



## Stabiliteitsonderzoek: hoe moet het en hoe kan het ook

Op dinsdag 28 november 2000 vond in hotel Haarhuis te Arnhem een 'gebruikers' bijeenkomst plaats met als onderwerp STABILITEITSONDERZOEK van geneesmiddelen in farmaceutische preparaten. Het belang van stabiliteitsonderzoek is, dat aangetoond moet kunnen worden dat het preparaat gedurende de bewaartermijn binnen de gestelde eisen blijft.

Maar het is veel werk om dit voor alle eigen bereidingen te doen en hoe moet het?

De eerste spreker, dhr. O.S.N.M. Smeets, verbonden aan het WINAp, vertelde hoe het zou moeten, (hier zijn richtlijnen voor, als je deze volgt ben je klaar maar dit is veel werk) en hoe het ook zou kunnen! Zijn verhaal concentreerde zich op de apotheek

bereidingen, de vrijgifte analyse en de ontwerpfase van het stabiliteitsonderzoek en hoe het een en ander geregeld is in Nederland, Europa en wereldwijd.

In Nederland heeft dit allemaal te maken met de GMP-z van 1996, Goede Manier van Produceren in de ziekenhuisfarmacie, om het kwaliteitsniveau te verbeteren, GMP Ziekenhuisfarmacie Hoofdstuk Z1. Ontwerpkwaliteit Samenstelling en Bereidingsvoorschrift is een identiek hoofdstuk met de industrie, echter GMP gaat over het productieproces en niet over het ontwerpproces. Bij de ontwerpkwaliteit van geneesmiddelen is het van belang om welke stoffen het gaat en welke verpakking er gebruikt worden om de stabiliteit van het geneesmiddel te waar-

borgen. De houdbaarheid van geneesmiddelen dient te worden onderbouwd (richtsnoer Z1.7)

Wetgeving: in Nederland hebben we de wet op de geneesmiddelenvoorziening van 1963 met als doel de kwaliteit van de geneesmiddelen op peil te houden. Men is een nieuwe wet op de geneesmiddelenvoorziening aan het voorbereiden en we hebben daarbij de hoop dat de regelgeving met betrekking tot het aan elkaar doorleveren door ziekenhuisapotheken wordt versoepeld. Als er in dit verhaal over wetgeving gesproken wordt bedoelen we de industrie.

Uitvoeringsbesluiten: het besluit etikettering m.b.t. de uiterste gebruiksdatum (maand/jaar).

Exp. maart 2001 betekent dat het houdbaar is tot de 1<sup>e</sup> van de maand dus 01-03-2001. Dit is verteld op deze 28<sup>e</sup> november, echter hier wordt door dhr. Smeets op teruggekomen en betekent houdbaar tot laatste dag van deze maand. Dit is na te lezen in "A guideline on the readability of the label and package leaflet of medicinal products for human use": pagina 9 punt 9.1 van de European commission.

Regeling Eisen Farmaceutische Preparaten Apotheken, art 3 (REFPA): deze regeling is van de begin jaren 90. Welke eisen moet je stellen aan een apotheekbereiding m.b.t. de hoeveelheid van het werkzame bestanddeel? In Nederland is dat 90-110% van de gedeclareerde waarde (berekend als chemische zui-vere substantie). Het is niet beschreven of dit een vrijgifte eis is of dat dit geldt voor een bewaartermijn, maar we bedoelen tot einde van de bewaartermijn.

The Rules Governing Medicinal Products in the European Union is het boek 'hoe het moet' in de farmaceutische industrie. Voor ons zijn de volgende guidelines van belang.

- Pharmaceutical legislation (regulations and directives)
- Notice to Applicants
- Guidelines (Notes for Guidance)
- Quality – Safety – Efficacy
- Good Manufacturing Practice
- Drug monitoring

<http://dg3.eudra.org/eudralex/index.htm>

Bij kwaliteit behoort houdbaarheids-onderzoek uitgevoerd te worden. In Europees verband moet een product voldoen aan het hierna genoemde registratiedossier, indien men dit product wil gaan registreren. "Directive 75/318/EEC (juli 1988): eisen registratiedossier, deel IIF: stability tests.

Waar moeten we op letten als we stabiliteitsonderzoek gaan uitvoeren?

Kijken naar het uiterlijk van het

preparaat. Belangrijk is het actieve bestanddeel. De vrijgifte specificatie in de industrie is 95-105% en mag alleen op grond van onderbouwde houdbaarheidsonderzoeken 90-110% zijn. Een eis voor registratie is: einde houdbaarheid 95-105%.

In de ziekenhuisfarmacie is dat anders, daar hebben we te maken met de REFPA regelingen en de vrijgifte specificatie is 90-110%, men streeft echter naar 95-105% als vrijgifte eis en laat de andere 5% als marge voor de degradatie gelden. De belangrijkste verschillen tussen industrie en ziekenhuisfarmacie:

- in de industrie is de houdbaarheidstermijn in de regel tot 5 jaar; gehalte eisen in de regel 95-105%.
- in de ziekenhuisfarmacie is de houdbaarheidstermijn in de regel 3 jaar; gehalte eisen in de regel 90-110%.

Op Europees niveau.  
Notes for Guidance 3AQ15a t/m 3AQ18a

- Stability Testing of New Active Substances and Medicinal Products
- Stability Testing on Active Ingredients and Finished Products (momenteel in revisie)
- Stability Testing: Requirements for New Dosage Forms
- Photostability Testing of New Active Substance and Medicinal Products

1<sup>e</sup> noot: in Europees verband in de industrie, dit is een ander verhaal dan een stof in een product testen die al jaren bestaat.

2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup> en 4<sup>e</sup> noot: zijn heel belangrijk voor met name nieuwe toedieningsvormen.

Op wereldwijd niveau.  
ICH: International Conference on Harmonisation of technical requirements for the registration on pharmaceuticals for human.

<http://www.ICH.org>  
Als een bedrijf in Europa een preparaat wil registreren in de Verenigde Staten van Amerika dan kan men de gegevens die in Europa gelden niet

in de VS gebruiken. In de VS gelden weer andere regels met als gevolg dubbel werk. Men probeert nu in wereldwijd verband te regelen dat, indien men onder de condities van het ICH werkt, de geneesmiddelen dan ook in bijv. de VS en Japan geregistreerd kunnen worden.

ICH: geen officiële wetgeving, de overheid is de deskundige van de industrie in de VS en Japan. Guidelines on Safety-Quality-Efficacy kunnen we implementeren in ons verhaal.

Hieronder volgen een aantal titels van zaken indien men zelf wat wil opzoeken.

Q1A Stability Testing of New Drug Substances and Products (in revisie)

Q1B Photostability testing

Q1C Stability Testing for New Dosage Forms

Stability Testing of New Drug Substance and Products (ICH)

Wil men als ziekenhuis een preparaat officieel laten registreren dan komt men er niet onderuit door exact te doen wat de spelregels voorschrijven. *Zo moet het, lees het door en ga aan de slag.*

*Maar hoe kan het ook, hoe houd je het praktisch.*

Ontwerp van een stabiliteitsonderzoek dat voldoet aan GMP-z.

Eisen aan charges:

- exact de bereidingswijze volgen die vastgelegd is.
- maak een goede keuze van het verpakkingsmateriaal.
- officieel zou men 3 charges moeten onderzoeken, waarvan er minimaal 2 op productieschaal gemaakt zijn (bij kleinere charges worden andere hulpmiddelen gebruikt waardoor er andere 'problemen' kunnen ontstaan); bij het LNA worden als regel 2 charges op productieschaal onderzocht.
- per charge andere batch werkzaam bestanddeel gebruiken (zo mogelijk van een andere fabrikant).

Als we stabiliteitsonderzoek gaan

doen hoeveel moeten we dan voor het onderzoek inzetten; het LNA neemt 100 % overmaat om onverwachte zaken te kunnen onderzoeken.

Eisen aan te testen parameters. Vooraf moet met een goede analyse-methode het gehalte bepaald kunnen worden en de eventuele ontleding gevolgd kunnen worden. Belangrijk om te weten is of de ontleding tot toxische producten leidt, wat is er al bekend. Kunnen we aan alle verandering onderhevige parameters (chemisch, fysisch-chemisch, microbiologisch) goed meten zoals pH en uiteenvaltijd. Stel van tevoren de specificaties vast waaraan het preparaat moet voldoen, specificaties zijn er om de kwaliteit onder controle te houden, kies ruime specificaties waar het kan. Besteed goed aandacht aan de stabiliteits-indicerende analysemethode.

Hoe bewaren we de monsters voor stabiliteitsonderzoek? Hierbij is temperatuur van essentieel belang. Het LNA gebruikt klimaatkasten. Een vaste relatieve vochtigheid (RH) is alleen van belang indien de verpakking hiertoe aanleiding geeft, vocht kan niet door glas, echter karton moet onder bepaalde vochtigheidscondities opgeslagen worden. Condities voor normaal stabiliteitsonderzoek zijn:  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\% \text{ RH} \pm 5\%$   
 koelkast:  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  (koelkast is meestal ingesteld op  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , maar haalt in de praktijk deze temperatuur niet).  
 diepvries:  $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$   
 Condities voor versneld stabiliteitsonderzoek zijn:  $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 75\% \text{ RH} \pm 5\%$   
 buiten specificatie:  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\% \text{ RH} \pm 5\%$   
 koelkast en diepvries: min.  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  boven bewaar temperatuur  
 Versneld stabiliteitsonderzoek alleen uitvoeren met een speciale reden bijv. stoffen waar helemaal niets over bekend is of een aarzeling over een formulering. Een normaal stabiliteitsonderzoek moet altijd uitge-

voerd worden, daar komen we nooit van af.

Testfrequentie  
 Officieel in de industrie

- 1<sup>e</sup> jaar: elke 3 maanden
- 2<sup>e</sup> jaar: elke 6 maanden
- daarna: elke 12 maanden

Andere frequenties zijn niet verboden en bij kortere houdbaarheden wordt de keuze anders.

'Halftime rule'

Wanneer kan men een uitspraak doen over een bewaartermijn? Als de bewaartermijn 6 maanden is en onderbouwd is kan men 1 jaar claimen bij het college (CBG<sup>1</sup>), dwz. dat er aangenomen wordt dat de bewaartermijn gedurende 1 jaar onveranderd blijft. Altijd moet de gehele termijn onderbouwd worden.  
 ICH : – minimaal 12 maanden beschikbaar  
 – volledig termijn onderbouwd

- CBG<sup>1</sup>: – 6 mnd-1 jaar 1 jaar-2 jaar
- 2 jaar -3 jaar 3 jaar-5 jaar
- volledige termijn onderbouwd

<sup>1</sup> College ter beoordeling van geneesmiddelen.

Bracketing (bij meer dan 2 sterktes) en Matrixing (bij meer dan 2 charges) Er zijn bij een injectievloeistof bijv. 4 verschillende sterktes. Dan moeten er veel monsternames gedaan worden. Men mag dan de laagste en de hoogste sterktes bij het stabiliteitsonderzoek betrekken. De tussenliggende sterktes kan men dan interpoleren. Dit noemt men bracketing. Indien er bij 3 charges een stabiliteitsonderzoek gestart wordt bekijk dan de mogelijkheid van matrixing. Dat wil zeggen niet op elk tijdstip alles testen. Door vooraf een analyseschema op te stellen kan de omvang van het stabiliteitsonderzoek beperkt worden.

Fotostabiliteit

De gegevens hierover in de handboeken zijn nauwelijks onderbouwd en we willen dit graag veranderen

door condities vast te gaan leggen.

Lichtbron: de lichtbron dienen we te standaardiseren, in de vensterbank is wel praktisch maar voor kort houdbare preparaten niet echt handig als men te maken heeft met zomer en winter.

- D65/ID65 emissie standaard
- kunstmatig daglicht > 320 nm
- combinatie wit licht + UV 320-400 nm
- tijdsduur blootstelling standaardiseren met kinine-oplossing

Toekomst

We staan voor een geweldige klus als we alle producten die in de apotheek gemaakt worden willen volgen op de officiële manier. Kijk eerst wat er al gedaan is in het verleden door het LNA, WINAp of een collega en vraag je af 'kan ik daar wat mee'. Er zijn zoveel preparaten die op voorraad worden gemaakt, waarbij het ene preparaat meer risico op achteruitgang van de kwaliteit loopt dan een ander preparaat. Zoals capsules die minder gevoelig zijn dan vloeistoffen. Inventariseer per toedieningsvorm op actieve stof, ga aldus na welk preparaat dan belangrijk is om als eerste aan te pakken.

Stabiliteit in de praktijk.

WINAp / LNA:

parenteralia project, het WINAp inventariseert welke injectie preparaten er in Nederland in ziekenhuisapotheken op voorraad bereid worden, een beperkt aantal wordt dan uitgebreid getest, daarna zou men de gegevens over kunnen nemen, mits het preparaat dezelfde samenstelling heeft is dit toegestaan. Maar je zal er altijd wel wat aan moeten doen.

CAT-enquête:

inventarisatie, de komende 2 maanden gaan we inventariseren wie nu wat heeft gedaan en volgens welke methode. Retrospectief of een stabiliteitsonderzoek volgens het 'Protocol stabiliteitsonderzoek van geneesmiddelen in waterige oplossingen'

van de NVZA. Als men bereid is deze gegevens uit te wisselen dan zal deze inventarisatie op het internet geplaatst worden.

#### Ziekenhuislaboratoria:

alleen preparaten testen die voor jouw ziekenhuisapotheek van belang zijn en die kritisch zijn in hun bewaartermijn. Belangrijk is een goede analysemethode en opslag onder de juiste condities.

**Kortom: héél selectief zijn en goed nadenken voordat je het stabiliteitsonderzoek gaat uitvoeren.**

Na het middageten hield dhr. K.G. Dekens, ziekenhuisapotheker in het Martini Ziekenhuis te Groningen een voordracht over: Shelf-life onderzoek; praktijkervaringen in de NGZA, met voorbeelden van de 'Werkgroep houdbaarheidsonderzoek NGZA'.

Het initiatief om houdbaarheidsonderzoek te gaan uitvoeren werd genomen toen het 'Protocol stabiliteitsonderzoek van geneesmiddelen in waterige oplossingen' van de NVZA (1993) werd uitgebracht. Hierin werd aangegeven op welke wijze het onderzoek uitgevoerd zou moeten worden. Naar aanleiding van dit protocol is de genoemde werkgroep opgericht. Deze werkgroep heeft bij 10 eigen bereidingen de stabiliteit onderzocht.

Als eerste heeft de werkgroep een 'Protocol shelf-life stabiliteitsonderzoek NGZA' opgesteld en conform het eerder genoemde protocol van de NVZA, 10 preparaten onderzocht. Daarbij is er een spreadsheet ontwikkeld voor validatie/verwerking van de resultaten.

#### Onderzochte preparaten:

- AZG: papaverine ampul; promazine ampul
- Martini ziekenhuis: povidon jodium spoelvloeistof/oogdruppels
- Meppel Hoogeveen: suxamethoniumchloride ampul
- Leeuwarden: bupivacaïne injectieflacon

- Hardenberg: fysostigmine salicylaat ampul
- Drachten: fluoresceïne-Na ampul
- Heerenveen: prednisolon ampul
- Assen: lidocaïne/adrenaline injectieflacon

Deze middag werden vier preparaten besproken:

1. Povidon jood spoelvloeistof 1%
2. Bupivacaïne 0,25% injectie flacon 50 ml
3. Fluoresceïne-Na 1 ml = 100 mg ampul
4. Suxamethoniumchloride 2 ml = 100 mg

ad1. Povidon jood spoelvloeistof 1%  
Methode

- Totaal jodium titrimetrisch met Na-thiosulfaat 0,1 M
- Ontledingsproduct: jodide
- Variatiecoëfficiënt 0,3%, monsters in triplo
- Zowel uitgevoerd bij kamertemperatuur als in de koelkast

Grafieken werden getoond, de afname van het gehalte werd gevolgd bij bewaren gedurende 1, 3, 6, 12 en 18 maanden bij kamertemperatuur en in de koelkast.

Opmerkelijk was dat het gehalte na 1 maand gestegen was terwijl verwacht werd dat het gehalte zou afnemen. Analyseprocedure of evenwichtinstelling van het product?

#### Conclusie

Povidon jodium spoelvloeistof 1% heeft een houdbaarheidstermijn van 1 jaar.

Bij bewaren in de koelkast wordt de houdbaarheidstermijn verdubbeld.

ad2. Bupivacaïne 0,25% injectie flacon 50 ml

- HPLC
  - Kolom: Lichrosorb RP-18 7 µm 250-4
  - Eluens: fosfaatbuffer pH 6,8/acetonitril 35/65
  - Flow: 2 ml/min
  - Detectie: 263 nm
  - Interne standaard: Dibutylphtalaat
  - Ieder meettijdstip een nieuwe ijklijn

#### Resultaten validatie

- Selectiviteit: geen ontledingsproducten bij geforceerd ontleden door hydrolyse en oxidatie (controle d.m.v. DLC)
  - piekzuiverheid m.b.v. diodearray detectie
- Lineaire ijklijn
- Variatiecoëfficiënt 0,6%
  - monsters in triplo geanalyseerd
- Recovery proefmengsels:
- Theoretisch gehalte Recovery
 

Theoretisch gehalte	Recovery
120%	101,0%
100%	100,4%
50%	97,6%

Grafieken en chromatogrammen werden getoond van twee proefcharges.

Op basis van proefcharge 1 zou de bewaartermijn op 50 maanden gesteld kunnen worden, echter bij een tweede proefcharge werd er een grote spreiding geconstateerd welke niet verwacht werd van dit product. Gezien de gegevens zouden er geen harde conclusies getrokken kunnen worden met betrekking tot de bewaartermijn. Het chromatogram t=1 maand is identiek aan chromatogram t=18 maanden.

#### Conclusies/resultaten

- Grote verschillen tussen de charges
- Bupivacaïne ontleeft niet snel
- Variatiecoëfficiënt 0,8-1,3% (vs 0,6% bij validatie) indien geen ontleding wordt verondersteld
- Keuze interne standaard?
- Eisen chromatografie, system suitability?
- Robuustheid van de bepaling belangrijk
- Twee jaar houdbaarheid te garanderen

ad3. Fluoresceïne-Na 1 ml = 100 mg ampul

#### Methode

- HPLC
  - Kolom: Inertsil ODS-2 250 x 4 mm
  - Eluens: buffer pH 3,3/acetonitril 58/42
  - Flow: 0,8 ml/min
  - Detectie: 12 min 205 nm,

4 min 225 nm

- Interne standaard: fenytoïne

### Methodeontwikkeling

- Fluoresceïne-Na is zeer hygroscopisch
- Eenmalig nauwkeurig bepalen van  $E_{1\text{cm}, 1\%}$  op gedroogde referentiestof, waarna UV-gehaltebepaling van de standaarden op ieder meettijdstip. Deze methode bleek nauwkeuriger dan drogen op ieder meettijdstip

### Resultaten validatie

- Variatiecoëfficiënt  
0,9% (piekoppervlak)  
1,5% (piekhoogte)
- Dag tot dag variatie van het meetsignaal aanvankelijk groot: waarschijnlijk pH invloed, alle verdunningen en standaarden in buffer i.p.v. water gemaakt
- Lineaire ijklijn
- Ontledingspiekjes gescheiden van moederstof en interne standaard

gehalte (%) tegen de tijd (maanden)  
Het valt op dat het gehalte na ca. 1 maand daalt en daarna weer stijgt tot de beginconcentratie en dan constant blijft, maar het gaat hier om kleine verschillen.

ad4. Suxamethoniumchloride 2 ml = 100 mg

### Methode:

- HPLC methode: korte retentietijden, veel (negatieve) stoorpieken
- Eluens bevat tetramethylammoniumchloride: bijna niet meer

Hoe ingewikkeld/tijdrovend is stabiliteitsonderzoek?

- Het opzetten van een bepalingen validatiemethode; dit moet toch gebeuren dus een stabiliteitsindicerende methode kan dan direct opgestart worden.
- Berekeningen; gebruik hiervoor een spreadsheet.
- Bereiden van twee (proef) charges
- Analyse op  $t = 0, 3, 6, 12$  en 18 maanden; zijn in het begin vreemde dingen.

**Tabel 2**

Resultaten (%)

	M96K1001	M96L2001	M97D2404
1 ampul voor sterilisatie			98,6
t = 0			96,0
1 week	94,4	93,0	95,6
1 maand	95,7	91,9	95,3
2 maand	94,4	91,7	95,0
4 maand	93,8	91,3	95,1
6 maand	93,3	90,4	95,3

**Tabel 1**

Resultaten recovery onderzoek fluoresceïne-Na proefmengsel

Theoretisch gehalte	Gemeten gehalte	Recovery
50%	50,16%	100,32%
100%	100,07%	100,07%
150%	149,06%	99,37%
200%	196,99%	98,50%

Vervolgens werd een plaatje getoond met pH afhankelijkheid extinctie fluoresceïne, op 225 nm een enorme verschuiving in extinctie waaruit de pH afhankelijkheid blijkt. Zie tabel 1.

De eerste analyses

t = 0 vóór sterilisatie: 95,2%

t = 0 na sterilisatie: 104,2%

Een verschil van ca. 10% , dit viel tegen. Vooral doorgaan was het advies. Na twee weken werd er opnieuw geanalyseerd, het gehalte was toen 96,5%. Na 18 maanden werd geconstateerd dat de uitslag van 104,2% een uitbijter was, getoetst met de Grubbs test. Vervolgens werden er grafieken getoond van de resultaten van het

van de kolom af te krijgen

- Titratie: vrij zuur voor- en na hydrolyse (Ph.Nord.)
- Variatiecoëfficiënt: 0,27%

Zie tabel 2.

Suxamethoniumchloride is een instabiele stof, gevoelig voor temperatuur, vóór sterilisatie 98,6% en na 5 maanden 95,3%. Een overweging zou kunnen zijn om een overmaat stof in de ampullen te doen.

### Conclusie

- Houdbaarheidsonderzoek heeft geleid tot een goede analyse-methode
- Hierdoor is een kritische stap in het productieproces (snel afwerken, direct in de koelkast) aangetoond

- Moed verzamelen; kost ook veel tijd en na vandaag wel 3 x zoveel

### Conclusie

- Shelf-life onderzoek is in het laboratorium van de ziekenhuis-apotheek uitvoerbaar
- Gezamenlijk optrekken in een regio kan voordelen hebben
- Een goed gevalideerde analyse-methode is meer dan het halve werk
- Naast een houdbaarheidsstermijn levert shelf-life onderzoek veel inzicht op in product en analyse-methode

Na deze interessante verhalen van beide sprekers konden er nog vragen gesteld worden, waar dankbaar gebruik van werd gemaakt. Hiermee kwam nogmaals naar voren dat er geen keiharde richtlijnen zijn en dat retrospectief houdbaarheids-onderzoek een goed alternatief is.

Namens de analysecommissie:  
Willy Ramp-Koopmanschap  
Tonny Knuijff