

رفرانس استانداردها



دکتر سعید غیایی

بخش تحقیقات و کنترل شرکت داروسازی جابرین حیان

■ مقدمه

استانداردها را به عنوان نمونه‌هایی از مواد موثره دارویی، مواد جانبی دارویی، ناخالصی‌ها، محصولات ناشی از تخریب شیمیایی، مکمل‌های دارویی معرف‌های فارماکوپه‌ای، کالیبراتورهای تعیین‌کننده کارایی معرفی نموده که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن‌ها مشخص و توصیف شده است.

آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت در صنایع دارویی تنها واحد تعیین مناسب بودن مواد اولیه، مواد بسته‌بندی، مواد بینابینی و محصولات نهایی دارویی بوده و در تعیین کیفیت مناسب مواد نقش اساسی دارند. در آزمایشگاه‌های متعدد کنترل کیفیت، رفرانس استانداردها برای تایید آزمایشات مربوطه و کاهش خطاها دارای اهمیت به سزایی می‌باشند.

■ موارد استفاده رفرانس استانداردهای USP

رفرانس استانداردها در USP برای تکمیل آزمایشات مشخص شده و انجام یک سری آزمایشات عمومی مواد دارویی استفاده می‌شوند.

■ رفرانس استاندارد چیست؟

فارماکوپه ایالات متحده (USP) رفرانس

این آزمایشات عبارتند از:

- آزمایشات کیفی مانند شناسایی مواد، آزمون تناسب سیستم، اثبات وجود مواد دارویی در سیستم‌های کروماتوگرافی و اسپکتروسکوپی
- آزمایشات کمی در تعیین مقدار ماده موثره دارویی، محصولات دارویی، آزمون حد، به عنوان شاهد و کنترل

■ صحت‌گذاری در کارایی دستگاه‌ها مثلاً استانداردهای تعیین نقطه ذوب مواد.

اگرچه رفرانس استانداردهای USP در بیشتر موارد برای تعیین مقدار ماده موثره دارویی استفاده می‌گردند اما هرگز به عنوان دارو برای انسان یا حتی حیوانات تجویز نمی‌شوند.

■ شرایط نگهداری رفرانس استانداردهای USP

به طور کلی رفرانس استانداردهای USP باید در ظروف درب بسته با درپوش پلاستیکی محکم به دور از گرما، نور، رطوبت همان طوری که در برچسب آن ذکر شده است، نگهداری شوند.

■ Certified Reference Material

CRMها در حقیقت همان رفرانس استانداردهای USP هستند که شجرنامه کاملی داشته و در واقع نسل جدیدی از رفرانس استانداردها بوده که علاوه بر آزمایشات لازم، یک سری آزمایشات اضافی بر مبنای روش‌های مترولوژی و محاسبات آماری نیز بر روی آن‌ها انجام می‌شود.

CRMها دارای برگ آنالیزی بوده که در آن به طور کامل آزمایشات کمی با محاسبه عدم قطعیت تاریخ انقضا و دیگر اطلاعات لازم که قابل ردیابی است، ذکر شده است.

۱ - ۶ - چگونه می‌توان از CRM استفاده کرد؟

از آن جایی که CRMهای USP همان رفرانس استانداردهای USP هستند به همان طریقی که از رفرانس استانداردها استفاده می‌شود می‌توان آن‌ها را نیز به کار برد. یعنی با مراجعه به تک نگار

■ مدت زمان قابل استفاده بودن رفرانس استانداردهای USP

هیچ کدام از رفرانس استانداردهای USP در زمانی که در بازار توزیع و مصرف می‌شوند دارای تاریخ انقضا نمی‌باشند یک شماره سری ساخت (lot number) تا زمانی که در کاتالوگ USP به عنوان شماره سری ساخت جاری (Current number) و یا با ذکر تاریخ اعتبار جهت استفاده مجدد (Valid Use Date) فهرست شده باشد، قابلیت مصرف در انجام آزمایشات فارماکوپه‌ای را داراست. با مراجعه به سایت USP این فهرست را می‌توان مشاهده نمود.

■ برچسب رفرانس استانداردهای USP

برچسب حاوی رفرانس استانداردهای USP اطلاعات لازم برای استفاده صحیح از آن را به



فارماکوپه و دستورالعملی که بر روی برچسب آن ذکر شده است، قابلیت مصرف دارند.

■ رفرانس استانداردهای USP چگونه ساخته می‌شود؟

رفرانس استانداردها به همان روشی که ماده دارویی ساخته می‌شود، تولید می‌گردند در هر صورت چه این رفرانس استاندارد توسط شرکت‌های دارویی واسطه یا شرکت‌های دارویی اصلی تولید شوند باید خصوصیات آن به طور کامل مشخص و مطابق با استانداردهای فارماکوپه‌ای باشد. از طرفی یک رفرانس استاندارد بالاترین درجه خلوص را دارد، یعنی ماده دارویی تولیدی باید بیشتر خالص‌سازی شده و مراحل خالص‌سازی آن نیز طبق قوانین و استانداردهای لازم باشد.

□ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به روش Preparative

در تولید فرآورده‌های دارویی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به روش Prep. به عنوان یک ابزار اساسی در خالص‌سازی مواد دارای اهمیت ویژه‌ای است که می‌تواند در تولید و توسعه مواد دارویی بی‌عیب و نقص و یا به عنوان یک قسمت مهم از مرحله ساخت و تولید دارو مورد استفاده قرار گیرد.

به جرات می‌توان گفت HPLC PreP یک روش قدرتمند و قابل قبول برای انجام خالص‌سازی در صنعت داروسازی است.

به عنوان مثال برای جداسازی مواد با قطبیت متفاوت و یا برای کاهش مقدار یکی از انانتیومرها در مخلوط راسمیک می‌توان از این روش استفاده

نمود.

البته در بعضی از موارد روش نوبلور کردن (کریستالیزاسیون) نمونه به جای این روش برای خالص‌سازی ترجیح داده می‌شود.

نکته مهم این است که کروماتوگرافیست‌ها باید ناخالصی‌های مواد دارویی را در مرحله توسعه داروی مورد نظر، زمانی که این مواد طبق اصول GMP تولید نشده‌اند، تشخیص و رفع عیب نمایند.

معمولاً این جداسازی‌ها در مقیاس آزمایشگاهی با ستون‌هایی با قطر ۵ یا ۶ سانتی‌متری و در واحد تولید با ستون‌هایی با قطر ۱۵ تا ۳۰ سانتی‌متری انجام می‌گیرد.

در جداسازی و خالص‌سازی با روش HPLC Prep، استفاده از فاز نرمال همیشه اولین انتخاب بوده است زیرا:

■ انتقال سیستم از فاز نرمال TLC یا HPLC به مرحله با LC Prep امکان‌پذیر است.

■ قیمت مواد پرکننده ستون‌های فاز معکوس بسیار بالا بوده و بعضی از این مواد در بازار غیر قابل دسترس می‌باشند.

■ شستشوی فاز ساکن در نوع نرمال آسانتر بوده زیرا این پرکننده‌ها مقاومت فیزیکی بیشتری دارند.

■ جداسازی و خارج نمودن حلال‌های آلی که در کروماتوگرافی فاز نرمال استفاده می‌شود از محلول فرآورده نهایی در مقایسه با کروماتوگرافی فاز معکوس که آب می‌باشد، آسانتر است، زیرا این امر در دمای پایین (مصرف پایین انرژی) صورت گرفته و محصولی با کیفیت بهتر به

دست می‌آید.

اگر آنالیزها بتوانند از نانو - فیلتراسیون در روش کار خود استفاده کنند در آن صورت روش کروماتوگرافی با فاز معکوس کارتر و بهتر عمل نموده و این نوع روش بیشتر مورد توجه خواهد بود.

در بعضی از موارد به دلیل وجود مشکلات خاص در جداسازی‌ها از یک فاز ساکن حاوی مواد کایرال یا حتی فازهای ساکن بسیار اختصاصی استفاده می‌شود.

■ نگهداری و آشکارسازی ناخالصی‌ها

ناخالصی معمولاً به سه دسته ناخالصی‌های آلی (که در فرآیند تولید به عنوان مواد وابسته مطرح هستند)، مواد معدنی، حلال‌های باقیمانده که در تولید مواد دارویی، محصول دارویی تمام شده، ماده جانبی و یا به هنگام نگهداری این سری مواد به وجود می‌آیند، معرفی می‌گردند.

ناخالصی‌ها در کل فرآیند تولید باید کنترل شوند ناخالصی‌هایی که مربوط به مراحل تولید بوده باید در حد کمترین مقدار باشند تا از تخریب و اثرهای دارویی ناخواسته جلوگیری شود.

به عنوان مثال ترکیباتی که مستعد هیدرولیز شدن هستند باید کاملاً خشک شده و در یک دسیکاتور مخصوص نگهداری شوند.

آن دسته از رفرانس استانداردهایی که حاوی درصد بالایی از ناخالصی‌های فرار هستند ممکن است خلوص‌شان در بیشتر مواقع هنگام تبخیر حلال‌ها تغییر کند. مثلاً استون که حلال کلاس ۳ است و حد مجاز آن طبق راهنمای ICH و

USP، معادل ۵۰۰۰ppm یا ۰/۵ درصد است ممکن است به دلیل فرار بودن به هنگام نگهداری مقدار آن تغییر نموده که به دنبال آن خلوص ماده رفرانس استاندارد نیز تغییر خواهد کرد برای محدود کردن میزان ناخالصی‌ها به مثال زیر توجه فرمایید:

یک رفرانس استاندارد که دارای ۹۰ درصد خلوص است ۱۰ درصد ناخالصی آن باید شناسایی و در طول عمر قفسه‌ای ماده این ناخالصی‌ها باید پیگیری و ردیابی شده و تعداد بیشتری آزمایشات تجزیه‌ای نیز برای اطمینان انجام شود زیرا ممکن است با افزایش دوره‌های پایداری ماده دارویی مقدار این ناخالصی تغییر کند.

حال اگر رفرانس استاندارد خلوص ۹۹/۹ درصد داشته باشد کمتر در معرض تجزیه و کاهش پتانسی است و نیازی به خلوص‌سازی بیشتر ندارد. چنین محصولی به طور موثرتری مورد بررسی دوره‌ای قرار گرفته و از طرفی درصد خطای تصادفی و سیستماتیک ناشی از روش تجزیه‌ای ترکیبی ماده نیز کاهش می‌یابد.

اگر رفرانس استاندارد به صورت نمک باشد باید درصد مقدار نمک تعیین شده سپس خلوص ماده رفرانس استاندارد با توجه به وزن مولکولی آن تصحیح گردد.

توصیه می‌گردد که رفرانس استانداردها ترجیحاً به فرم نمک آن نبوده تا نیازی به انجام آزمایشات اضافی جهت تعیین ناخالصی‌ها و خلوص ماده دارویی نباشد. کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) اغلب می‌تواند اطلاعات مفیدی در زمینه خلوص مواد در مرحله تولید آزمایشگاهی ارائه دهد.

در کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) فاز ساکن یک لایه سیلیکا بر روی صفحه شیشه‌ای و یا یک کاغذ مخصوص و فاز متحرک آن معمولاً تولوئن یا متانول است.

مبنای کار براساس خاصیت موئینگی بوده آشکارساز آن معمولاً چشم انسان و در بعضی از موارد لامپ ماورای بنفش (UV) می‌باشد و اساس جداسازی در TLC بر مبنای سهم متفاوت در توزیع مواد بر روی سیلیکا با حلال است. البته با کمک TLC می‌توان مقادیر بسیار زیاد از ترکیب مورد نظر را هم استخراج نمود در آن صورت روش کار به نام روش آماده‌سازی یا مقدماتی با کروماتوگرافی با لایه نازک Preparative-TLC خواهد بود.

□ ناخالصی‌های فرار

تعیین ناخالصی‌های فرار بیشترین چالش از نظر توسعه یک روش تجزیه‌ای مناسب را داشته زیرا این ناخالصی‌ها در ابتدا ممکن است یک نوع باشند اما در مسیرهای تجزیه‌ای متفاوت ترکیبات متنوعی را در دوره‌های بررسی دارو از خود نشان می‌دهند در واقع این ترکیبات ناخالص معمولاً هنگام سنتز یا خالص‌سازی و یا نگهداری ماده دارویی به وجود آمده که باید حتماً شناسایی و تعیین مقدار شوند. آزمایشات short-term (بر مبنای آزمایشات تخریبی با ایجاد شرایط غیر عادی)، آزمایشات long-term (ارزیابی تحت شرایط تسریع شده accelerated) و انجام یک سری آزمایشات تحت استرس (Stress test)، می‌تواند در مرحله توسعه دارویی برای ارزیابی و کاهش میزان ناخالصی‌ها (محصولات ناشی از تخریب حین نگهداری) و در

نهایت تعیین مقدار آن‌ها انجام شود. طراحی تست‌های تحت شرایط غیر عادی در حالت long term بستگی به شرایط نگهداری نهان شده‌ی ماده دارویی مربوطه دارد.

برای تعیین مقدار و شناسایی این ناخالصی‌ها می‌توان از دستگاه‌های HPLC و UV استفاده کرد و همچنین ترکیبات حاصل از تخریب و ترکیبات وابسته فرآورده‌ی دارویی مورد نظر را می‌توان از درصد سطح زیر منحنی یا از پاسخ نسبی با استفاده استاندارد مربوطه ارزیابی نمود.

از این تکنیک می‌توان برای به دست آوردن اطلاعاتی که وابسته به مقدار ناخالصی‌ها، ترکیبات وابسته و مسیر تخریب شدن ماده رفرانس استاندارد می‌باشد، استفاده کرد.

میزان دقت و کارایی در ارزیابی خلوص ماده با استفاده از درصد سطح زیر منحنی در مقابل فاکتور پاسخ نسبی ماده نسبت به استاندارد مربوطه با توجه به مثال زیر نشان داده می‌شود:

اگر یک تجزیه نشان دهد که مقدار ناخالصی در حدود ۰/۰۵ درصد و فاکتور پاسخ نسبی آن نصف میزان استاندارد است، (مقدار ناخالصی پاسخ ۵۰ درصدی در مقایسه با مقدار اکی والان خود با استاندارد دارد) مقدار ناخالصی واقعی در حدود ۰/۱ درصد خواهد بود. این مقدار ناخالصی بر روی نتایج ممکن است تاثیر چندانی نداشته باشد. اما اگر در اندازه‌گیری بر مبنای درصد سطح زیر منحنی مقدار ناخالصی ۱ درصد باشد در حقیقت ۲ درصد ناخالصی واقعی داشته که بر روی نتایج تاثیر به سزایی خواهد داشت.

تئوری تعیین فاکتور پاسخ نسبی برای هر

بررسی‌های دوره‌ای بعدی نمی‌باشد.

□ حلال‌های باقیمانده

مقدار حلال‌های باقیمانده هنگام توسعه ماده رفرانس استاندارد باید ارزیابی و مقدار آن با توجه به بازنگری به مسیر سنتز و نوع حلال به کار رفته تعیین شود.

ممکن است حلال‌های باقیمانده خاصی در فرآیند تولید ماده ایجاد شود که نیاز به آزمایشات خاص داشته باشد به طوری که این آزمایشات طبق روش‌های گفته شده در فارماکوپه قابل انجام نبوده و یا حلالی غیر از حلال‌های ذکر شده در فارماکوپه باشد در آن صورت باید روش خاص این آزمایشات برای تعیین مقدار این نوع حلال‌ها معتبرسازی گردد.

اگر ثابت شود که در اولین بررسی آن‌ها مقدار حلال‌های باقیمانده کمتر از حد مجاز بوده است نیاز به تجزیه بیشتر در بررسی‌های دوره‌ای بعدی نمی‌باشد.

اما اگر مقدار حلال باقیمانده بر روی خلوص ماده تاثیر به سزایی بگذارد باید آن در هر بررسی دوره‌ای حلال مورد نظر ارزیابی و شناسایی شود.

■ منابع تولیدکننده رفرانس استانداردها

رفرانس استانداردها می‌تواند به صورت منابع اولیه یا فارماکوپه‌ای (Compendial) و یا به صورت منابع ثانویه یا غیر فارماکوپه‌ای (Non compendial) تولید و به بازار عرضه شوند.

منابع اولیه یا فارماکوپه‌ای (compendial) شامل:

ناخالصی یک فرآیند بسیار دقیق است اما نیاز به توسعه بیشتر داشته زیرا هر جز ناخالصی باید کاملاً جدا شده و فاکتور پاسخ نسبی برای آن تعیین گردد در غیر این صورت نمی‌تواند روش موفق‌تری باشد. از طرفی با افزایش طول عمر یک رفرانس استاندارد ممکن است ناخالصی‌های ناشناخته نیز به مرور زمان به وجود آید. فاکتور پاسخ نسبی این ناخالصی‌های جدید نیز باید تعیین گردد.

اگر این ناخالصی‌های ناشناخته به اندازه کافی نشان دهند که باعث تغییر خلوص ماده دارویی می‌شوند باید روش‌های تعیین ناخالصی‌ها به روز شده و مورد استفاده قرار گیرند، توجه شود که بیشتر این اطلاعات در هنگام توسعه ماده دارویی (Development phase) به دست می‌آید. در تعیین مقدار ناخالصی‌ها با روش درصد سطح زیر منحنی نیز باید ناخالصی‌ها جدا شده و حتماً شناسایی گردند.

به عنوان مثال:

اگر رفرانس استاندارد یک نمک باشد پاسخ کاتیون نمی‌تواند معادل با پاسخ رفرانس استاندارد باشد در این موارد یک رفرانس استاندارد مشخص برای کاتیون، و یک روش تجزیه‌ای جداسازی مناسب نیز برای کمی نمودن مقدار رفرانس استاندارد مورد نیاز است.

□ ناخالصی‌های معدنی

ناخالصی‌های معدنی شامل فلزات و مواد غیر قابل احتراق هستند که معمولاً با استفاده از روش‌های فارماکوپه‌ای ارزیابی می‌شوند. اگر ثابت شود که در اولین بررسی آن‌ها، ناخالصی‌های معدنی کمتر از حد مجاز بوده است نیاز به تجزیه بیشتر در

طبقه‌بندی شده است.

FDA همچنین آن دسته از رفرانس استانداردهای ثانویه (غیر فارماکوپه‌ای) که دارای بالاترین درجه خلوص بوده و مطابق با قوانین FDA با روش‌های تجزیه‌ای مناسب معتبرسازی شده، مورد بررسی و ارزیابی دقیق قرار گرفته‌اند را نیز تایید می‌کند. در اینجا این سؤال در ذهن ایجاد می‌شود که کیفیت ماده رفرانس استاندارد در اولویت است یا روش‌های معتبر شده؟ پاسخ این است که هر کدام می‌تواند با توجه به پارامترهای مناسب در کاربرد مربوطه در اولویت باشد.

روش‌های تجزیه‌ای ناخالصی‌ها و آزمون‌های حد برای کنترل مقدار ناخالصی‌ها باید معتبر و مطابق با راهنمای (International Conference on Harmonization) ICH شناسایی و تعیین مقدار شده باشند. البته جهت تایید یک رفرانس استاندارد با کیفیت توسط FDA معمولاً یک مشکل وقفه‌ی زمانی پیش می‌آید که می‌تواند فرآیند معتبرسازی موفق را به تاخیر اندازد.

پس یک تاخیر در تایید FDA برای کیفیت رفرانس استاندارد که طبق قوانین موجود استاندارد نبوده، باعث می‌شود محصول دارویی دیرتر در بازار عرضه گردد.

جهت اطمینان از روش تجزیه‌ای برای کاربرد مناسب می‌توان از پارامترهای اعتبارسازی ذکر شده در راهنمای ICH در (Q2R1) با عنوان (validation of analytical procedure) استفاده نمود. این پارامترهای اعتبارسازی شامل:

■ اختصاصی بودن آزمایشات (Specificity)

(ارزیابی تداخل مواد خارجی موجود در ترکیبات

(United states pharmacopeia), USP

(European pharmacopeia), EP

(Japanese pharmacopeia), JP

(National Institute for standards and testing), NIST

منابع ثانویه یا غیر فارماکوپه‌ای (Non compendial): رفرانس استانداردهایی هستند که توسط خود تولیدکننده مواد دارویی که این نوع رفرانس استانداردها را مصرف می‌کنند شرکت‌های تامین‌کننده مواد شیمیایی، شرکت تولیدکننده مواد موثره دارویی تولید و به بازار عرضه می‌گردند.

■ قوانین برای قابل قبول بودن رفرانس استانداردها

تمام رفرانس استانداردهایی که در به ثبت رساندن محصولات دارویی و یا برای ترخیص و ورود به بازار دارویی و مطالعات پایداری و یا فارماکوکنتیکی در سازمان‌های معتبر استفاده می‌شوند، باید مورد تایید سازمان غذا و دارو (FDA) باشند.

کارشناسان FDA رفرانس استانداردهایی که دارای بالاترین خلوص بوده و از تلاش‌های منطقی و علمی به دست آمده و به طور کامل در تولید آن‌ها سه اصل هویت (Identity)، قدرت (Strength) و کیفیت (Quality) رعایت شده است، تایید می‌کنند. مطابق با قوانین، استاندارد بودن یک محصول رفرانس استاندارد بدین معنی است که این ماده به دقت ارزیابی شده و مقدار ماده موثره، ترکیبات وابسته، ناخالصی‌های حین تولید و محصولات ناشی از تخریب آن تعیین، شناسایی و

بین دو آزمایشگاه) دقت میانه (تکرار آزمایش در روزهای متفاوت و یا توسط آنالیست‌های متفاوت)

■ حد تشخیص (Detection limit):

کمترین مقدار نمونه مورد آزمایش که می‌توان تشخیص داد.

■ حد مقداری (Quantitation limit):

کمترین مقدار نمونه که می‌توان کمی نمود.

■ استحکام روش (Robustness):

اثرات تغییرات کوچک در پارامترهای روش

■ آزمون تناسب سیستم System Suitability

test:

ارزیابی تناسب تجهیزات مورد استفاده

البته نیازی به ارزیابی همه این پارامترها نیست

مورد نظر)

■ خطی بودن (Linearity):

محدوده خطی بودن روش‌ها

■ دامنه (Range):

اختلاف بین بالاترین و پایین‌ترین مقدار ماده در نمونه

■ صحت (Accuracy):

اختلاف بین مقدار به دست آمده با مقدار واقعی

واقعی

■ دقت (Precision):

درجه نزدیکی مقادیر در تکرار اندازه‌گیری‌ها یا

به عبارتی درجه پراکندگی مقادیر به دست آمده

در تکرار آزمایش (که شامل تکرار تزریق‌ها، تکرار

آزمایش توسط یک آزمایش‌گر، تجدیدپذیری (دقت

Table 1. Types of reference-standard material compared with recommended qualification.

Reference standard type	Specificity	Linearity	Range	Accuracy	Precision				Detection limit	Quantitation limit	Robustness	System suitability
					Ir	Ar	Ip	R				
Assay	x	x	x		x	x			x	x		x
Degradation product*	x											
Process impurity	x											
Resolution	x											
Metabolite	x	x	x		x	x			x	x		x

* Assumes used for identification only. If quantitation is to be based on the response of the reference-standard material, then qualification should follow the same suite as assay.

Ir is injection reproducibility, Ar is analysis repeatability, Ip is intermediate precision, and R is reproducibility.



منابع ثانویه یا غیر فارماکوپه‌ای (Non com-pendial): امکان دارد در بعضی از کاربردهای خاص، رفرانس استاندارد از منابع اولیه قابل دسترس نباشد در نتیجه از رفرانس استانداردهای ثانویه‌ای که ماهیت و خصوصیت آن به خوبی توصیف شده برای برنامه بررسی کیفیت و توسعه رفرانس استاندارد استفاده می‌شود.

البته موادی که از شرکت‌های تامین‌کننده مواد شیمیایی به عنوان رفرانس استاندارد ثانویه خریداری می‌شوند می‌توانند به عنوان رفرانس استاندارد حتی زمانی که این رفرانس استانداردها از منابع معتبر اولیه نیز قابل تهیه باشند، استفاده گردند. اما باید نسبت به رفرانس استاندارد اولیه سنجیده و به آن اعتبار داده شود.

■ بررسی کیفیت رفرانس استاندارد

تا آن جایی که امکان دارد باید از روش‌های فارماکوپه‌ای برای تعیین کیفیت یک رفرانس استاندارد استفاده شود. اگر برنامه رفرانس استاندارد نیاز به انجام آزمایشاتی دارد که مطابق با روش‌های مذکور در فارماکوپه نیست (مواردی چون تعیین ناخالصی‌های آلی) باید روش‌های مورد استفاده برای آزمایشات تجزیه‌ای معتبرسازی شوند معمولاً چنین روش‌هایی گران قیمت بوده و ممکن است مراحل پایداری یا برنامه‌های بالینی داروی نهایی را به تعویق اندازد.

با وجود این که هیچ راهنمای خاصی جهت توصیف یک رفرانس استاندارد با کیفیت عالی وجود ندارد می‌توان با کمک شکل ۱ که نمودار درختی تصمیم‌گیری است و شامل محدوده وسیعی از تکنیک‌های تجزیه‌ای بوده این مورد را به طور

زیرا یک رفرانس استاندارد ممکن است تنها برای موارد کمی و یا کیفی مورد استفاده قرار گیرد. با این وجود از این روش‌ها برای ارزیابی پارامترهای مناسب برای انواع کاربردهای رفرانس استانداردها می‌توان استفاده نمود به عنوان مثال: در جدول شماره ۱ برای انواع رفرانس استاندارد پارامترهای کیفیتی توصیه شده، مقایسه گردیده است.

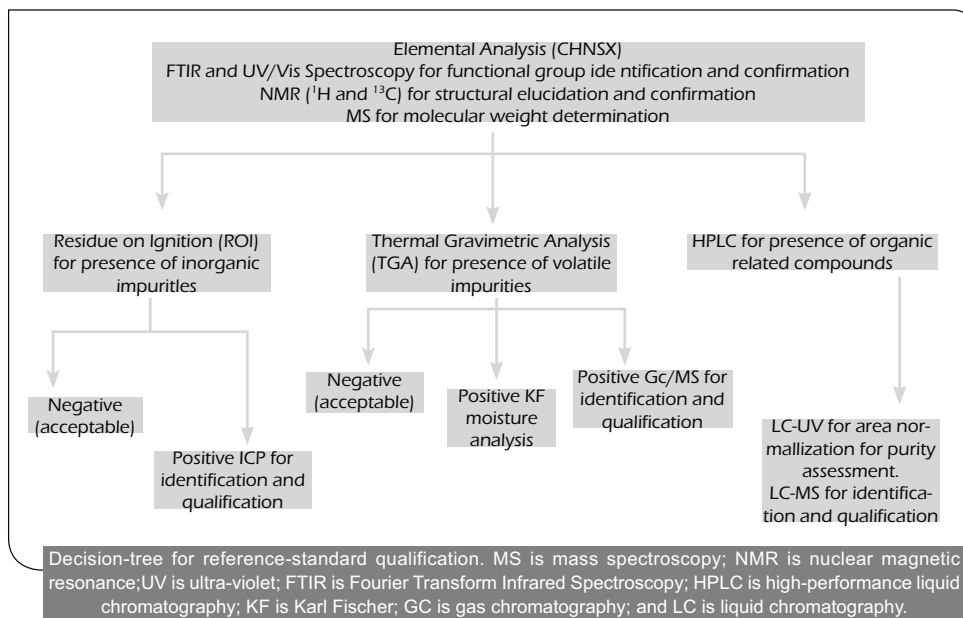
طبق استانداردهای ICH باید یک رفرانس استاندارد با توجه به شرایط نگهداری مربوطه در طول عمر قابل مصرفش پایدار باشد. پس باید برنامه کاملی برای فرآیند پایداریش طراحی شده سپس این مواد در زمان بیشتر از طول عمرشان با توجه به شرایط نگهداری مربوطه ارزیابی شوند.

■ برنامه بررسی رفرانس استانداردها

□ نوع رفرانس استاندارد مورد استفاده

منابع اولیه یا فارماکوپه‌ای (Compendial): معمولاً استفاده از رفرانس استانداردهای تهیه شده از منابع اولیه یا فارماکوپه‌ای ترجیح داده می‌شود. زیرا مراجع قانونی، رفرانس استانداردهای فارماکوپه‌ای و استانداردهای تهیه شده توسط NIST را بدون انجام آزمایشات کیفیتی بیشتر قبول دارند.

NIST معمولاً برگ آنالیزی که حاوی اطلاعاتی در مورد خلوص ماده، تاریخ انقضا دارد تهیه نموده و USP نیز از طریق برچسب‌های بر روی ظروف رفرانس استانداردها اطلاعات لازم را می‌دهد. علاوه بر آن رفرانس استانداردهای USP معمولاً تا یک سال بعد از این که یک شماره سری ساخت جدیدی عرضه شود، قابل استفاده و بهره‌برداری هستند.



کامل بیان نمود.

روش‌های تجزیه‌ای نشان داده شده در شکل ۱ وابسته به ارزیابی مراحل توسعه رفرانس استاندارد بوده و شامل کمترین تعداد آزمایشات برای اولین مرحله از توصیف کیفیت رفرانس استاندارد می‌باشد مانند:

■ ناخالصی‌های آلی:

■ آشکارسازی توسط دستگاه‌های HPLC یا UV

■ ناخالصی‌های فلزی:

■ آشکارسازی با دستگاه‌های ICP/MP یا ICP با

اسپکتروسکوپی نشر نوری

■ ناخالصی‌های مواد غیر قابل احتراق:

■ انجام آزمایش باقیمانده در اثر سوزاندن

■ حلال‌های باقیمانده:

■ آشکارسازی توسط دستگاه GC با یونیزاسیون شعله‌ای (FID)

■ مقدار آب:

■ تیتراسیون با کارل فیشر

■ تایید ساختاری:

توسط FTIR، LC-MS، HNMR، CNMR

■ تایید فرمول تجربی:

■ تجزیه عناصر C، H، N

■ تایید شکل ظاهری:

■ مشاهده و بازرسی چشمی

و دیگر آزمایشات لازم شامل ارزیابی کایرالیته (آشکارسازی با دستگاه HPLC و UV)، نقطه ذوب

برای اولین شماره سری ساخت بررسی دوره‌ای کیفیت (آزمایشات مربوطه) آن می‌تواند در ماه‌های سوم و ششم و دوازدهم برای اولین سال و سپس آزمایشات به طور سالانه انجام شود.

اعتبارسازی روش‌های تجزیه‌ای برای ناخالصی‌های آلی بعد از این که شرایط نگهداری تسریع شده اعمال گردید، انجام می‌شود.

کل مدت زمان برای برنامه بررسی دوره‌ای کیفیت ماده رفرانس استاندارد وابسته به طول عمر و مدت زمان برنامه‌های پایداری و بالینی آن می‌باشد.

اگر برای اولین شماره سری ساخت به اثبات رسد که ماده رفرانس استاندارد به مدت یکسال پایدار می‌باشد برای شماره سری ساخت‌های

و ارزیابی فرم‌های چندگانه مواد با کمک پراش اشعه X نیز ممکن است انجام گردد. به عنوان مثال در جدول ۲ انواع مواد رفرانس استاندارد همراه با آزمایشات کیفیتی لازم، آورده شده است.

□ بررسی دوره‌ای کیفیت یک ماده رفرانس استاندارد

در اولین بررسی کیفیت یک ماده رفرانس استاندارد باید همه آزمایشات تجزیه‌ای مناسب آن انجام گردد.

در بررسی‌های دوره‌ای کیفیت ماده رفرانس استاندارد با توجه به نتایج بررسی اولیه می‌توان انجام یک سری آزمایشات تجزیه‌ای را کاهش داد.

Table 2. Types of reference-standard material compared with recommended test.

Reference standard type	Assay	Organic impurity	Metals impurity**	Non-combustible impurity	Residual solvent	Water content	Structural confirmation	Empirical confirmation	Appearance
Assay	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Degradation product*		x					x	x	x
Process impurity*		x					x	x	x
Resolution		x					x	x	x
Metabolite	x	x	x	x	x	x	x	x	x

* Assumes used for identification only. If quantitation is to be based on the response of the reference-standard material, then qualification should follow the same suite as assay.

**Only required if noncombustible materials present.

منابع

1. FDA. Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods. Rockville; 1994.
2. USP 30-NF 25 General Chapter <11>. Reference Standards: 1
3. FDA. Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation. Rockville; 1987.
4. ICH. Q3A (R2) Impurities. In: New Drug Substances. Geneva; 2006.
5. USP 30-NF 25 General Chapter <467>. Residual Solvents.
6. ICH. Q2 (R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Geneva; 1994.
7. ICH. Q1A (R2). Stability Testing of New Drug Substances and Products. Geneva; 2003.
8. Brandt A. Schering AG. Practical Aspects of Preparative HPLC in Pharmaceutical and Development Production. LC GC Europe Mar; 2002: 2-5.

بعدي بررسی دوره‌ای کیفیت سالیانه (آزمایشات مربوطه) خواهد بود.

□ توزیع و کنترل

مواد رفرانس استانداردها فرآیند تولید پیچیده‌ای داشته و قیمت آن‌ها نیز بسیار بالا می‌باشد، معمولاً مقدار محدودی از آن‌ها تولید می‌شود. پس مهم است که به نحوه نگهداری، توزیع و کنترل آن‌ها توجه خاصی شود.

شرایط نگهداری مواد رفرانس استانداردها باید حداقل یک بار به طور مداوم با استفاده از سیستم‌های بررسی‌کننده محیطی مناسب، تعیین شود. توصیه می‌گردد این مواد حداقل در دو مکان متفاوت به هنگام نگهداری بلند مدت با توجه به شرایط نگهداریشان و در محیط‌های امن با توزیع و دسترسی کنترل شده نگهداری شوند.

