



**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM**

# Lancer 815LX és Lancer 1300LX mosogatógépek tisztítás validálása

Szakdolgozat

Készítette: Szakács Zoltán

Vegyésmérnöki szak BSc., Analitikai és Szerkezetvizsgálati Szakirány

Külső témavezető: Dr. Tolokán Antal

Belső témavezető: Dr. Horváth Viola

Vegyésmérnöki és Biomérnöki kar

WESSLING Hungary Kft.

2012

## **Köszönetnyilvánítás**

Ezúton szeretnék köszönetet mondani a WESSLING Hungary Kft. Gyógyszervizsgáló Laboratóriumának dolgozóinak és külső témavezetőmnek Dr. Tolokán Antalnak, akik segítségül voltak a szakdolgozatom elkészítésében, illetve Dr. Horváth Viola tanárnőnek, aki vállalta a belső témavezető szerepét.

# Tartalomjegyzék

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| 1. Bevezetés.....                               | 5  |
| 1.1. Célkitűzés.....                            | 5  |
| 2. Irodalmi áttekintés .....                    | 6  |
| 2.1. A GMP/cGMP rövid bemutatása .....          | 6  |
| 2.2. A tisztítás validálás .....                | 8  |
| 2.1.1. A tisztítási eljárás követelményei ..... | 8  |
| 2.1.2. A tisztítás validálás követelményei..... | 8  |
| 2.3. Tisztítási módszerek és elvek (7) .....    | 10 |
| 2.3.1. Tisztítási módszerek .....               | 10 |
| 2.3.1.1. Kézi készüléktisztítás .....           | 10 |
| 2.3.1.2. Fél-automatikus készüléktisztítás..... | 10 |
| 2.3.1.3. Automatikus készüléktisztítás .....    | 11 |
| 2.3.2. A tisztítási elvek .....                 | 11 |
| 2.4. Mintavételi eljárások.....                 | 12 |
| 2.4.1. Mintavételi tamponok.....                | 12 |
| 2.4.2. Öblítékes módszer .....                  | 12 |
| 3. Kísérleti rész .....                         | 13 |
| 3.1. Körülmények .....                          | 13 |
| 3.2. A logP fogalma.....                        | 14 |
| 3.3. Választott modell vegyületek .....         | 14 |
| 3.4. Az alkalmazott tisztítási eljárások.....   | 16 |
| 3.4.1. Tisztításhoz használt vegyszerek .....   | 16 |
| 3.4.2. Tisztítási programok .....               | 16 |
| Lancer 1300LX típusú mosogatógép .....          | 16 |
| Lancer 815LX típusú mosogatógép .....           | 17 |
| 3.5. Választott analitikai eljárások.....       | 18 |
| 3.5.1. Minta kiválasztás, előkészítés.....      | 18 |
| 3.5.2. KOI vizsgálat.....                       | 19 |
| 3.5.3. HPLC vizsgálat.....                      | 21 |
| 3.5.3.1. Alendronate HPLC módszer.....          | 21 |
| 3.5.3.2. Candesartan HPLC módszer .....         | 22 |

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 3.5.3.3. Finasteride HPLC módszer .....             | 23 |
| 3.5.3.4. Alfuzosin HPLC módszer .....               | 23 |
| 4. Eredmények és értékelésük .....                  | 25 |
| 4.1. KOI vizsgálat.....                             | 25 |
| 4.1.1. KOI vizsgálat elfogadási kritériuma .....    | 25 |
| 4.1.2. KOI vizsgálat eredménye .....                | 25 |
| 4.2. HPLC vizsgálat .....                           | 25 |
| 4.2.1. HPLC vizsgálatok elfogadási kritériuma ..... | 25 |
| 4.2.2. HPLC vizsgálat eredménye.....                | 26 |
| 5. Összefoglalás .....                              | 27 |
| 6. Irodalomjegyzék .....                            | 28 |
| 7. Függelék.....                                    | 29 |
| 7.1. Alendronate kromatogramok.....                 | 29 |
| 7.2. Candesartan kromatogramok.....                 | 30 |
| 7.3. Alfuzosin kromatogramok .....                  | 31 |
| 7.4. Finasteride kromatogramok .....                | 34 |
| 7.5. Számolás .....                                 | 36 |

# 1. Bevezetés

## 1.1. Célkitűzés

Szakedolgozatom témája két laboratóriumi üvegeszközök tisztítására használt mosogatógép tisztítás validálása, azaz működésük megfelelőségének ellenőrzése.

Ezek a mosogatógépek a WESSLING Hungary Kft. Gyógyszervizsgáló Laboratóriumában találhatóak, és minta előkészítés során használt üvegeszközök - elsősorban normál mérőlombikok, és pipetták – tisztítására használják.

A gyógyszergyártásban nagyon fontos, hogy minden alkalmazott készülék, módszer és folyamat validált legyen, és nem csak közvetlenül a gyártáshoz kapcsolódó rendszerek validálása követelmény, hanem a minőségellenőrzéshez tartozó rendszerek validálása is. A WESSLING Hungary Kft. Gyógyszervizsgáló laboratóriumában a laboratóriumi eszközök tisztítási folyamatának validálása zajlott és ebbe a munkába kapcsolódtam be.

## **2. Irodalmi áttekintés**

### **2.1. A GMP/cGMP rövid bemutatása**

A gyógyszeripar fejlődésének történetében egy 1930-as évek Amerikájában történt baleset ösztönözte az FDA-t (Food and Drug Administration, USA), hogy igyekezzen szabályozni a gyógyszertermékek minőségét, a baleset során gyermekek számára forgalmazott szirup okozott haláleseteket. (1)

Bár a '60-as, '70-es években egyre több Nyugat-Európai országban és Észak-Amerikában vezettek be szabályozásokat, az egységes szabályozás még váratott magára. (2)

A jó gyártási gyakorlat, azaz Good Manufacturing Practice (GMP) az 1960-as években kezdett megfogalmazódni a gyógyszergyártásban, azzal a céllal, hogy útmutatást nyújtson a gyógyszergyáraknak megfelelő minőségű termékek előállításához. A GMP irányelvek nem csak a gyógyszerek előállítására terjednek ki, hanem egészen a késztermék kiskereskedelmi forgalomba éréséig adnak útmutatást, azaz magukba foglalják a gyártási folyamatot, a minőség ellenőrzést és biztosítást is. (2)

A WHO (Egészségügyi Világszervezet) által 1967-ben kiadott gyógyszeripari termékek minőség irányításával kapcsolatos útmutató jelentős minőségügyi fejlődést okozott, majd a gyógyszeripar technológiai fejlődésével, illetve az egyre magasabb minőségi elvárásokkal összhangban fejlődött. Mára több mint 100 országban világszerte, köztük Magyarországon is alkalmazzák a GMP irányelveit, melyeket folyamatos ellenőrzésekkel, auditokkal próbálja betartatni a megfelelő helyi és nemzetközi hatósági szervezet. Mivel a gyógyszeripar gyors fejlődésben van, a jó gyártási gyakorlatot is szükséges fejleszteni folyamatosan, ezért beszélhetünk cGMP-ről (currentGMP), azaz aktuális GMP-ről. (2)

A jelenlegi irányelveket több nemzetközi szervezet is megfogalmazta, köztük az EEC (European Economic Community), az FDA, az ASEAN (Association of South-East Asia Nations). A magyarországi gyárak a Gyógyszeripari Ellenőrző Egyezmény (PIC) útmutatását követik. Ezen útmutatások filozófiájukat tekintve megegyeznek, ennek ellenére számos különbség található bennük, ami egy nemzetközi kereskedelembe résztvevő gyógyszergyár számára előnytelen, és sok felesleges munkával jár, ezért 1990 óta az ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals

for Human Use) konferenciáin próbálják egységesíteni a GMP-t. Ebből kifolyólag a cGMP fogalma alatt, az ICH aktuális elvárásait érthetjük. (2) (3)

Ezen elvárások betartásáért a minőség irányítás a felelős, mely a termeléstől független minőségügyi egységet képez, és minőségbiztosítási, illetve minőségellenőrzési feladatokat lát el a kiinduló anyagok beérkezésétől egészen a késztermék forgalomba éréséig, sőt stabilitás vizsgálataival a forgalomba érés utáni időszakról is kaphatunk információkat. A GMP irányelvek ezért magukba foglalják a helyes precíz dokumentációt, amelynek minden területre ki kell terjednie. (2)

A helyes dokumentációhoz hozzá tartoznak a szabvány műveleti eljárások (Standard Operating Procedures, SOP), melyek megfelelő szinten képzett gyógyszeripari-, illetve minőségellenőrzéssel foglalkozó szakemberek számára adnak elegendő mennyiségű utasítást a munka helyes elvégzéséhez.

A szakdolgozatom témája a tisztítás validálás is közvetetten egy tisztítási művelet SOP-jéhez köthető. A gyógyszeriparban alkalmazott folyamatoknál - melyek kapcsolatba hozhatók a késztermék minőségével – szükséges azok megfelelőségét vizsgálni egy bizonyítási eljárással, hogy az adott folyamat, művelet, tevékenység vagy rendszer eleget tesz az előírt kívánalmaknak, azaz a folyamatot validálni kell. (2)

## 2.2. A tisztítás validálás

A tisztítás validálást, azaz egy alkalmazott tisztítási eljárás érvényesítését a GMP irányelvek megkövetelik. Ennek oka magától értetődő, hiszen a gyógyszergyártásban, az emberi fogyasztásra szánt készítményekben nem elfogadhatóak az esetleges szennyeződések bizonyos koncentráció felett. Az 1960-as években kevésbé szigorú szabályozások a tisztaságot ugyan megkövetelték, de olykor kritériumnak a „láthatóan tiszta” feltételt szabták csak meg. Az Egyesült Államokban a '90-es években előforduló keresztszennyeződésből (erős hatású szteroid) adódó késztermék visszahívásból tanulva a GMP elkezdte megkövetelni a tisztítási eljárások érvényesítését. (4)

Az tisztítási eljárások validálásával kapcsolatos elvárásokról az ICH Q7 kódú dokumentuma ad felvilágosítást. A tisztítás validálás során alkalmazott analitikai eljárásoknak szintén validálnak kell lenniük, ezen folyamatok elvégzéséhez megfelelő útmutatót nyújt az ICH Q2(R1) kódú dokumentuma. (5) (6)

Az általam elvégzett tisztítás validálási eljárásnál nem szabad megfeledkezni arról, hogy nem egy gyógyszergyártás során alkalmazott készülékről van szó, hanem a minőség ellenőrzési folyamatokban használt laboratóriumi tisztításról beszélünk. Tehát az esetben a készülék az elmosogatott üvegeszköz, és főszennyezőnek a gyógyszer hatóanyaga tekinthető, illetve szennyezőnek tekintendő minden egyéb komponens, amely befolyással bírhat a tisztított eszközzel végzett következő folyamat/vizsgálat eredményére (pl. a mosógátószer). (5)

### 2.1.1. A tisztítási eljárás követelményei

A tisztítási eljárást SOP-ban kell rögzíteni, oktatni. Ezt a dokumentumot érvénybe kell léptetni egy validálási eljárással, amelyet minőség irányító jóváhagy. (4)

### 2.1.2. A tisztítás validálás követelményei

A GMP követelmények közé tartozik, a validálási folyamatot megelőzően protokollok készítése. A protokollnak tartalmaznia kell a mintavételi eljárásokat, az alkalmazandó analitikai módszereket, figyelembe kell vennie a készülék használatából eredő lehetséges szennyeződések, és azok határértékét úgy kell meghatározni, hogy a készülékkel a jövőben végzendő lehetséges folyamatokra csak elfogadhatóan alacsony mértékben legyen befolyással, gyakorlatilag ne legyen befolyással, továbbá tartalmaznia kell a változás követést,

amely útmutatást nyújt arra az esetre, ha az alkalmazott tisztítási eljárás nem felel meg a kritériumoknak. (4)

A validálási eljárás után szükséges a folyamatot a protokollnak megfelelően dokumentálni, és tovább adni a minőség irányításért felelős vezető személyzetnek, abban az esetben, ha az eredmények megfelelnek a kritériumoknak a vezető személyzet jóváhagyása szükséges az érvényesítéshez, illetve ha nem felel meg a kritériumoknak, a változtatással kapcsolatos információkra van szükség a vezetőség felől. (4)

Ezen lépések követelményei a készüléktisztításnak is, azaz a gyógyszergyártás során használt készülékek, berendezések tisztítási eljárásának, illetve követelményei a mosogatógép tisztítási eljárásának is, amely esetében egy gyógyszer-analitikai laboratóriumban üvegeszközök tisztítására használt mosogatógép.

## 2.3. Tisztítási módszerek és elvek (7)

### 2.3.1. Tisztítási módszerek

A tisztítási módszereket három alapvető csoportba sorolhatjuk: kézi tisztítás, fél-automatikus tisztítás és automatikus tisztítás. Alapvető konklúciónak már az elején levonható az, hogy jól képzett személyzet által, jól kivitelezett kézi tisztítás mindig hatékonyabb mint a gépi, de gazdasági megfontolásokból - mint például a munkaidő kihasználása, és a tisztítószeres gazdaságos alkalmazása – következik, hogy egyre nagyobb teret nyernek az automatikus és fél-automatikus rendszerek.

#### *2.3.1.1. Kézi készüléktisztítás*

A kézi készüléktisztítást a következő lépésekre lehet felbontani: amennyiben szükséges a berendezés szétszedése a tisztítás megkönnyítése miatt, majd egy előmosási eljárás történik, melyben addig fecskendezzük vagy áztatjuk a készüléket megfelelő oldószerben, amíg látható szennyeződés van rajta. Az előmosáshoz használhatunk bizonyos esetekben akár csapvizet is. Az előmosást követi a mosási eljárás, amikor a lehetséges szennyeződések figyelembe vétele alapján megválasztott megfelelő hőmérsékletű mosószerrel beoldjuk a szennyeződéseket - általában a mosási eljárás többlépcsős, mosások között öblítésekkel -. A mosási fázis befejezése után a mosófolyadék eltávolítása következik több öblítéssel, amely történhet tisztított, desztillált vagy injekció minőségű vízzel, általában szükséges a hőmérsékletét specifikálni. A végső öblítést pedig csak injekció minőségű vízzel érdemes végezni, majd ezt követően magasabb hőmérséklettel lehet gyorsítani a száradást. Az eltisztított, száraz készülék összeszerelését, tárolását olyan módon kell végrehajtani, hogy a készülékek beszennyezését elkerüljük.

#### *2.3.1.2. Fél-automatikus készüléktisztítás*

A fél-automatikus készüléktisztítás során általánosan alkalmazott eszköz, a hordozható helyben tisztító berendezés (clean in place, CIP), amely egyszerű esetben egy tartályból és egy szivattyúból áll, illetve a fél-automatikus készüléktisztítás közé sorolandó az edénymosogató típusú zárt berendezések is, melyeknél a személyzetnek csak az eszközök bepakolása, kiürítése, a mosószerrel való feltöltés, és a mosogatógép kezelése a feladata. A tisztítási folyamat további lépései mindkét esetben megegyeznek a kézi tisztítás lépéseivel.

### *2.3.1.3. Automatikus készüléktisztítás*

Automatikus készüléktisztítás során a tisztítandó készülékbe fixen beépített tisztító rendszerről beszélünk. A rendszer tartalmazza mind a mosó- és öblítő-szerek tartályait, vezetékek rendszerét, a folyamatot irányító berendezést, amelyben rögzíteni és módosítani lehet a tisztítási eljárás programját. Előnyei közé tartozik, hogy a tisztító hatás az automatikus rendszereknél a legjobban reprodukálható, viszont váratlan eseményeknél a beavatkozás lehetősége korlátozott, így szükséges lehet a kiegészítése fél-automatikus, vagy kézi tisztítási eljárással.

### 2.3.2. A tisztítási elvek

A tisztítás eljárások alapelve a keresztszennyeződések elkerülése, azaz a kiindulási anyagokba, vagy a termékbe kerülő olyan szennyezés, amelyet más anyag vagy termék okoz. Meg kell határozni melyek azok a lépések, amelyek pontos betartása különösen fontos a késztermék minősége szempontjából, és ezeket a folyamatokat validálni kell. Gyártóberendezések esetén a különösen fontos már a tervezésük során is a tisztításukra való odafigyelés, hogy könnyen és alaposan lehessen őket tisztítani. A tisztítást minden esetben előirat alapján szükséges elvégezni, majd ezt követően a készüléket tiszta és száraz helyen kell tárolni. A mosogató és takarító berendezésekkel szembeni alapvető követelmény nem csak, hogy megfelelően tisztítsanak, hanem a tisztítás közvetlen környezetét használat közben ne szennyezzék, erre a hordozható tisztító berendezéseknél kell különösen odafigyelni.

## 2.4. Mintavételi eljárások

Tisztítás validálási eljárások során alapvetően kétféle mintavételi eljárás alkalmazása terjedt el, az egyik a mintavételi tamponok használata, a másik az öblítékes módszer. A mintavételi eljárást minden esetben úgy kell megválasztani, hogy alkalmazásával szilárd tudományos ítéletet tudjunk hozni, hogy megfelel-e a tisztítási eljárás a kritériumoknak vagy sem.(9)

### 2.4.1. Mintavételi tamponok

Gondosan kiválasztott oldószerrel benedvesített tamponnal való törölgetéssel a berendezés/készülék felületéről mintát veszünk. A tamponat először minta oldószerbe áztatjuk, majd összenyomással eltávolítjuk a felesleges oldószert, nem szükséges az egész felületről mintát venni, csak meghatározott nagyságú helyről, és az így kapott eredményekből következtetünk a teljes felület szennyezettségére. Érdemes a legrosszabb-eset módszerrel dolgozni, így a legnehezebben tisztítható részeket érdemes mintázni ezzel a módszerrel – pl.: sarkok, élek -. A mintavételi eljárás után, kis mennyiségű mintaoldószerbe áztatjuk a tamponat, majd például ultrahang-kád alkalmazásával segítjük az extrakciót. Az így kapott mintaoldatot gondosan kiválasztott analitikai vizsgálatoknak vetjük alá.(10)

### 2.4.2. Öblítékes módszer

A tisztítási eljárás után megfelelő oldószerrel alaposan átöblítjük a készülék teljes felületét. A módszer előnye, hogy az egész felületről tudunk egyszerre mintát venni, illetve a reprodukálhatósága is jobb, mivel az emberi tényezőnek kisebb a hatása a mintázási eljárásra. Az öblítéssel a nehezen hozzáférhető helyekről is könnyen, és hatékonyan tudunk mintát venni, a megfelelő mintaoldószer kiválasztásával. - Esetemben a lombikok belső felületéről, illetve a pipetták belső felületéről is nehezebb lett volna a tamponokkal történő mintavételezés, ezért választottam az öblítékes módszert. – Majd az így kapott mintaoldatot megfelelő analitikai vizsgálatoknak vetjük alá.(9)

### 3. Kísérleti rész

„A validálásról sok embernek az az első gondolata, hogy esztelenül sok munka, ezért ha sokat dolgoznak esztelenül, azt hiszik, hogy validálnak.” (7)

#### 3.1. Körülmények

Az előző mondatot nagyon találónak érzem a szakdolgozatom kapcsán, mivel a legtöbb esetben, ha egy készülék tisztítás validálásáról van szó, akkor a vele érintkező összes kritikus anyag – például egy tablettázó készüléknél a hatóanyagok, és a placebo összetevői – tisztítás utáni jelenlétét érdemes vizsgálni. Mivel egy készüléken többnyire nem csak egy készítményt gyártanak, így bonyolódik a helyzet, de azért még mindig nem olyan nagy mennyiségű vizsgálatról van szó.

Esetemben a készülékek a mosogatógéppel tisztított üvegeszközök. A két mosogatógépet kizárólag normál mérő lombikok és pipetták tisztítására használják a WESSLING Hungary Kft. gyógyszer-analitikai laboratóriumában. A két mosogatógép különböző labor-teremben található, az 1300LX típusú található az általános-előkészítő laborban, míg a 815LX típusú a citosztatikum és hormon tartalmú készítmények előkészítésére használt laborban.

A két mosogatógépen tisztított üvegeszközök összesen kb. 100 féle gyógyszer készítménnyel érintkezhetnek, mindegyik készítményre vizsgálni a tisztítást nagyon nagy munka lenne, pontosabban feleslegesen nagy munka lenne. Érdemesebb tehát a problémát a legrosszabb-eset módszerrel vizsgálni, így a készítményeket hatóanyagaik oktanol-víz közötti megoszlási értékük (logP) szerint táblázatba rendeztem, és a legmagasabb, illetve legkisebb logP értékűek közül választottam mindegyik mosogatógépre 2-2 modell vegyületet, melyek tisztítását ellenőriztem.

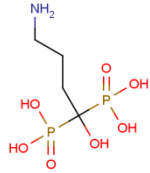
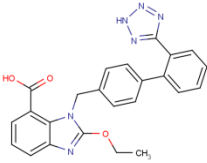
### 3.2. A logP fogalma

A logP értéket használhatjuk a lipofilitás mértékének jellemzésére, definíció szerint  $\log P = \log(c_o/c_v)$ , a megoszlási folyamatban a kérdéses anyag a két egymással gyakorlatilag nem elegyedő, de bőségesen érintkező oldószer között megoszlik és az egyik, illetve másik oldószerben elért egyensúlyi koncentrációjának hányadosának logaritmusát adja meg a megoszlási hányadost. Esetemben a  $c_o$  értéke az oktanolban mért egyensúlyi koncentrációja, míg  $c_v$  értéke a vízben mért egyensúlyi koncentrációja a kérdéses anyagnak.

### 3.3. Választott modell vegyületek

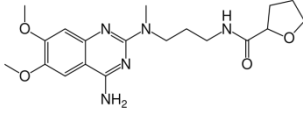
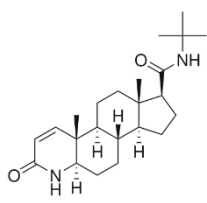
A modell vegyületek a Lancer1300LX mosogatógép tisztításának ellenőrzésére az 1. táblázatban vannak feltüntetve: (8)

1. táblázat:

| Vegyület    | Összegképlet         | Halmazállapot<br>(20°C) | log P | Szerkezeti képlet                                                                     |
|-------------|----------------------|-------------------------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Alendronate | $C_4H_{13}NO_7P_2$   | Szilárd                 | -4.3  |  |
| Candesartan | $C_{24}H_{20}N_6O_3$ | Szilárd                 | 6.1   |  |

A modell vegyületek a Lancer815LX mosogatógép tisztításának ellenőrzésére a 2. táblázatban vannak feltüntetve: (8)

2. táblázat:

| Vegyület    | Összegképlet         | Halmazállapot<br>(20°C) | log P | Szerkezeti képlet                                                                    |
|-------------|----------------------|-------------------------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Alfuzosin   | $C_{19}H_{27}N_5O_4$ | Szilárd                 | 1.4   |   |
| Finasteride | $C_{23}H_{36}N_2O_2$ | Szilárd                 | 4.7   |  |

### **3.4. Az alkalmazott tisztítási eljárások**

Mindkét mosogatógépen egy-egy gyárilag előre beprogramozott tisztítási eljárás validálását végeztem el. Az alkalmazott tisztítószeres szintén a mosogatógépeket gyártó Lancer vállalatától származnak, tehát a tisztítás validálás kizárólag ezekre a tisztítószeresekre és programokra érvényes.

A mosogatógépbe a lombikokat különböző méretű tűskékre ráhúzva tudjuk behelyezni, melyek végén egy-egy szórófej végzi a vegyszerek felületre juttatását, illetve a különböző méretű pipetták számára egy tartó állvány van kialakítva, melyekbe alulról kerülnek befecskendezésre a tisztítószeresek.

#### 3.4.1. Tisztításhoz használt vegyszerek

A mosogatógépek két féle oldatot, és RO vizet használnak a tisztítási eljárásukhoz, az egyik egy nem habzó tisztítószer, melynek az a szerepe, hogy oldatba vigye a szennyeződések. Ez a detergens mindkét mosogatógép esetében nátrium-hidroxid és trinátrium-nitrilo-triacetát elegye. A másik oldat egy nem habzó semlegesítő sav, amely az előbbi tisztítószer eltávolítását szolgálja. Erre a célra ecetsav oldat van alkalmazva mindkét mosogatógépen. Mindkét tisztítószer a Lancer vállalat által forgalmazott és kvalifikált termék.

#### 3.4.2. Tisztítási programok

Lancer 1300LX típusú mosogatógép

A mosási program során a Lancer 1300LX mosogatógép körülbelül 15 l vizet használ el, és a semlegesítő sav és a detergens pumpájának térfogatárama 280 ml/perc.

A következő, gyárilag előre beprogramozott eljárást vizsgáltam, melyet a gyártó kémiai és biológiai szennyeződések eltávolítására javasolt. (Prog. 3) (11)

- Előmosás hideg víz és a detergens elegyével
- Mosás meleg víz és a detergens elegyével
- Savas öblítés a semlegesítő savval
- Öblítés Milli Q vízzel
- Végso öblítés 80 °C-os vízzel

- Szárítás 110 °C-on

#### Lancer 815LX típusú mosogatógép

A mosási program során a Lancer 815LX mosogatógép körülbelül 12 l vizet használ el, és a semlegesítő sav és a detergens pumpájának térfogatárama 280 ml/perc.

A következő, gyárilag előre beprogramozott eljárást vizsgáltam, melyet a gyártó kémiai és biológiai szennyeződések eltávolítására javasolt. (Prog. 3) (12)

- Előmosás hideg víz és a detergens elegyével
- Mosás meleg víz és a detergens elegyével
- Savas öblítés a semlegesítő savval
- Öblítés Milli Q vízzel
- Végso öblítés 80 °C-os vízzel
- Szárítás 100 °C-on

### 3.5. Választott analitikai eljárások

A tisztítás hatásosságának ellenőrzésére mind a 4 modell vegyület esetén a WESSLING Hungary Kft. által rutinszerűen, a gyógyszer készítmények tisztaságának vizsgálatára alkalmazott HPLC módszert választottam, melyeket a továbbiakban ismertetni fogok. Ezek az analitikai módszerek a gyártó helyen validáltak és szabályos, GMP-nek megfelelő módszerátadási eljárással kerültek a WESSLINGbe.

Használtam egy klasszikus analitikai módszert, - a Milli Q rendszer által tisztított, gradiens minőségű - vízzel beoldott szerves anyagok összes mennyiségét vizsgáltam az úgynevezett kémiai oxigénigény (KOI) módszerrel.

#### 3.5.1. Minta kiválasztás, előkészítés

A tisztítani kívánt üvegeszközök praktikussági okokból az éles minta előkészítéséből származó lombikok voltak, melyek közül mindig a gyógyszermintára nézve legkoncentráltabb oldattal érintkező üvegeszköz tisztítását vizsgáltam, illetve a legtöményebb standard oldattal érintkező lombikokét, abban az esetben, ha szükséges volt a rutin mérés előkészítése során az oldatok hígítása, akkor az ahhoz használt pipetták tisztítását is ellenőriztem.

A minta előkészítés minden esetben 2 lépcsős volt, úgy érte, hogy az analitikai vizsgálatokat elvégeztem a beszennyezés napján, és a laboratóriumban meghatározott maximális állási idő (2 nap) után, amíg az eszközök beszennyezetten állhatnak tisztítás nélkül. Megjegyezném, hogy személyes tapasztalataim alapján nem fordult olyan elő a laboratóriumban, hogy 12 óránál többet álltak volna tisztítási eljárás nélkül az üvegeszközök.

A vizsgált eszközök adatai az alábbi, 3. táblázatban vannak feltüntetve

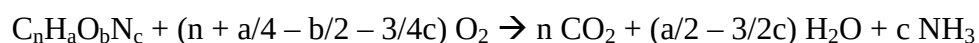
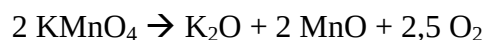
3. táblázat:

| Vegyület    | Mérőlombik (ml) | Pipetta (ml) |
|-------------|-----------------|--------------|
| Alendronate | 100             | 5            |
| Candesartan | 25<br>50        | 2            |
| Alfuzosin   | 100             | 10           |
| Finasteride | 10<br>100       | -            |

### 3.5.2. KOI vizsgálat

A vizsgálat alapja, hogy a vízben oldott szerves anyagok savas, vagy lúgos környezetben  $\text{KMnO}_4$  (vagy egyéb oxidálószer, pl.:  $\text{KIO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) hatására eloxidálódnak, ha a vizsgálatot kálium-permanganáttal végezzük, és a kritériumot a  $\text{KMnO}_4$  fogyásában határozzuk meg, nem szükséges a visszatitrálás  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -val, mivel ha elfogyott az összes kálium-permanganát az oldat lilából szintelenbe csap át. (13) (14)

Egyenletek:



Felhasznált Vegyszerek:

Kénsav

Kálium-permanganát

Milli Q tisztított víz

Hígított kénsav oldat:

5,5ml cc. kénsavat hígítottam Milli Q vízben, egy 100ml-es lombikban. (~1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

0,02M Kálium permanganát mérőoldat:

160mg kálium-permanganátot oldottam Milli Q vízben, egy 50ml-es lombikban.

Vizsgálat:

A tisztítási eljárás után az üvegeszközöket átöblítettem 5 ml Milli Q vízzel. Áthelyeztem megfelelő méretű Erlenmeyer lombikba, és hozzá adtam 0,5 ml hígított kénsavat és 5 $\mu$ l 0,02 M-os kálium-permanganát oldatot, majd 5 percig forraltam az így kapott halványlila színű oldatot.

Tehát, ha az összes kálium-permanganát redukálódik, akkor  $1,25 \cdot 10^{-7}$  mol  $\text{O}_2$  nem volt elég az összes szerves anyag eloxidálásához a vizes öblítéssel kapott mintában.

A vizsgálatot minden esetben egy darab minta előkészítésből származó tisztított lombikkal, egy darab standard oldat készítésből származó tisztított lombikkal, illetve a Finasteride kivételével egy darab tisztított pipettával végeztem el a 0. napon és a 2 nap állás után tisztított üvegeszközökön.

A pipettákból származó 2. napos minták vizsgálata felesleges lett volna, mivel szabvány szerint, használat után egy áztató kádba kerülnek azok, így a tisztításuk a használat után közvetlenül elkezdődik minden esetben.

### 3.5.3. HPLC vizsgálat:

A továbbiakban ismertettem az alkalmazott HPLC módszereket, melyeket a vizsgált gyógyszerkészítmények rutin mérései során is alkalmaznak tisztaság vizsgálatokra, így ezek a módszerek már validált kromatográfiás eljárások.

A minta oldatok készítéséhez használt oldószer minden esetben a módszerhez tartozó mintaoldószer 5 ml-e volt, mellyel a 0. napos és a 2. napos minták közül 2 standard oldattal érintkező, és 2 mintaoldattal érintkező tisztított lombikot, és a 0. napos mérések során 1-1 tisztított pipettát mostam át alaposan.

A méréseimet Agilent 1100-as és Agilent 1200-as rendszereken végeztem el. Minden vizsgálat előtt ellenőriztem, hogy a rendszerem eleget tesz-e az adott méréshez tartozó rendszer-alkalmassági követelményeknek.

Vizsgált rendszeralkalmassági kritériumok:

- RSD, RF értékek az injektált standard területekre
- tailing faktorok
- retenciók idők
- elméleti tányérszámok

#### *3.5.3.1. Alendronate HPLC módszer: (15)*

Vegyszerek:

Nátrium-alendronate referencia anyag

Acetonitril ( Analitikai tisztaságú )

Dinátrium-hidrogén-foszfát ( Analitikai tisztaságú )

Orto-foszforsav ( Analitikai tisztaságú )

Trinátrium-citrát-dihidrát ( Analitikai tisztaságú )

Nátrium-borát ( Analitikai tisztaságú )

9-fluorenylmethyl-chloroformate ( Analitikai tisztaságú )

Nátrium-hidroxid ( Analitikai tisztaságú )

Diklórmétán ( Analitikai tisztaságú )

Víz ( Milli-Q tisztaságú )

Kromatográfiás paraméterek:

|                          |                                                            |
|--------------------------|------------------------------------------------------------|
| Oszlop:                  | Hamilton PRP-1, 10 µm ( 250 mm x 4,1 mm )                  |
| Oszlop hőmérséklete:     | 45 °C                                                      |
| Áramlási sebesség:       | 1,8 ml/perc                                                |
| Detektálási hullámhossz: | 266 nm                                                     |
| Injektálási térfogat:    | 20 µl                                                      |
| Analízis idő:            | 32 perc (kb. 5 perc az Alendronate várható retenciósideje) |

A mérések fordított fázisban, az eluensek arányának megfelelő változtatásával, gradiens programban zajlottak.

3.5.3.2. *Candesartan HPLC módszer: (16)*

Vegyszerek:

Candesartan-cilexetile referencia anyag

Acetonitril ( Analitikai tisztaságú )

2-propanol (Analitikai tisztaságú)

Nátrium-dihidrogén- foszfát monohidrát ( Analitikai tisztaságú )

Trifluorecetsav ( Analitikai tisztaságú )

Víz ( Milli-Q tisztaságú )

Kromatográfiás paraméterek:

|                      |                                       |
|----------------------|---------------------------------------|
| Oszlop:              | Zorbax SB-CN 3,5 µm ( 150 mm x 3 mm ) |
| Oszlop hőmérséklete: | 40 °C                                 |
| Áramlási sebesség:   | 1,0 ml/perc                           |

|                          |                                                    |
|--------------------------|----------------------------------------------------|
| Detektálási hullámhossz: | 210 nm                                             |
| Injektálási térfogat:    | 10 µl                                              |
| Analízis idő:            | 40 perc (kb. 18 perc a Candesartan retenció ideje) |

A mérések fordított fázisban, az eluensek arányának megfelelő változtatásával, gradiens programban zajlottak.

#### 3.5.3.3. *Finasteride HPLC módszer: (17)*

##### Vegyszerek:

|                                         |
|-----------------------------------------|
| Finasteride referencia anyag            |
| Ortofoszforsav (Analitikai tisztaságú)  |
| Tetrahidrofurán (Analitikai tisztaságú) |
| Acetonitril (Analitikai tisztaságú)     |
| Víz (Milli Q tisztaságú)                |

##### Kromatográfias paraméterek:

|                          |                                                    |
|--------------------------|----------------------------------------------------|
| Oszlop:                  | BDS Hypersil C18, 5µm, (250 mm x 4,6 mm)           |
| Oszlop hőmérséklete:     | 60 °C                                              |
| Áramlási sebesség:       | 1,5 ml/perc                                        |
| Detektálási hullámhossz: | 210 nm                                             |
| Injektálási térfogat:    | 15 µl                                              |
| Analízis idő:            | 60 perc (kb. 12 perc a Finasteride retenció ideje) |

A mérések fordított fázisban zajlottak.

#### 3.5.3.4. *Alfuzosin HPLC módszer: (18)*

##### Vegyszerek:

|                                        |
|----------------------------------------|
| Alfuzosin-hidroklorid referencia anyag |
| Acetonitril (Analitikai tisztaságú)    |

Tetrahydrofurán (Analitikai tisztaságú)

Perklórsav (Analitikai tisztaságú)

Nátrium hidroxid (Analitikai tisztaságú)

Metanol (Analitikai tisztaságú)

Sósav (Analitikai tisztaságú)

Víz (Milli-Q tisztaságú)

#### Kromatográfiás paraméterek:

|                          |                                                           |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Oszlop:                  | Inertsil ODS-2 250 mm x 4.6 mm 5 $\mu$ m                  |
| Oszlop hőmérséklete:     | 35 °C                                                     |
| Áramlási sebesség:       | 1,5 ml/perc                                               |
| Detektálási hullámhossz: | 254 nm                                                    |
| Injektálási térfogat:    | 20 $\mu$ l                                                |
| Analízis idő:            | 30 perc (kb. 11 perc az Alfuzosin várható retenciósideje) |

A mérések fordított fázisban zajlottak.

## 4. Eredmények és értékelésük

### 4.1. KOI vizsgálat

#### 4.1.1. KOI vizsgálat elfogadási kritériuma:

5 perces forralás után halvány-lila színűnek kell maradnia az oldatnak.

#### 4.1.2. KOI vizsgálat eredménye:

Az elfogadási kritériumnak az összes minta megfelelt, azaz  $1,25 \cdot 10^{-7}$  mol  $O_2$ -nél kevesebb fogyott a kiöblített szerves anyagok oxidációjára, vagyis a tisztítást követően, nem marad kimutatható, vízben oldódó hatóanyag vagy mosógatószer.

### 4.2. HPLC vizsgálat

#### 4.2.1. HPLC vizsgálatok elfogadási kritériuma:

A HPLC vizsgálatok elfogadási kritériumait minden esetben, úgy határoztuk meg, hogy a szennyezők – jelen esetben a hatóanyagok – mennyisége a tisztítási eljárás után, a következő mérés eredményére csak elhanyagolható mértékben lehet befolyással, azaz a teljes lombik térfogatára nézett koncentrációjának a módszer kimutatási határánál (LoD) kisebbnek kell lennie.

A módszerek LoD értékei az alábbi, 4. táblázatban vannak feltüntetve.  
(15)(16)(17)(18)

4. táblázat:

| Vegyület    | Alkalmazott módszer kimutatási határa ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-------------|------------------------------------------------------------|
| Alendronate | 0,019                                                      |
| Candesartan | 0,625                                                      |
| Alfuzosin   | 0,025                                                      |
| Finasteride | 0,3                                                        |

A vizsgálatok elfogadási kritériumai az alábbi 5. táblázatban vannak feltüntetve.

5. táblázat:

| Vegyület    | Maximálisan megengedhető koncentráció a mérőlombikokból származó mintaoldatban (µg/ml) | Maximálisan megengedhető koncentráció a pipettákból származó mintaoldatban (µg/ml) |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Alendronate | 0,38 (100 ml-es lombik)                                                                | 0,019 (5 ml-es pipetta)                                                            |
| Candesartan | 6,25 (50 ml-es lombik)<br>3,125 (25 ml-es lombik)                                      | <LoD                                                                               |
| Alfuzosin   | 0,5 (100 ml-es lombik)                                                                 | 0,05                                                                               |
| Finasteride | 6 (100 ml-es lombik)<br>0,6 (10 ml-es lombik)                                          | -                                                                                  |

#### 4.2.2. HPLC vizsgálat eredménye:

Az elfogadási kritériumnak az összes minta megfelelt. Kizárólag az Alfuzosin tisztítása után volt detektálható csúcs a mintákban, melyek koncentrációja – 0,186 µg/ml; 0,167 µg/ml – az elfogadási kritériumban meghatározott koncentráció alá esik – 0,5 µg/ml.

## 5. Összefoglalás

Az eredmények értékelése után kiderült, hogy minden vizsgálat megfelelt az elfogadási kritériumának. Így levonható konklúzió, hogy az alkalmazott tisztítási eljárás eléri a célját, a tisztítani kívánt anyagok polaritásától függetlenül.

Következésképpen a tisztítás validálást sikeresen elvégeztük, a tisztítási eljárás változtatás nem szükséges.

Megfelelő minőségügyi dokumentáció elkészítése után a Lancer 1300LX és Lancer 815LX típusú mosogatógépek tisztítás validálása lezártnak, az aktuális GMP szabványoknak megfelelőnek tekinthető.

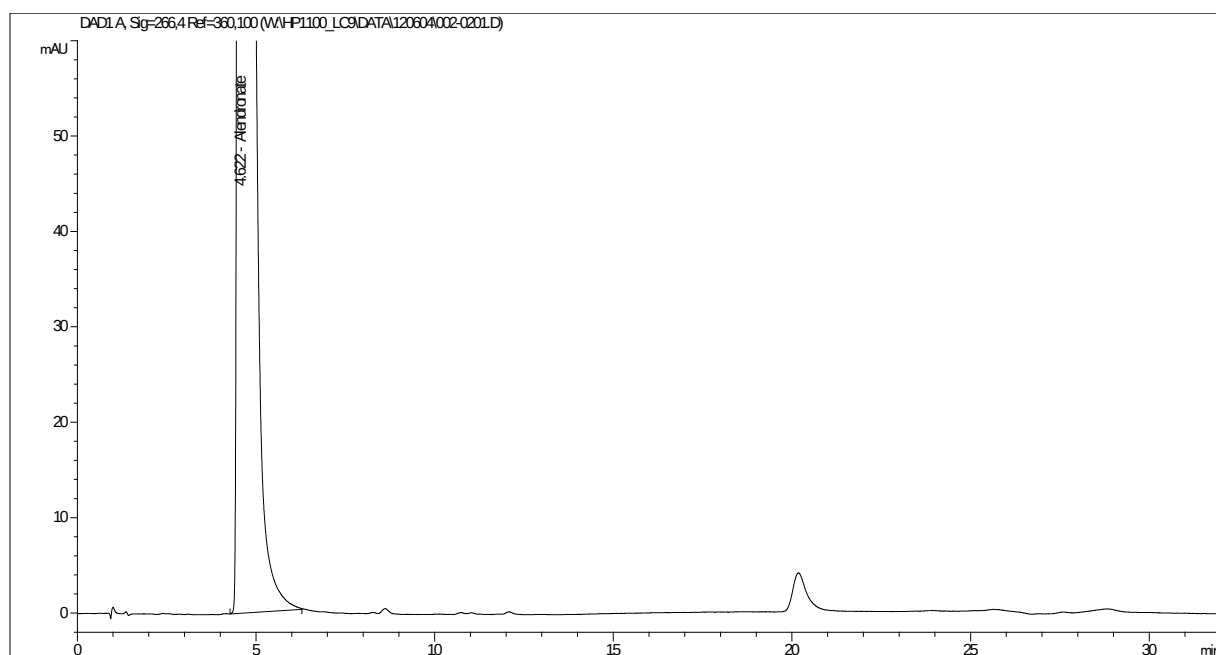
## 6. Irodalomjegyzék

- 1:Taste of Raspberries, Taste of Death, The 1937 Elixir Sulfanilamide Incident - FDA Consumer magazine, June 1981 Issue, Carol Ballentine
- 2:Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals, Sixth Edition, 23. – Worldwide Good Manufacturing Practices, Joseph D. Nally
- 3:[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/News\\_room/C\\_Publications/ICH\\_20\\_anniversary\\_Value\\_Benefits\\_of\\_ICH\\_for\\_Regulators.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/News_room/C_Publications/ICH_20_anniversary_Value_Benefits_of_ICH_for_Regulators.pdf)
- 4:<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>
- 5:Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients - Q7, Current Step 4 version, 10 November 2000
- 6:Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology – Q2(R1) Current Step 4 version, November 2005
- 7:Készülék tisztítás validálás, GLP Kft., Prof. Dr. Leisztner László, dr. Bujtás Piroska
- 8:<http://www.drugbank.ca>
- 9:<http://apic.cefic.org/>
- 10:Method development of swab sampling for cleaning validation of a residual active pharmaceutical ingredient – Pei Yang, Kim Burson, Debra Feder, Fraser Macdonald, Pharmaceutical Technology, 2005 January
- 11:NU\_820\_910\_1300LX\_ANG V4\_09\_2009 kódú készülék leírás, LANCER
- 12:NU\_810-815\_LX\_A G\_1101 kódú készülék leírás, LANCER
- 13:Clair N. Sawyer, Perry L. McCarty, Gene F. Parkin (2003). Chemistry for Environmental Engineering and Science (5th ed.). New York: McGraw-Hill
- 14:Lenore S. Clescerl, Arnold E. Greenberg, Andrew D. Eaton. Standard Methods for Examination of Water & Wastewater (20th ed.). Washington, DC: American Public Health Association
- 15:SOP-4574, Wessling Hungary Kft. szabvány műveleti eljárása
- 16:SOP-4676, Wessling Hungary Kft. szabvány műveleti eljárása
- 17:SOP-4634, Wessling Hungary Kft. szabvány műveleti eljárása
- 18:SOP-4655, Wessling Hungary Kft. szabvány műveleti eljárása

## 7. Függelék

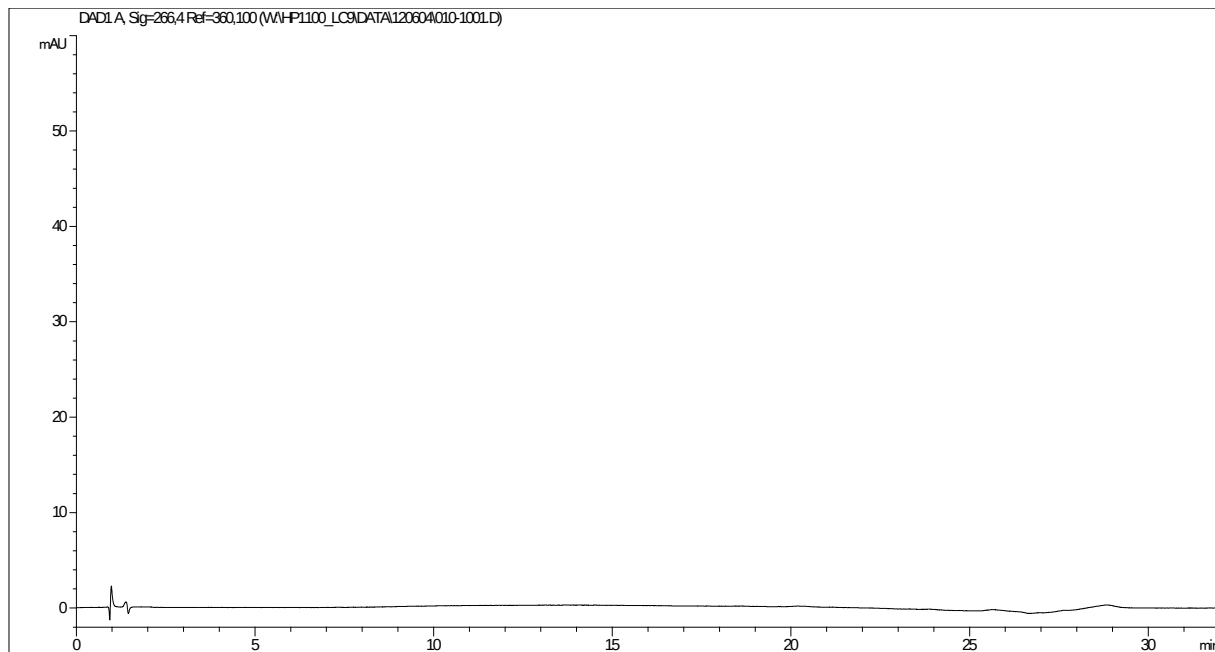
### 7.1. Alendronate kromatogramok:

Standard oldat (véletlenszerűen kiválasztott):



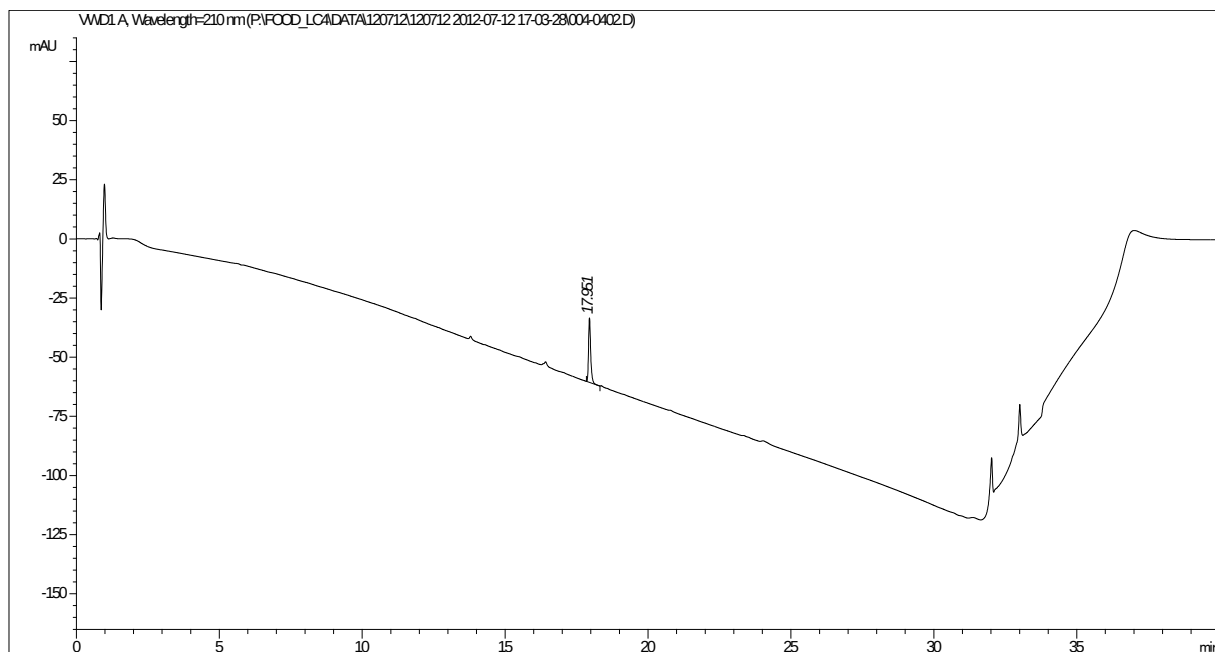
(~ 0,075 mg/ml)

Lombikból vagy pipettából származó minta oldat kromatogramja (véletlenszerűen kiválasztott):



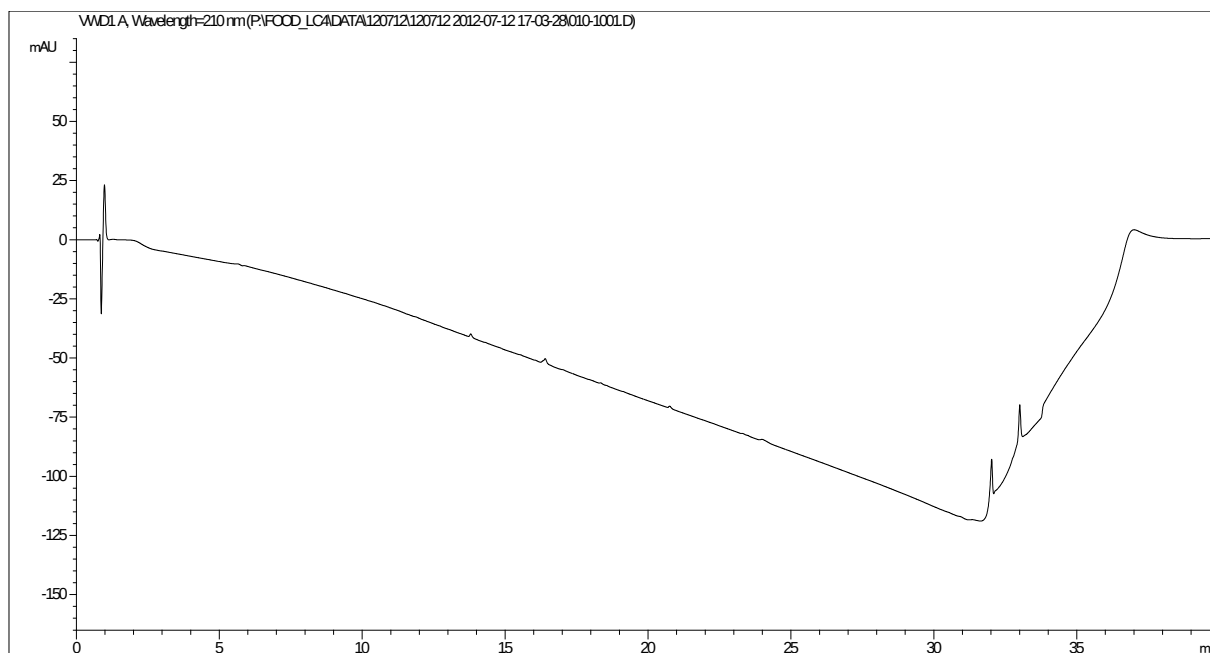
## 7.2. Candesartan kromatogramok:

Standard oldat (véletlenszerűen kiválasztott):



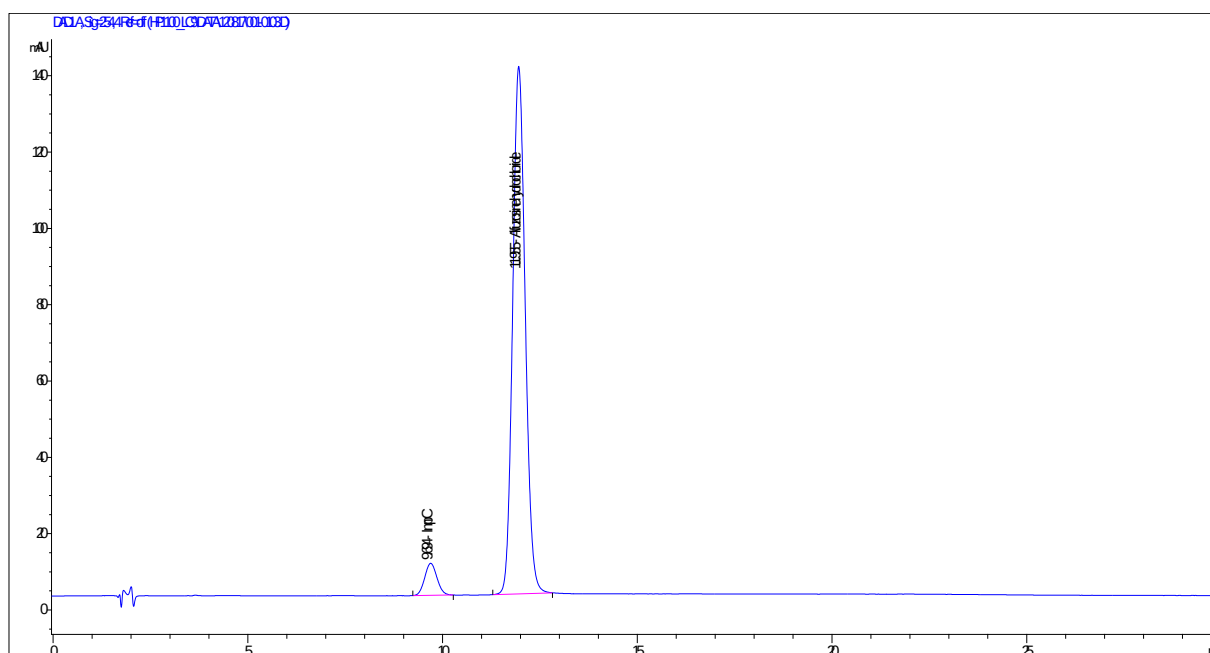
(~ 0,025 mg/ml)

Lombikból vagy pipettából származó minta oldat kromatogramja (véletlenszerűen kiválasztott):



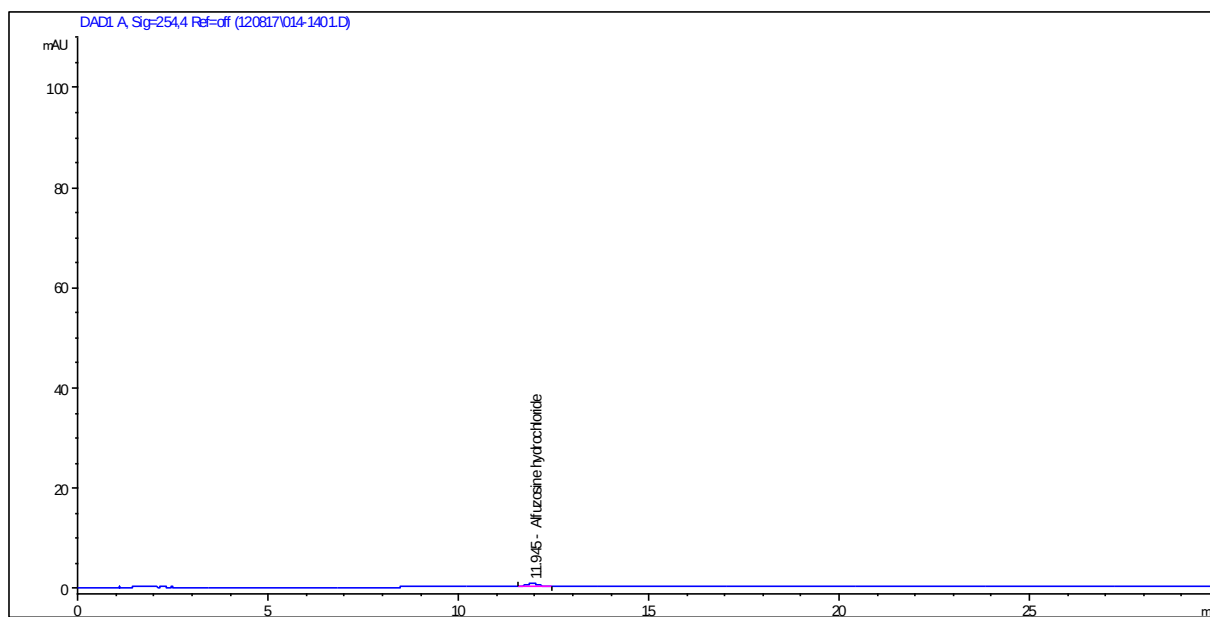
### 7.3. Alfuzosin kromatogramok:

Standard oldat (véletlenszerűen kiválasztott):



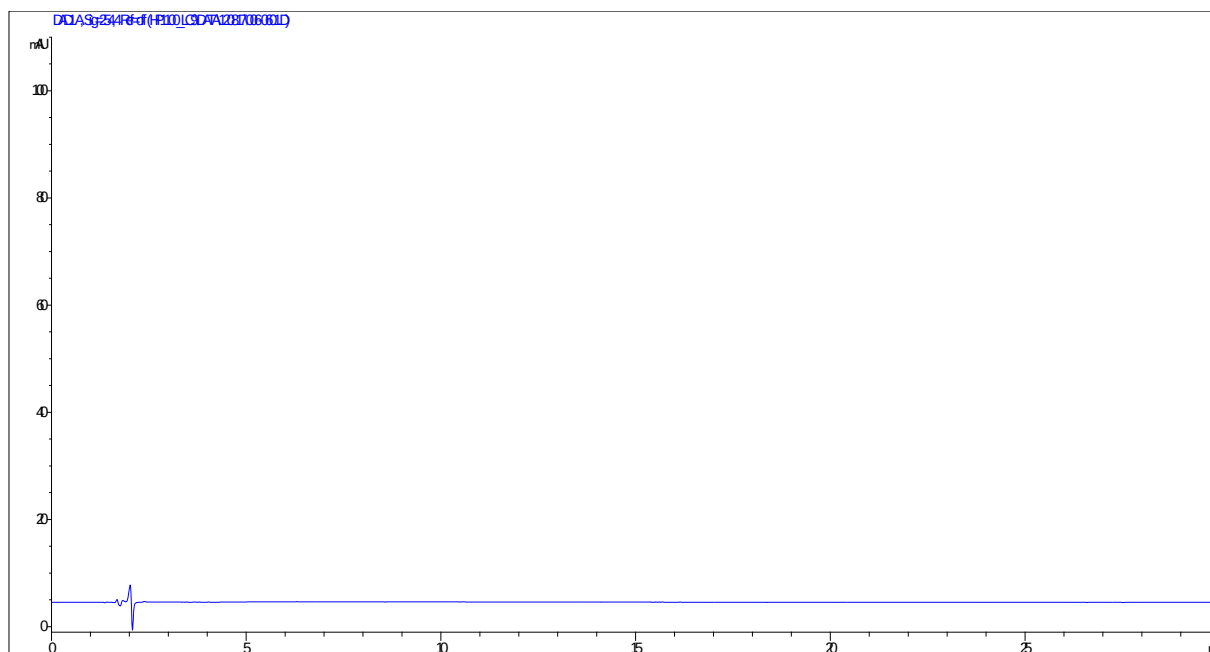
Alfuzosin területe:  $\sim 3090 \text{ mAU} \cdot \text{s}$  ( $\sim 0,05 \text{ mg/ml}$ )

Lombikból (éles minta előkészítés, 0. nap) származó minta oldat kromatogramja:

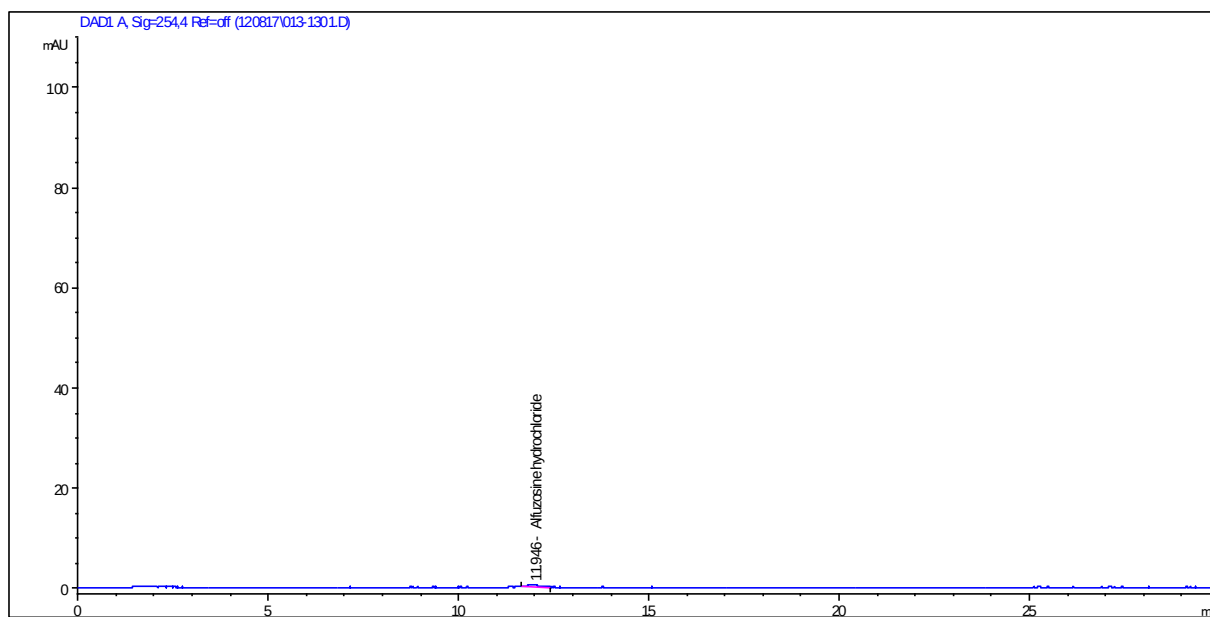


Alfuzosin területe:  $\sim 11,5 \text{ mAU} \cdot \text{s}$

Lombikból (Standard oldat előkészítés, 0. nap) származó minta oldatok kromatogramjai (véletlenszerűen kiválasztott):

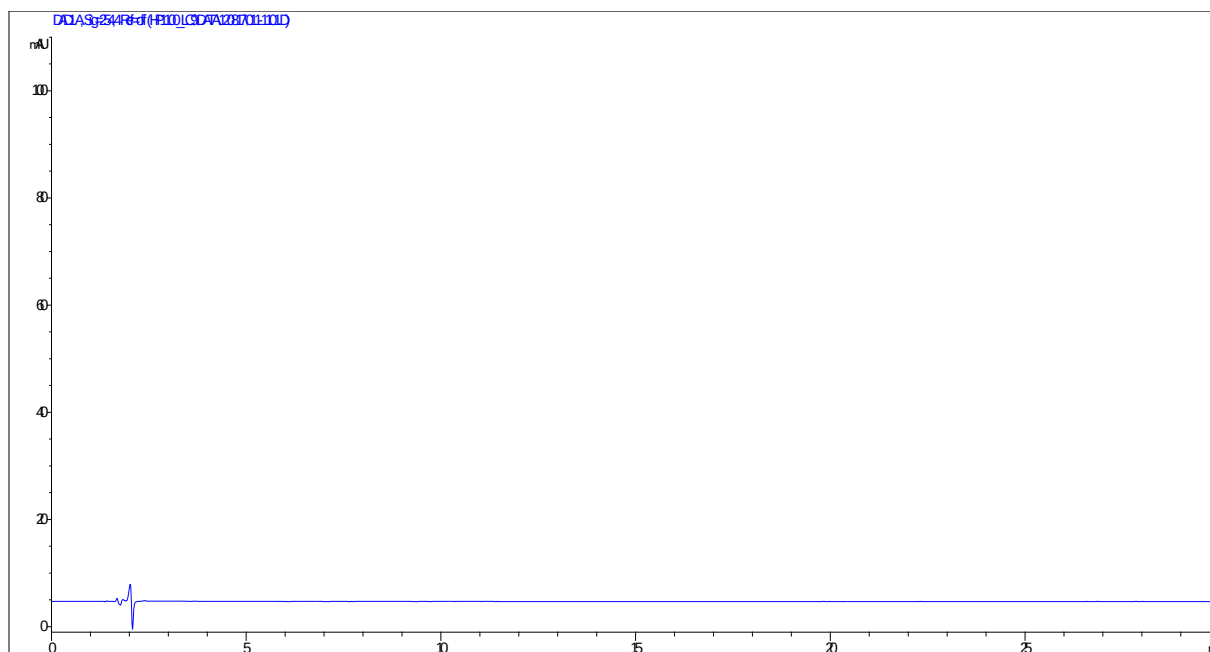


Lombikból (éles minta előkészítés, 2. nap) származó minta oldat kromatogramja:

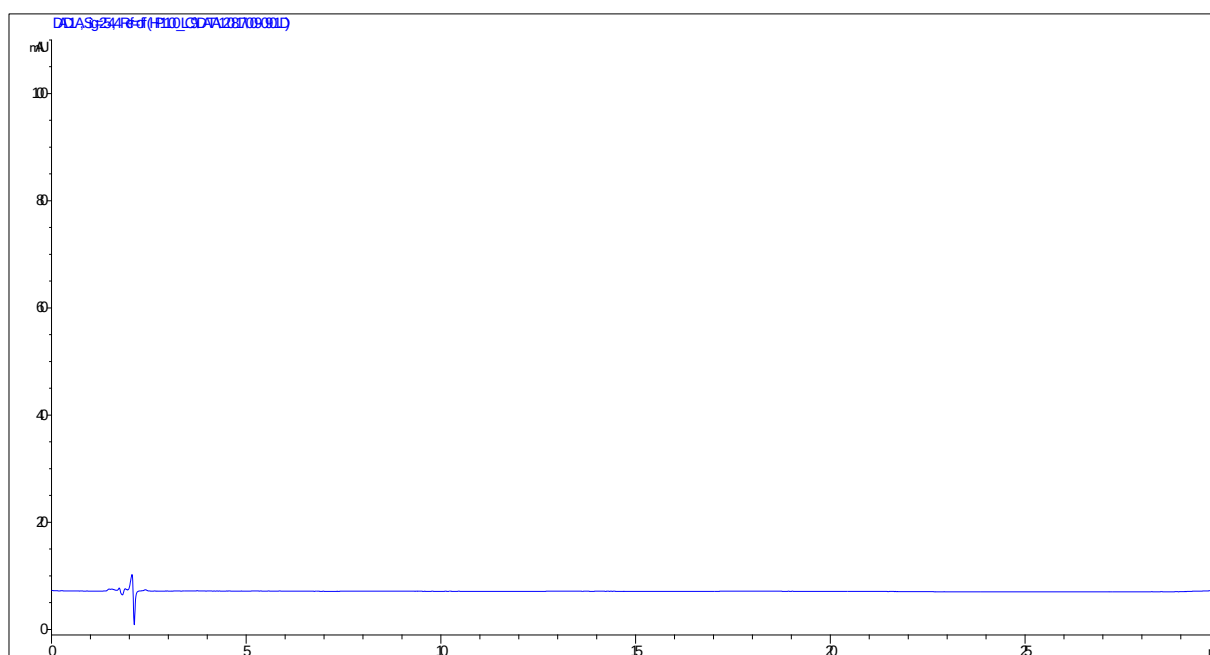


Alfuzosin területe:  $\sim 10,3 \text{ mAU} \cdot \text{s}$

Lombikból (Standard oldat előkészítés, 2. nap) származó minta oldatok kromatogramjai (véletlenszerűen kiválasztott):

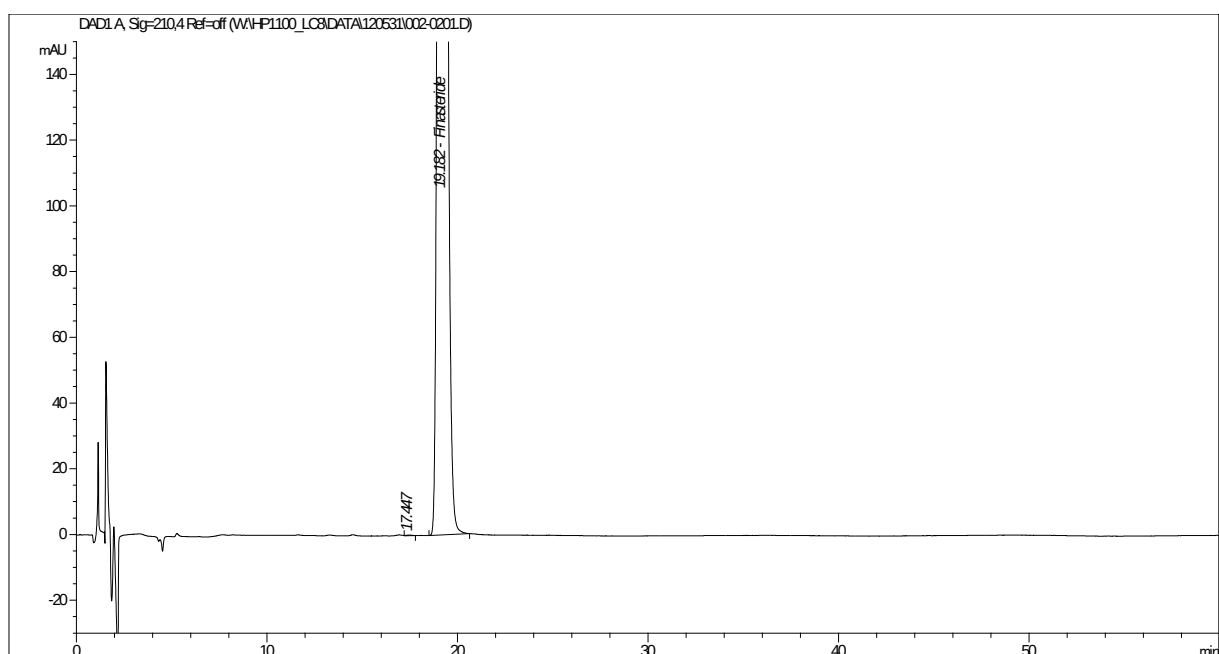


Pipettából származó minta oldatok kromatogramjai (véletlenszerűen kiválasztott):



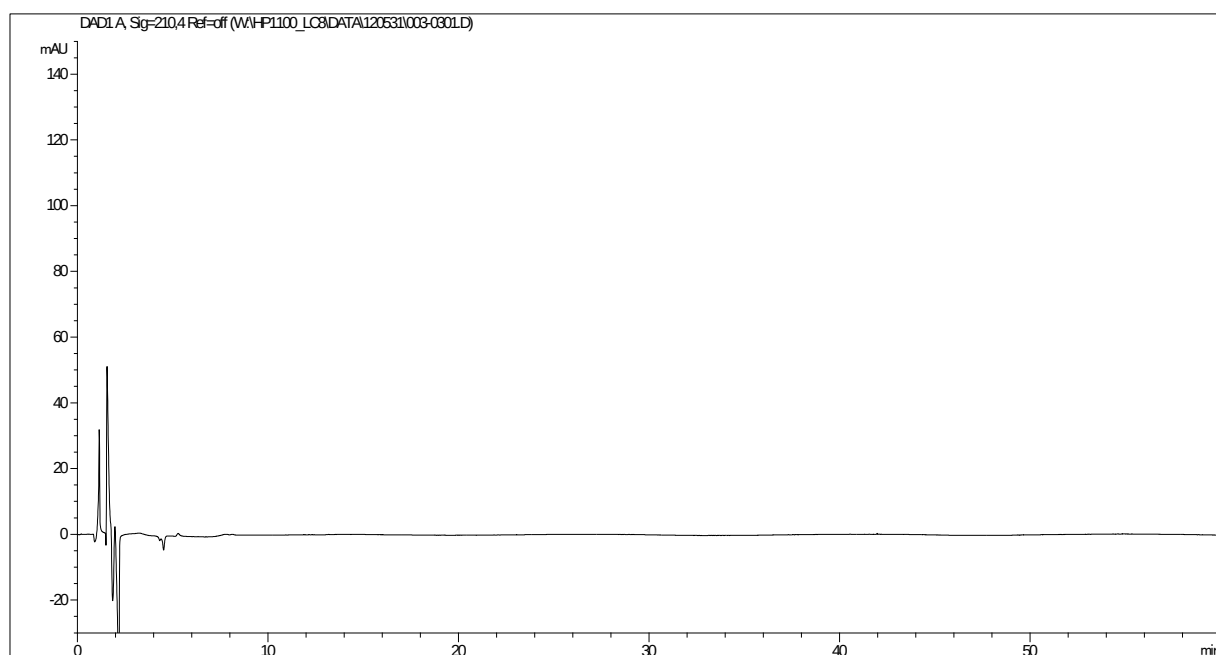
#### 7.4. Finasteride kromatogramok:

Standard oldat (véletlenszerűen kiválasztott):



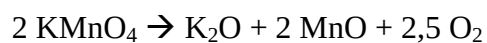
(~ 1 mg/ml)

Lombikból származó minta oldat kromatogramja (véletlenszerűen kiválasztott):



## 7.5. Számolás:

KOI vizsgálat maximális oxigén fogyása az alábbi egyenlet alapján:



$$c_{\text{KMnO}_4} = 0,02 \text{ M} = 0,02 \text{ mol/dm}^3$$

$$V_{\text{KMnO}_4} = 5 \text{ }\mu\text{l} = 5 \cdot 10^{-6} \text{ dm}^3$$

$$n_{\text{O}_2} = 2,5 / 2 \cdot c_{\text{KMnO}_4} \cdot V_{\text{KMnO}_4} = 2,5 / 2 \cdot 0,02 \text{ mol/dm}^3 \cdot 5 \cdot 10^{-6} \text{ dm}^3 = \underline{1,25 \cdot 10^{-7} \text{ mol}}$$

HPLC vizsgálatok elfogadási kritériumai a módszer LoD értéke és a lombikok/pipetták térfogata alapján:

| Vegyület    | Alkalmazott módszer kimutatási határa ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-------------|------------------------------------------------------------|
| Alendronate | 0,019                                                      |
| Candesartan | 0,625                                                      |
| Alfuzosin   | 0,025                                                      |
| Finasteride | 0,3                                                        |

| Vegyület    | Mérőlombik (ml) | Pipetta (ml) |
|-------------|-----------------|--------------|
| Alendronate | 100             | 5            |
| Candesartan | 25<br>50        | 2            |
| Alfuzosin   | 100             | 10           |
| Finasteride | 10<br>100       | -            |

Az öblítési térfogat minden esetben 5 ml mintaoldószer volt ( $V_{\text{öbl}}$ )

A következő képlet alapján:  $c_{\max} = V_{\text{lombik/pipetta}} / V_{\text{öbl}} * \text{LoD}$

| Vegyület    | Maximálisan megengedhető koncentráció a mérőlombikokból származó mintaoldatban (µg/ml) | Maximálisan megengedhető koncentráció a pipettákból származó mintaoldatban (µg/ml) |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Alendronate | 0,38 (100 ml-es lombik)                                                                | 0,019 (5 ml-es pipetta)                                                            |
| Candesartan | 6,25 (50 ml-es lombik)<br>3,125 (25 ml-es lombik)                                      | <LoD                                                                               |
| Alfuzosin   | 0,5 (100 ml-es lombik)                                                                 | 0,05                                                                               |
| Finasteride | 6 (100 ml-es lombik)<br>0,6 (10 ml-es lombik)                                          | -                                                                                  |

Alfuzosin tisztítása után mért koncentrációk:

Standard oldat terület: ~ 3090 mAU\*s

$c_{\text{std}} = 0,05 \text{ mg/ml} = 50 \text{ µg/ml}$

A 100 ml-es minta oldatok előkészítéséből származó normál mérőlombikokból detektált területek: 11,5 mAU\*s; 10,3 mAU\*s

Számított koncentráció:

$c_{11,5} = 11,5 \text{ mAU*s} / 3090 \text{ mAU*s} * c_{\text{std}} =$

$= 11,5 \text{ mAU*s} / 3090 \text{ mAU*s} * 50 \text{ µg/ml} = \underline{0,186 \text{ µg/ml}}$

$c_{10,3} = 10,3 \text{ mAU*s} / 3090 \text{ mAU*s} * c_{\text{std}} =$

$= 10,3 \text{ mAU*s} / 3090 \text{ mAU*s} * 50 \text{ µg/ml} = \underline{0,167 \text{ µg/ml}}$