

„Opracowanie nowych metod bioanalitycznych oraz optymalizacja sposobu ich walidacji”

Streszczenie

Ważnym elementem prac badawczo-rozwojowych nad nowymi produktami leczniczymi są badania farmakokinetyczne i toksykologiczne. Badania te wymagają oznaczenia stężeń substancji czynnych badanych produktów leczniczych w materiale biologicznym, najczęściej w osoczu i wykonywane są za pomocą zwalidowanych metod bioanalitycznych. Istnieje zatem ciągle zapotrzebowanie na nowe metody bioanalityczne. Walidacja metod bioanalitycznych była do 2023 roku wykonywana zgodnie z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków (*ang. European Medicines Agency - EMA*) lub Amerykańskiej Agencji ds. Leków i Żywności (*ang. Food and Drug Administration - FDA*) i dokumentowana zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (*ang. Good Laboratory Practice - GLP*). W odpowiedzi na postulowane od wielu lat uwagi o harmonizacji na poziomie międzynarodowym zaleceń dotyczących walidacji metod bioanalitycznych, w 2019 roku powstał projekt wytycznej ICH M10, opracowany przez Międzynarodową Radę Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (*ang. The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use – ICH*). W świetle trwających prac nad ostateczną wersją wytycznej ICH M10, widoczna była potrzeba optymalizacji testów walidacyjnych z zakresu zalecanej liczby próbek kontrolnych (*ang. Quality Control – QC*) w teście stabilności, kolejności próbek w sekwencji analitycznej w teście oceniającym wpływ matrycy oraz liczby użytych źródeł matrycy. Innym zagadnieniem, które jest niedostatecznie poznane jest stabilność długoterminowa analitów w próbkach biologicznych.

Celem niniejszej pracy było: 1) opracowanie nowych metod bioanalitycznych, 2) optymalizacja sposobu ich walidacji w zakresie badania wpływu matrycy (kolejność próbek w sekwencji analitycznej) oraz testu stabilności (liczba próbek kontrolnych), 3) ocena stabilności długoterminowej wybranych analitów (dutasterydu i arypiprazolu) w próbkach osocza ludzkiego.

Badania pozwoliły na opracowanie dwóch precyzyjnych i selektywnych metod oznaczania 21 substancji czynnych leków przeciwdepresyjnych oraz dutasterydu (syntetycznego analogu testosteronu) wraz z metabolitami w osoczu ludzkim. Metody te mogą być stosowane w praktyce np. w badaniu równoważności biologicznej. W toku prac wykazano także stabilność długoterminową dutasterydu (3 lata) i arypiprazolu (7 lat) w osoczu ludzkim. Wyniki badania z zakresu optymalizacji testów walidacyjnych pokazały, że ze względu na duże różnice w profilach fosfolipidów, uważanych za istotny czynnik powodujący efekt matrycowy, w osoczach pochodzących z różnych źródeł, użycie jednego osocza lipemicznego zalecane przez ICH M10 jest niewystarczające, żeby ocenić wiarygodność metody bioanalitycznej. Z zakresu optymalizacji przeprowadzania testu stabilności, za optymalną liczbę powtórzeń próbek QC wykazano liczbę pięć, uznając liczbę trzy, sugerowaną przez wytyczną ICH M10, jako niewystarczającą do wykazania stabilności analitu w materiale biologicznym. Wyniki przeprowadzonych badań znajdują odzwierciedlenie w nowym wydaniu Standardowej Procedury Operacyjnej Sekcji Farmakokinetyki dotyczącej walidacji metody bioanalitycznej pt. „Walidacja metod bioanalitycznych”.

gniazdowska