил)-6-изопропил-2-[N-метил(N-метилсульфонил)амино]пиримидин-5-ил]-винил]-4-гидрокситетрагидро-2H-пиран-2-он или лактон – технологическая примесь.

Проведение испытаний на обнаружение примесей осуществляют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для анализа приготовлены растворы для каждой серии: раствор для проверки пригодности системы и раствор для идентификации полученных на хроматограммах пиков.

В испытуемом растворе первой серии обнаружены две неидентифицированные примеси. Время удерживания (RT) первой 35 минут, она составляет 0,40% мас. Время удерживания второй 40 минут, она составляет 0,37% мас. Испытания второй серии выявили аналогичные неидентифицированные примеси: примесь RT 35 минут – 0,42% мас.,



с RT 40 минут – 0,40% мас. В нормативных документах установлено, что присутствие неидентифицированной примеси должно быть не более 0,2% мас. Таким образом, при проведении испытаний по показателю «Родственные примеси» обнаружены посторонние пики, которых ранее не было при испытаниях аналогичных серий. Их появление в результатах испытаний является отклонением и подлежит расследованию согласно установленной процедуре. Данные появления неидентифицированных примесей на хроматограммах представлены на рис. 1 и 2.

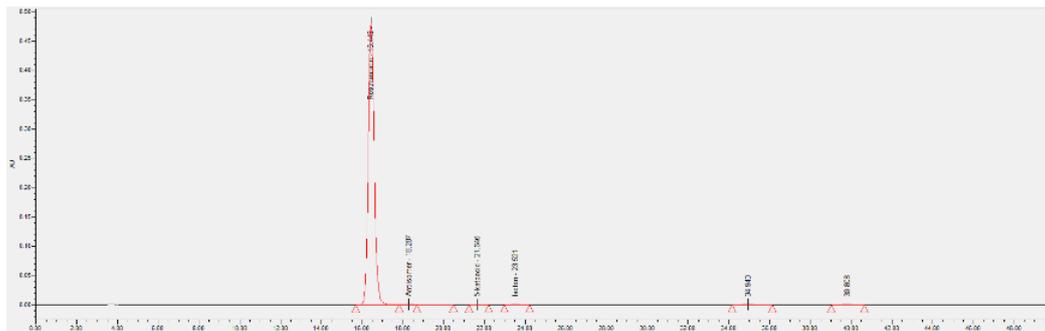


Рис. 1. Хроматограмма испытуемого раствора серии 1

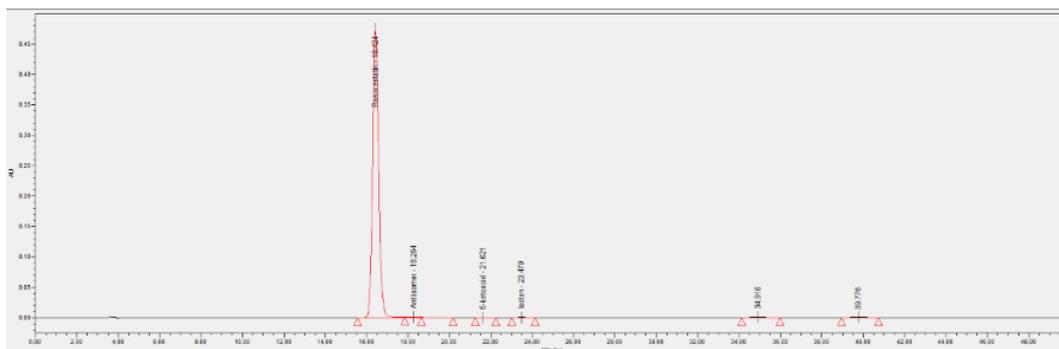


Рис. 2. Хроматограмма испытуемого раствора серии 2

Для проверки пригодности хроматографической системы (ППХС) [7] проведено дополнительное исследование. Хроматограмма проверки пригодности системы представлена на рис. 3, хроматограмма раствора для идентификации примесей – на рис. 4. На хроматограммах отсутствуют пики, обнаруженные на хроматограммах испытуемых серий. Следовательно, они не являются системными.

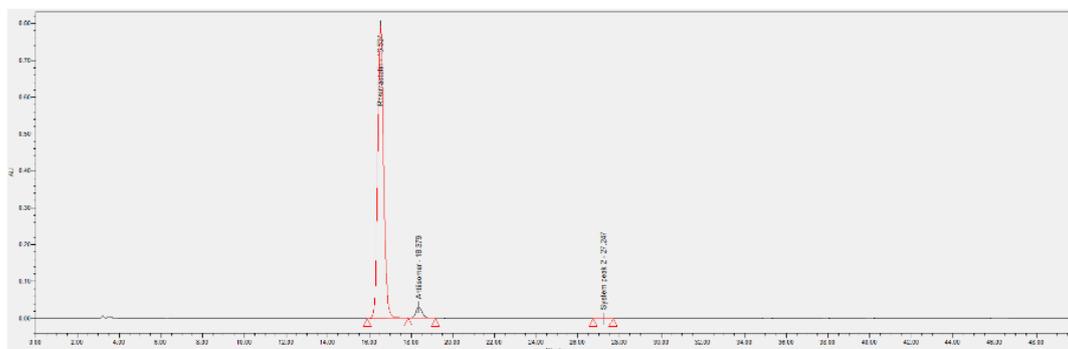


Рис. 3. Хроматограмма проверки пригодности системы

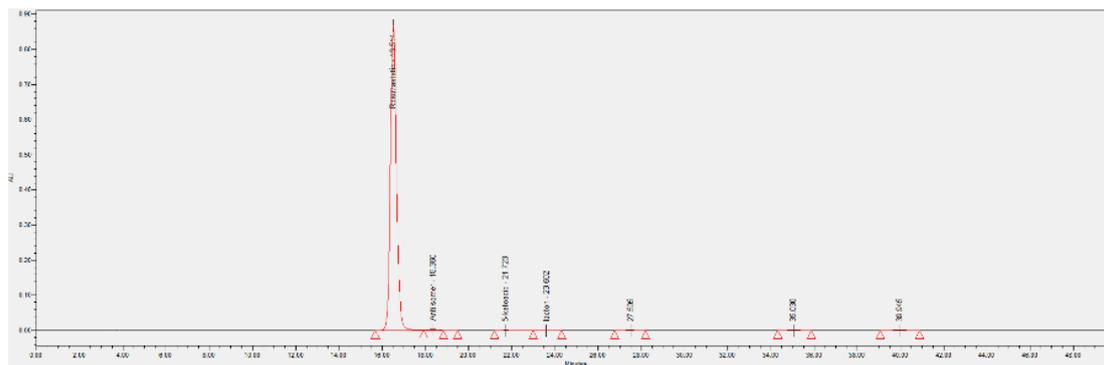


Рис. 4. Хроматограмма раствора для идентификации примесей

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что полученные пики не являются продуктом разложения активного вещества. Можно предположить, что примеси появляются в процессе пробоподготовки.

Выдвинули несколько гипотез появления неидентифицируемых примесей в результате загрязнения на этапе пробоподготовки:

Загрязнение происходит на стадии фильтрования.

Посуда для отбора проб (пипетки) были недостаточно очищены.

При испытаниях происходило загрязнение растворителя.

Для проверки выдвинутых гипотез отделом контроля качества проведено расследование.

Для проверки первой гипотезы исходные растворы были повторно профильтрованы через фильтр, который использовался для всех испытуемых растворов. Также повторно приготовлены конечные растворы и заколоты. На хроматограммах новых заколов данные пики не появились, что доказывает чистоту исходных испытуемых растворов. Вероятно, загрязнение произошло в процессе приготовления конечных растворов.

Для проверки второй гипотезы проведен анализ использования посуды для отбора пробы. Для разных дозировок исследуемого препарата пипетки использовались разные, соответственно, если бы использовали одну пипетку, то загрязнение было бы одной серии. Следовательно, влияние пипеток не доказано.

Третья гипотеза является наиболее вероятной – загрязненный растворитель. Предположили, что мог быть загрязнен растворитель, налитый в мерный пластиковый стакан для приготовления испытуемого раствора. На хроматограммах бланка, стандартных растворов и повторно отфильтрованных испытуемых растворов пики, относящиеся к неидентифицированным примесям, отсутствуют. Это доказывает, что исходный растворитель не содержит данных примесей. Это подтверждает чистоту исходных испытуемых растворов и загрязнение конечных растворов в процессе приготовления. При опросе сотрудников выяснили, для добавления растворителя в исходные и конечные испытуемые растворы использовались разные стаканы. Замечено, мерный стакан подписан маркером, который смывается не очень хорошо. Так как в состав растворителя входит метанол и ацетонитрил, то маркер мог хорошо раствориться. В раствор маркер мог попасть путем скопления у носика стакана при попадании растворителя на внешние стенки, что часто случается при добавлении растворителя в колбу. Для подтверждения этого предположения был заколот растворитель, которым была смыта со стакана надпись маркера.



В посудомоечной машине с держателем для мерных колб стаканы падают с держателей и остаются недомытыми. Таким образом, в результате расследования отклонений показателя «Родственные примеси» АФС выявлена ошибка персонала при приготовлении испытуемых растворов. Согласно фармацевтической системе качества необходимо провести повторное обучение персонала процедуре приготовления испытуемых растворов.

Выводы

При проведении испытаний АФС лекарственного препарата, обладающего гиполлипидемическим действием, были обнаружены отклонения по неидентифицируемым примесям. В ходе проведенного расследования было выдвинуто и проверены три гипотезы.

Выявлена наиболее вероятная причина – плохо промыты пластиковые стаканчики, в которые был налит растворитель, который в дальнейшем использовался для приготовления испытуемых растворов.

Таким образом, идентифицированным отклонением при проведении испытаний по показателю «Родственные примеси» является ошибка персонала при подготовке испытуемого раствора. Для предотвращения указанного отклонения необходимо провести повторное обучение данной процедуре.

Список источников

1. ICH Topic Q 3 B(R2). Impurities in new drug products. European Medicines Agency, 2006. 14 p.
2. **Емшанова С.В., Потанина О.Г., Буданова Е.В., Чистяков В.В.** Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.: ООО "ГАРАНТ", 2018. 1815 с.
3. **Рудаков О.Б., Восторов И.А., Федоров С.В., Филиппов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А.** Спутник хроматографиста. Воронеж: Водолей, 2004. 528 с.
4. **Илларионова Е.А., Сыроватский И.П.** Высокоэффективная жидкостная хроматография. Теоретические основы метода: учебное пособие. Иркутск: ИГМУ, 2018. 50 с.
5. **Полякова О.А., Остроумова О.Д.** Проблема выбора: оригинальный препарат или дженерик? Акцент на розувастатин // *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2022. 18(2) С. 225-230. DOI: 10.20996/1819-6446-2022-04-10. URL: <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2022-04-10>
6. **Вајај Т., Гиwa А.О.** Rosuvastatin // *Stat Pearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC, 2021.
7. **Эпштейн Н.А., Емшанова С.В.** О требованиях к пригодности хроматографической системы при контроле качества лекарственных субстанций и препаратов методом ВЭЖХ // *Химико-фармацевтический журнал*. 2018. № 11. С. 34-40.

Поступила в редакцию 24.05.2023

Одобрена после рецензирования 31.05.2023

Принята к опубликованию 16.06.2023