



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

LABORATOŘ OBORU I

ÚSTAV ORGANICKÉ TECHNOLOGIE (111)

N

Validace čistících procesů

Vedoucí práce: Ing. Jan Patera, Ph.D.

Umístění práce: S25b

Validace čistících procesů

Úvod

Validace čistícího procesu slouží k ověření, že čistící proces efektivně odstraňuje zbytky produktu a čistícího prostředku z výrobního zařízení. Ve farmaceutickém průmyslu je po umytí výrobního zařízení dle příslušného standardního operačního procesu (SOP) třikrát odebrán vzorek zvolenou metodou a vzorek je vyhodnocen analytickou metodou. Kvalifikace mycího procesu je prováděna metodami vizuální kontroly čistoty, analýzou stěrů reziduí sledované látky, analýzou poslední oplachové vody, analytickým hodnocením následně vyráběného placebo nebo mikrobiologickým hodnocením poslední oplachové vody. Všechny druhy vzorků musí být odebírány podle předpisů zaškolenou osobou. Sledovanou látkou je účinná látka, pomocná látka nebo detergent.

Pro jednu výrobní linku je možné určit na základě metody „nejhoršího případu“ přípravek zastupující všechny přípravky vyráběné na této lince. Kritéria pro zvolení nejhoršího případu jsou obtížnost čištění, rozpustnost v čistícím médiu, největší toxicita, nejmenší terapeutická dávka a nejmenší limit (např. z terapeutické dávky). Procesní kvalifikace mycího procesu je prováděna pro nově vyráběné přípravky, nová zařízení, nové systémy CIP (Clean in place) a nově používané detergenty.

Metodika vzorkování a zkoušení

Stěr se provádí pomocí vatového smotku o hmotnosti 80 – 150 mg v pinzetě nebo pomocí stěrových tyčinek vyrobených zpravidla z polyesteru. Stírací materiál je před použitím extrahován v Soxhletově extraktoru methanolem po 3 hodiny, aby neobsahoval nečistoty. Tento proces je dvakrát opakován. Smotek je navlhčen v rozpouštědle, v kterém je sledovaná látka rozpustná. Je-li použita voda jako rozpouštědlo, lze provést dva stěry, první navlhčenou vatou a druhý na stejném odběrovém místě nenavlhčeným smotkem. Stírací plocha je 100 cm² a optimální rozměry jsou 10x10 cm. Vyznačená plocha je setřena jedním směrem a poté druhým, kolmým na první, smotek je zpravidla otáčen. Smotky vaty jsou po stěru vloženy do označené skleněné lahvičky a dále analyticky zpracovány.

Pro každou sledovanou látku, jejíž vzorky jsou odebírány metodou stěrů, jsou prováděny Recovery testy. Slouží k ověření správného odběru vzorku, ověření správně zvoleného rozpouštědla, vytvoření podkladů pro validaci analytické metody a k stanovení Recovery faktoru, který slouží k přepočtu nalezené koncentrace sledované látky ve stěru. Test se provádí s materiálem simulujícím plochu výrobního zařízení.

Po analytickém zhodnocení vzorků je provedena korekce na RF, hodnoty jsou porovnány s kritérii přijatelnosti. Jsou-li vzorky nevyhovující, provede se znovu test daného místa. Při zjištění dvou a více významných překročení limitu je třeba zjistit příčinu a případně navrhnout nový mycí proces a validaci znovu opakovat.

Revalidace mycího procesu je prováděna při změně způsobu čištění zařízení, změně druhu detergentu, změně parametrů mycího programu, změně parametrů při výrobě nebo při ukončení platnosti validační zprávy.

Postup práce

Základní roztok losartanu je připraven navážením a rozpuštěním přibližně 50 mg draselné soli losartanu v methanolu v 50 ml odměrné baňce. Pracovní roztok je připraven dalším

nařazením základního roztoku, kdy je odměřeno 5 ml roztoku do 50 ml baňky a doplněno směsí methanol-voda 3:1.

Kalibrační závislost

Do vialek je odměřen 1 ml směsi methanol-voda 3:1 a poté je k němu konstriční mikropipetou přidáno 100, 200, 300, 400 a 800 ul pracovního roztoku losartanu. Roztok je promíchán a analyzován pomocí HPLC. Zároveň je proveden slepý pokus - analýza samotné směsi methanol-voda.

Recovery test

Na umyté nerezové desky (ocel AISI 316 L) s vyznačenými plochami 10x10 cm je rovnoměrně nanášeno 250 a 400 µg losartanu ze základního roztoku (kritérium přijatelnosti pro Losartan je 312 µg/dm²). Po odpaření rozpouštědla jsou plochy setřeny smotkem vaty napuštěným 0,5 ml methanolem. Stěr se provádí smotkem vaty napuštěným methanolem (0,5 ml). Vyznačená plocha se setře jedním směrem a poté druhým, kolmým na první, smotek se zpravidla otáčí. Následuje ještě jeden stěr pro ověření zůstatkové koncentrace sledované látky na testovací ploše. Uzavřená vzorkovnice s vlhkým smotkem vaty, kterým byl proveden stěr, se zváží na analytických vahách. Poté je do vzorkovnice odměřen pipetou 1 ml směsi methanol-voda 3:1 a nechá se působit na smotek vaty nejméně 15 minut. Po extrakci je kapalný podíl převeden ze vzorkovnic do vialek, které jsou použity pro chromatografické analýzy. Po odsátí co největšího podílu kapaliny se vzorkovnice nechají vyschnout v sušárně a poté jsou zváženy. Analýzy vzorků jsou prováděny převzatou metodou pro HPLC analýzy a koncentrace losartanu vypočítána dle provedené kalibrační závislosti. Z rozdílu hmotností a hustoty methanolu (0,7917 g/cm³) se určí objem methanolu původně obsaženého ve vatě a dále pak je ze zjištěné koncentrace účinné látky ve vzorcích vypočteno skutečné množství losartanu vyextrahované ze smotků vaty. Ze zjištěného obsahu sledované látky ve stěru a ze známé koncentrace roztoku je spočítán Recovery factor (RF).

Ze znalosti RF a analýzou stěrů na „slepých“ površích dodaných vedoucím práce vypočtete reálně nanášené množství losartanu a zhodnoťte jestli by vyhovovalo kritériím pro čisté povrchy.

Analytická část

kolona: LichroSpher RP-Select B (nebo podobná C8 kolona)

mobilní fáze: methanol - voda - 0,5M H₃PO₄ v poměru 30:10:0,5

průtok mobilní fáze: 0,8 ml min⁻¹

teplota termostatu kolony: 30°C

objem vzorku v nástřiku na kolonu: 20 µl