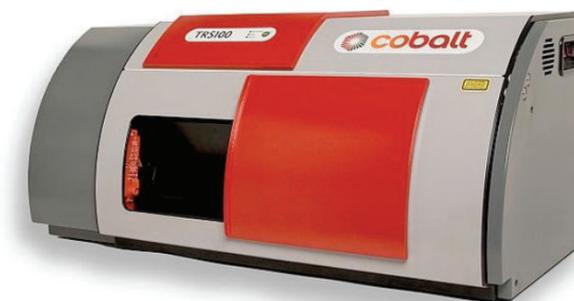




Трансмиссионная рамановская спектроскопия как альтернатива ВЭЖХ при выходном контроле качества партии (тесты на однородность дозирования (Conformity test) и полиморфизм (Polymorphism))

■ М.П. Румянцева, ООО «Си Си Эс Сервис»



Компания CCS Services / ООО «Си Си Эс Сервис» с 1992 года работает на российском рынке научного и лабораторного оборудования. Главная цель деятельности компании – обеспечение наших заказчиков и партнеров оборудованием высоко-го класса от лучших мировых производителей и безупречным сервисом.

Одно из важных направлений нашей работы – поставка и обслуживание оборудования для контроля качества фармацевтической продукции на всех этапах разработки, производства и реализации.

С 2012 года мы начали продвижение на российском рынке портативных рамановских спектрометров ThermoScientific TruScan для входного экспресс-контроля фармацевтических субстанций на стадии приемки на склад. Развивая тему рамановской спектроскопии и в поисках новых перспективных разработок, в 2015 году на выставке Pitcon, мы познакомились с английской компанией Cobalt Light – разработчиком спектрометров на основе новой технологии трансмиссионной рамановской спектроскопии для нужд QC лабораторий фармпредприятий.

Компания Cobalt Light (Великобритания) основана в 2008 году на основе государственной лаборатории, находится в крупнейшем бизнес-парке в районе Оксфорда, занимается разработками технологий на основе спектроскопии комбинационного рассеяния и производством коммерческих спектрометров на их основе для различных отраслей промышленности.

Для проверки качества фармацевтических продуктов предусмотрены различные тесты на всех этапах произ-

водства, начиная от приемки сырья на склад и заканчивая подтверждением качества готового продукта.

Фармакопейное законодательство требует контролировать качество каждой партии выпускаемой продукции, в том числе на количественное содержание АФИ в готовых лекарственных средствах (ГЛС) – однородность дозирования / conformity test (ГФ РФ XIII ОФС.1.4.2.0008.15) и полиморфизм (ГФ РФ XIII ОФС 1.1.0017.15)

Тест на однородность содержания необходим для подтверждения, что в каждой единице фармпрепарата соблюдается правильное содержание АФИ и соотношения ингредиентов.

Наиболее популярным методом контроля ГЛС на сегодняшний день, в том числе на полиморфизм и однородность, является ВЭЖХ, метод достаточно трудо- и ресурсозатратный.

Основные проблемные места метода ВЭЖХ:

- Для твердых ГЛС необходима подготовка проб
- Большое количество реагентов, в том числе токсичных, которые необходимо также утилизировать
- Необходимость иметь квалифицированного специалиста для работы на хроматографе
- Чувствительность к воспроизводимости условий анализа (хроматограф, колонка, растворитель...)
- Непосредственно один анализ занимает от 10 минут до часа.

Небольшая «пропускная способность» ВЭЖХ приводит к тому, что обычно только около 10 таблеток из партии (объемом несколько тысяч таблеток) подвергаются анализу.

Метод трансмиссионной рамановской спектроскопии (TRC), реализованный в лабораторном спектрометре Cobalt Light TRS-100, предлагает альтернативное решение



со значительным уменьшением времени анализа и его стоимости (в 5-10 раз в пересчете на один анализ).

Технология ТРС подразумевает анализ данных, полученных при прохождении излучения лазера через весь образец (источник и детектор находятся по разные стороны от образца), в отличие от классической спектроскопии комбинационного рассеяния (где измеряется отраженный от поверхности образца сигнал). При этом мощность лазера позволяет проходить через таблетки толщиной до 10 мм. При такой схеме получаемый сигнал (спектр) дает более полное представление о составе пробы по всему объему образца, что особенно важно при работе с многокомпонентными смесями.

С точки зрения организации математической обработки данных, ТРС близка к БИК-спектроскопии:

- **Необходимо создать собственную спектральную библиотеку**
- **Количественные измерения основаны на хемометрике (математической модели связей между спектром и составом)**
- **Необходимость валидировать метод.**

С помощью спектрометра **Cobalt TRS 100** за 20-40 минут можно проанализировать 100-200 таблеток, капсул, порошков (в среднем около 10 секунд на ед.), что эквивалентно нескольким дням при анализе с помощью ВЭЖХ.

Метод ТРС, реализуемый в спектрометре Cobalt TRS 100, также может быть использован в качестве альтернативы методам рентгено-структурного анализа при определении кристаллических форм АФИ в ГЛС. При этом чувствительность метода ТРС лучше, чем для XRPD и сравнима по чувствительности с методом твердофазного ЯМР. Кроме того, ТРС имеет значительное преимущество по скорости анализа.

Спектрометр полностью автоматизирован, прост в использовании, не требует реактивов, поэтому претендует стать достойной альтернативой методам на основе ВЭЖХ, особенно для твердых дозированных лекарственных форм.

Принцип измерения с помощью метода трансмиссионной рамановской спектроскопии: целые таблетки или капсулы загружаются в специальные подставки-держатели и помещаются в спектрометр, где происходит последовательное сканирование каждого образца (менее секунды на образец).

Анализ делается полностью автоматически и контролируется программным обеспечением.

Каждый образец анализируется индивидуально, а также собирается статистика по всей серии. Все результаты выводятся в виде отчета на экран и на принтер.

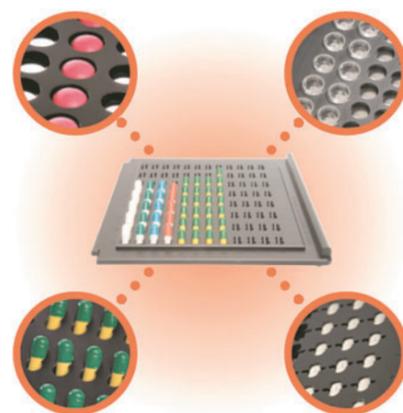
Спектрометр Cobalt TRS100 имеет регулируемую площадь засветки (до 8 мм), что позволяет работать с таблетками разных форм, а также капсулами и порошками. Площадь засветки и приемное окно детектора настраивается в зависимости от размера исследуемых образцов.

Так как пятно лазера в методе ТРС широкое – мощность излучения распределяется практически по всей поверхности таблетки (в отличие от традиционного измерения рамановского рассеяния) и термического воздействия на таблетки (даже при максимальной мощности лазера) не возникает.

Поскольку твердые ГЛС могут быть разнообразной формы и размера, компания Cobalt Light предлагает большой выбор стандартных держателей с ячейками разной формы. Площадь одного держателя около 300 см², что позволяет разместить на нем от 100 до 200 таблеток / капсул. Держатели устанавливаются в спектрометр быстро и удобно, фиксация за счет магнитных клипс.

Калибровка прибора представляет собой создание хемометрической модели для сопоставления набора рамановских спектров таблеток и концентраций в них АФИ и других интересующих ингредиентов, полученных референсным методом (обычно ВЭЖХ).

Для калибровки готовятся «обучающие» смеси на основе рецептур ГЛС с концентрациями АФИ в диапазоне 70-130% от нормы. Для расширения вариативности составов и улучшения калибровочной модели также могут быть изменены концентрации наполнителей как относительно АФИ, так и относительно друг друга.



Из подготовленных смесей прессуются таблетки того же диаметра и веса, как и готовые таблетки на производстве. Для валидации метода (хемометрической модели) используются таблетки из той же серии, не вошедшие в построение модели, с их последующим анализом на ВЭЖХ. Дополнительно тестируются образцы с концентрацией АФИ вне диапазона калибровки, либо с замененными ингредиентами – для подтверждения, что подобные нарушения будут обнаружены при использовании данной хемометрической модели.

Управление спектрометром TRS100 осуществляется с помощью программного пакета Cobalt ContentQC на платформе Windows. ПО удовлетворяет требованиям фармакопейного анализа, в том числе 21CFR part 11.

- **Встроенный модуль хемометрического анализа (для обработки калибровочных данных и построения модели) Eigenvector Solo prediction engine**
- **Настраиваемый доступ для разграничения уровня пользователей**
- **Защищенный audit trail и возможность встраивания в LIMS. Встроенные формы отчетов**

Поскольку технология является инновационной, то потребуется некоторое время на её добавление к уже утвержденным методам выходного контроля (ВЭЖХ и ТСХ) и внесение изменений в регистрационные досье. Однако, в последнее время регуляторные требования становятся более гибкими, и вероятно, данная технология уже скоро будет отнесена к типу изменений IV.

В настоящее время метод трансмиссионной рамановской спектроскопии получил одобрение Британского Агентства по регулированию лекарственных средств и медицинских изделий, как альтернативный метод контроля на стадии выпуска готовой продукции.

Компания Actavis UK (<http://www.actavis.co.uk/>)¹ одна из первых рассмотрела возможность использования трансмиссионной рамановской спектроскопии для выходного контроля ГЛС.

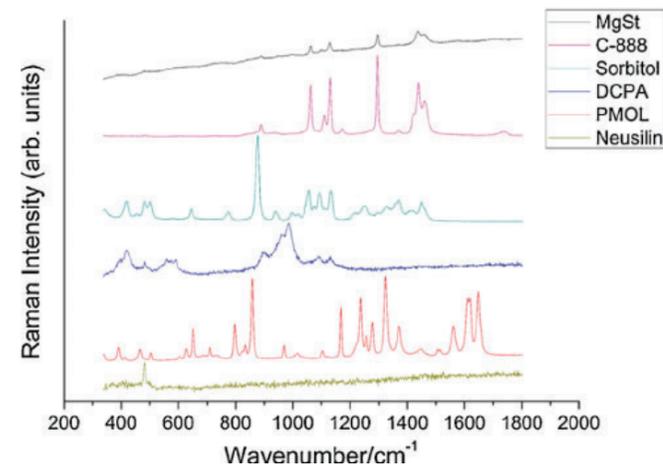
Этот метод был выбран среди других благодаря своим преимуществам:

- **Полностью неразрушающий контроль без предварительной подготовки проб и без каких-либо дополнительных реагентов.**
- **Быстрота (анализ держателя емкостью 100 таблеток занимает 20-30 минут).**
- **Большая пропускная способность.**

Был разработан и валидирован тестовый метод ТРС для количественного контроля содержания АФИ с целью контроля однородности дозирования таблеток. Все работы проводились на спектрометре TRS100 Cobalt Light (лазер 830 нм, мощность на образец 0,65Вт; регулируемая площадь засветки – до 8 мм), в котором площадь засветки и приемное окно детектора настраивается в зависимости от размера исследуемых образцов.

Предварительная подготовка и методология

До начала сбора спектральных данных по рамановскому рассеянию была проведена оценка технических условий работы спектрометра, такие, как время засветки, необходимое для получения данных достаточной точности, размер пятна лазера и мощность лазера, при которой возможно потенциальное термическое повреждение образца (в некоторых случаях при работе с темными образцами термическое повреждение может иметь место при работе с традиционными рамановскими спектрометрами из-за точечной концентрации излучения).



С учетом того, что пятно лазера (мощность воздействия) в методе ТРС распределяется по всей поверхности таблетки (в отличие от традиционного измерения

рамановского рассеяния) термического воздействия на таблетки даже при максимальной мощности лазера выявлено не было.

Для работы были выбраны таблетки с одним действующим АФИ и несколькими наполнителями. Каждый Рамановский спектр представляет собой зависимость интенсивности света в определенном диапазоне длин волн. На большей части диапазона возможно наложение спектров от разных составляющих смеси ГЛС, поэтому, в отличие от метода ВЭЖХ, не представляется возможным сопоставить количество АФИ в смеси от размера (высоты) какого-либо из пиков спектра. Вместо этого используется хемометрическая модель для сопоставления набора рамановских спектров всей таблетки и концентрации в них АФИ (при этом не требуются отдельные спектры чистых АФИ и ингредиентов). Концентрации АФИ получены референсным методом ВЭЖХ.

При математической обработке спектров минимизируются спектральные вариации, не связанные с концентрацией АФИ (коррекция базовой линии, нормализация и т.д.) и максимально выделяются спектральные вариации, которые действительно связаны с концентрацией АФИ.

Для валидации метода (хемометрической модели) были использованы таблетки из той же серии, не вошедшие в построение модели, с их последующим анализом на ВЭЖХ.

Также в процессе валидации были протестированы несколько образцов с концентрацией АФИ вне диапазона калибровки, либо с замененными ингредиентами – чтобы удостовериться, что подобные нарушения будут обнаружены при использовании хемометрической модели.

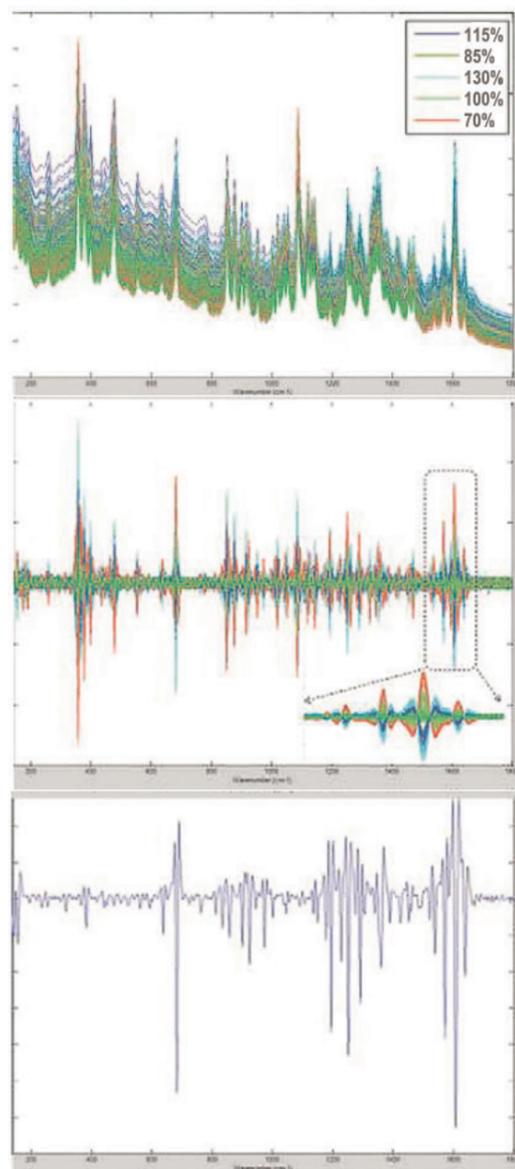
Калибровочные смеси

Для разработки метода ТРС в лаборатории были подготовлены два набора таблеток:

■ **калибровочный (обучающий) набор:** таблетки с содержанием АФИ 5 мг (что соответствует концентрации от 5 до 10 % АФИ по весу в готовой таблетке). Для калибровки были подготовлены смеси с концентрацией АФИ на уровне 70%, 85%, 115 % и 130% от номинального содержания (в лабораторных масштабах, около 75 г каждой смеси). Также для расширения вариативности составов и улучшения калибровочной модели были изменены концентрации наполнителей как относительно АФИ, так и относительно друг друга. Затем из подготовленных смесей были спрессованы таблетки того же диаметра и веса, как и готовые таблетки на производстве. Несколько образцов из производственной линии с номиналом АФИ 100% также были добавлены в калибровочный набор.

■ **Тестовый (проверочный или валидационный) набор:** таблетки для валидации модели были приготовлены с номинальной концентрацией АФИ 70, 85, 115 и 130 % и изменениями с соотношением наполнителей. Конечные составы валидационного набора таблеток несколько отличались от калибровочного набора. Дополнительно в него были добавлены готовые таблетки с производственной линии из разных серий, таблетки с плацебо и две лабораторные смеси с неправильным соотношением ингредиентов, чтобы убедиться, что в рамках разработанной хемометрической спектральной модели данные «некорректные» таблетки будут отбракованы.

¹ По материалам статьи в European Pharmaceutical Review 2015 ISSUE 3 Vol.20

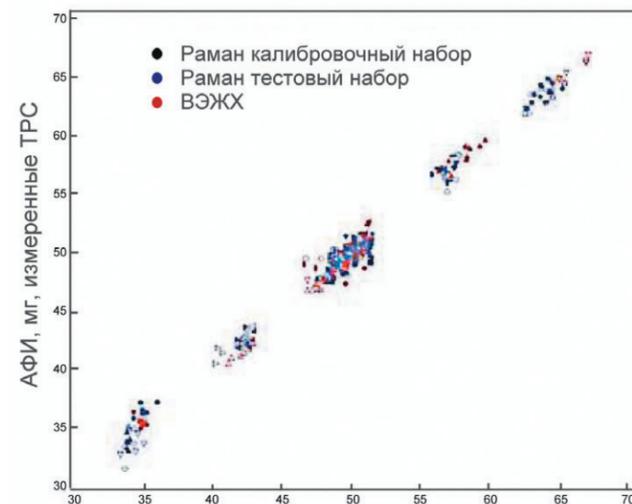

Результаты и обсуждения

Данные для демонстрации возможности использования предлагаемого метода ТРС наряду с утвержденными для контроля серии методами ВЭЖХ были представлены в виде концентраций АФИ в лабораторной смеси (массовые %), полученные с помощью хемометрической модели и количества АФИ на таблетку, рассчитанное как массовый %АФИ в пересчете на массу таблетки.

Результаты, полученные с помощью Cobalt TRS 100 для индивидуальных таблеток, были соотнесены с данными измерения аналогичных таблеток методом ВЭЖХ. Для увеличения выборки одному результату ВЭЖХ на графике сопоставлялся средний результат измерения 10 таблеток с помощью рамановской спектроскопии. Полученные результаты показали, что метод ТРС является достаточно точным методом для замены метода ВЭЖХ на стадии контроля качества при выпуске продукта.

Помимо стандартно оговоренных в указаниях ICH условий принятия, валидация метода ТРС включала:

- расчет стандартной ошибки прогнозирования рамановского метода, как это требуется по рекомендациям БИК-спектроскопии;



АФИ, мг, измеренные ВЭЖХ

- сравнение разброса результатов ВЭЖХ и Раман спектроскопии, так как метод предназначен для оценки однородности;
- описание латентных переменных хемометрической модели и влияние на них состава образца;
- распределение процентного отношения стандартного отклонения при повторных измерениях отдельных таблеток методом комбинационного рассеяния свет.

Заключение и дальнейшие планы

Основные усилия при использовании описанного метода направлены на процедуру подготовки правильного набора стандартных образцов и построение хемометрической модели, которая описывает соответствие рамановских спектров ГЛС и количественное содержание АФИ, а также в подготовке нормативных документов.

В настоящее время несколько крупнейших фармацевтических компаний (Actavis UK, Bristol-Myers, Janssen, GSR, AbbVie) проводят обсуждения с Британским Агентством по контролю за медицинскими изделиями с целью утверждения регулирующих документов для метода трансмиссионной рамановской спектроскопии, реализованного на Cobalt TRS 100, в качестве метода выходного контроля ГЛС (тесты на однородность и полиморфизм) как альтернативу методу ВЭЖХ, позволяющую значительно сократить время и стоимость вывода ГЛС на рынок.

По экспертным оценкам, трансмиссионная рамановская спектроскопия для теста на однородность позволит сократить затраты на анализ одной серии на однородность и полиморфизм в среднем на сумму от 500 до 1000 \$.

Метод трансмиссионной рамановской спектроскопии видится нам интересным и перспективным для выходного контроля партий и мы надеемся, что со временем он займет достойное место в каждом из ОКК.

Компания CCS Services будет рада предоставить подробные статьи и отчеты по использованию лабораторных спектрометров Cobalt TRS100 для контроля качества различных лекарственных средств, методологии трансмиссионной рамановской спектроскопии, а также по любому другому типу оборудования, представляемому нашей компанией.
<http://www.ccsservices.ru>

**БУДЬТЕ УВЕРЕНЫ
В РЕЗУЛЬТАТЕ
ОТ И ДО**



**технологии
рамановской спектроскопии
для входного и выходного
контроля на фармацевтических
производствах**

**экспрессный неразрушающий
метод контроля качества
лекарственных средств**

*Российская Фармакопея XIII
ОФС 1.2.1.1.0009.15*



Неразрушающий входной экспресс-контроль АФИ, наполнителей, вспомогательных веществ на подлинность. Анализ без вскрытия первичной упаковки (порошки, жидкости, таблетки). Автономная работа в условиях склада до 5 часов. Возможность анализа смесей. Портативные рамановские анализаторы **Thermo Scientific TruScan**.

Thermo
SCIENTIFIC

cobalt
Insight from Light

Трансмиссионная рамановская спектроскопия для контроля ГЛС на однородность дозирования (Conformity Test) и полиморфизм в лабораторных спектрометрах **Cobalt Light TRS-100**. Неразрушающий контроль порошков, таблеток, растворов. Без реактивов и пробоподготовки. Альтернатива ВЭЖХ. Анализ до 100 лекарственных форм за 30 минут.

Ждем Вас на нашем стенде A129 на выставке PHARMTECH / ФАРМТЕХ-2016, 22-25 ноября 2016, Москва, МВЦ «Крокус-Экспо», павильон 2, зал 7

РЕКЛАМА **CCS SERVICES**

CCS Services – эксклюзивный партнер Thermo Scientific PAI и Cobalt Light на территории России
 ООО «Си Си Эс Сервис» – центральный офис и сервисный центр
 Москва, ул. Ивана Франко, д. 48Г, стр.4
 тел. +7 (495) 626 59 43, факс (495) 564 80 52, e-mail: info@ccsservices.ru, <http://www.ccsservices.ru>