

Arh.farm. 2011;61: 449 – 463

Pregledni rad/Review article

## Stabilnost lekova – industrijski aspekt

Ljiljana Solomun<sup>1</sup>, Svetlana Ibrić<sup>2</sup>, Vjera Pejanović<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hemofarm AD, Beogradski put bb, Vršac

<sup>2</sup> Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, Beograd

---

### Kratak sadržaj

Ispitivanje stabilnosti realizuje se u više faza razvoja novog proizvoda. U ranim fazama razvoja ispituju se uticaji različitih spoljašnjih faktora (temperatura, vlaga, svetlost, kiseonik, mikroorganizmi) na potencijalne formulacije, kompatibilnost lekovite supstance, pomoćnih supstanci i kontaktne ambalaže. Kondicioniranjem proizvoda u različitim, ekstremnim uslovima, definišu se mogući putevi degradacij i predviđa brzina degradacije. Rezultati koji se dobiju u toku ove faze ispitivanja koriste se za definisanje parametara ispitivanja u formalnim studijama stabilnosti. U ovoj fazi ispitivanja, primenjuju se brojne smernice kojima se definišu parametri koji će se ispitivati. Osnovni elementi koji se definišu jesu uslovi ispitivanja i frekvencija ispitivanja. Ubrzano ispitivanje stabilnosti sprovodi se u trajanju od 6 meseci, pri čemu se proizvod izlaže temperaturi višoj od očekivane temperature skladištenja; dugotrajno ispitivanje se izvodi pod očekivanim uslovima čuvanja, a dužina ispitivanja se poklapa sa predviđenim rokom trajanja. U okviru stres ispitivanja se vrši i ispitivanje fotostabilnosti, a u pojedinim slučajevima, vrši se ispitivanje *in use* stabilnosti, pri čemu se definišu uslovi čuvanja i rok u kome se proizvod mora upotrebiti nakon prvog otvaranja, odnosno rekonstitucije. Rezultati ispitivanja koriste se i za postavljanje konačnih specifikacija kvaliteta lekova, posebno sa aspekta degradacionih proizvoda (nečistoća). U obradi rezultata koriste se različite statističke metode i matematički modeli, kao što su veštačke neuronske mreže, u cilju predviđanja stabilnosti u kraćem vremenskom roku.

**Ključne reči:** stabilnost, stres ispitivanje, formalno ispitivanje, fotostabilnost, *in use* stabilnost, degradacioni proizvodi, veštačke neuronske mreže

---

## Istorijat ispitivanja stabilnosti

Priča o lekovima počinje davno, u vreme kada su se u svrhe lečenja uglavnom koristile biljke. Postoje ideogrami koji pokazuju da su još 5000 godina pre nove ere (p.n.e.) Sumeri koristili opijum, a Egipćani 3500 godina p.n.e. proizvodili i koristili alkohol. Prvi pisani trag koji opisuje ovu oblast datira još iz 2735. godine p.n.e. kada je kineski car Shen Nung (slika 1) napisao knjigu o lekovitim biljkama i njihovoj upotrebi (1).



Slika 1. Proizvodnja lekova nekada...

Međutim, sve do 19. veka, dok se nije počelo sa izolovanjem aktivnih principa, njihovom identifikacijom i ciljanom primenom u izradi lekovitih preparata, nije se moglo govoriti o definisanju kvaliteta ovih proizvoda. Prvo izdanje američke farmakopeje (USP) štampano je 20. decembra 1820. kada je uveden sistem standarda i sistem kontrole kvaliteta, što je u tom trenutku podrazumevalo potvrdu identiteta lekovite supstance, aktiviteta i sl.

Uvođenje industrijske proizvodnje i proizvodnje velikih šarži, nameću potrebu sagledavanja kvaliteta leka u dužem periodu – *stabilnost leka*. Prve promene lekova tokom čuvanja uočene su organoleptički. To je iniciralo da se u izdanju Dobre proizvođačke prakse (GMP) iz 1972. godine prvi put definiše zahtev za ispitivanje stabilnosti novih proizvoda. Američka farmakopeja (USP

XIX) 1975. godine uvodi obavezu označavanja roka upotrebe na gotovim lekovima, a Američka agencija za hranu i lekove (FDA) izdaje 1984. prvu smernicu koja se bavi definisanjem ispitivanja stabilnosti.

Istovremeno se razvijaju i analitičke, instrumentalne tehnike, koje se sve više koriste u ispitivanju lekova. Uvođenje separacionih, najčešće hromatografskih metoda, dešava se osamdesetih godina prošlog veka i tada se pojavljuju prvi rezultati koji ukazuju na pojavu brojnih degradacionih proizvoda, kako u lekovitoj supstanci, tako i u gotovom proizvodu. Tako se otvaraju vrata novog poglavlja u definisanju kvaliteta lekova u dužem vremenskom intervalu, kakvo zahteva današnja savremena farmaceutska industrija (slika 2).



**Slika 2. Savremena farmaceutska, industrijska proizvodnja**

### **Faktori koji utiču na stabilnost**

Prvi dobijeni rezultati ukazali su na različite razloge nestabilnosti lekova. U osnovi, definišu se dve osnovne grupe faktora rizika koji utiču na stabilnost: unutrašnji i spoljašnji.

U unutrašnje faktore spadaju elementi koji se definišu u ranim fazama razvoja leka: osobine i kvalitet lekovite supstance, farmaceutski oblik, formulacija proizvoda, odnosno osobine pomoćnih supstanci, ali i kontaktne ambalaže.

Kada se govori o spoljašnjim faktorima, uglavnom se misli na uticaje: temperature, vlage, svetlosti, kiseonika, mikroorganizama, na kvalitet lekova tokom skladištenja, transporta i upotrebe.

Ovi faktori u funkciji vremena različitom brzinom i intenzitetom utiču na promene lekova, a zavisno od osobina lekovite supstance, farmaceutskog oblika, sastava formulacije – jednom rečju unutrašnjih faktora.

Ako se zna da na kvalitet leka utiče kombinacija različitih faktora, dolazi se do broja promenljivih koji se ne može teorijski rešiti, već su neophodni brojni eksperimenti koji bi pokazali njihov međusobni uticaj. S obzirom da je reč o dugotrajnim ispitivanjima, sve više se u planiranju ovih eksperimenata zahteva naučni pristup u predviđanju reakcija i putanja degradacije i potencijalnih promena.

Zadatak farmaceutske industrije je da tokom razvoja proizvoda analizira sve aspekte unutrašnjih faktora, a nakon odabira formulacije proveri kvalitet novog leka ispitivanjem uticaja spoljašnjih faktora na predloženu formulaciju.

## **Tipovi ispitivanja stabilnosti**

Ispitivanje stabilnosti vrši se u više faza, počev od ranih faza razvoja. Klasičnom ispitivanju stabilnosti uobičajeno prethodi ispitivanje forsirane degradacije aktivne lekovite supstance, kao i ispitivanje kompatibilnosti aktivne supstance sa pomoćnim supstancama. To su elementi koji omogućavaju postavljanje prvih formulacija i izradu laboratorijskih šarži novog proizvoda. Uglavnom postoji više preliminarnih formulacija, koje se podvrgavaju *stres* ispitivanju stabilnosti. Ovaj tip ispitivanja treba da pruži dovoljno informacija da se izvrši odabir formulacije (uključujući kontaktne ambalaže), predviđanje uslova ispitivanja u sledećoj fazi i sl. Ne treba minimizirati kvalitet kontaktne ambalaže i njen uticaj na stabilnost, pogotovo kada je reč o tečnim preparatima. Ovaj problem su razmatrali Solomun i saradnici (2) ispitujući uticaj, u prvom redu, gumenih čepova, ali i staklenih bočica na kvalitet parenteralnih oblika kortikosteroida pakovanih u dvokomorne bočice. U ovom slučaju rastvor za rekonstituciju je u direktnom kontaktu sa gumenim čepovima, pa potencijalna interakcija ambalaže i proizvoda može uticati na kvalitet proizvoda, kako inicijalno, tako i u roku trajanja. Istovremeno je ispitivan i uticaj gumenog čepa tokom *in use* perioda, s obzirom da je jedan gumeni čep u tom periodu prisutan

u rekonstituisanom rastvoru. Rezultati ovih ispitivanja iskorišćeni su za definisanje formulacije gume koja se koristila za proizvodnju čepova.

U drugoj fazi ispitivanja stabilnosti, u okviru *formalnog* ispitivanja stabilnosti, koje se uobičajeno radi u fazi pripreme za registraciju gotovog proizvoda, treba da se potvrde prethodno definisani parametri. Brojne smernice i direktive definišu ovo ispitivanje stabilnosti (3-7).

Ovakav pristup uklapa se u princip *Quality by design* razvoja novog leka koji se danas smatra neophodnim kako bi se zadovoljili strogi kriterijumi kvaliteta.

### Stres stabilnost

Za ispitivanje stres stabilnosti ne postoje detaljno opisani i zahtevani načini ispitivanja, pa se zato kaže da je stres ispitivanje „*artful science*” (8) i da zavisi od znanja i iskustva ispitivača.

Stres ispitivanje služi da se postave osnovi stabilnosti, tj. nestabilnosti proizvoda i predvidi njegova priroda (9). Dizajn studije treba da bude takav da se ubrza hemijska degradacija ili izazovu fizičke promene. Zavisno od poznatih osobina aktivne supstance, kao i farmaceutskog oblika, proverava se uticaj svih spoljašnjih faktora; npr. temperatura na kojoj se vrši ispitivanje povećava se obično za 10°C: 40°C, 50°C, 60°C, primenjuje se relativna vlaga od 75 % i više, tablete se direktno izlažu svetlosti i sl. Važno je znati da bi uslovi koji se primenjuju u okviru stres ispitivanja trebalo samo da ubrzaju proces, ali ne i da promene put degradacije.

Jasno je da je stres ispitivanje stabilnosti istraživački rad koji zahteva naučni, holistički pristup i stručnu procenu dobijenih rezultata.

Još 1964. Kennon (10) je u svom radu opisao uticaj temperature (porast sa sobne temperature do 85 °C) na brzinu degradacije farmaceutskih proizvoda, a sve u svrhu predviđanja roka upotrebe lekova. Ovaj rad je postao osnova za dizajniranje i realizaciju brojnih stres studija stabilnosti. Tako su radovi Yang i Roy (11) kao i Witthaus (12) bili preteča „Joel Davis Rule” (13) da je kondicioniranje uzoraka u toku 3 meseca na 40°C i 75 % relativne vlažnosti ekvivalentno čuvanju uzoraka u toku 24 meseca na sobnoj temperaturi.

Pored temperature, drugi faktor koji se smatra kritičnim sa aspekta stabilnosti je vlaga. Smatra se da vlaga može na dva načina da bude razlog za nestabilnost (14):

1. Slobodna vlaga koja direktno učestvuje u reakciji
2.  $A + H_2O \rightarrow$  razgradnja
3. Vlaga gradi oko čestica sloj u kojem je moguća reakcija rastvorenih komponenata.

Najviše je ispitivan uticaj vlage na stabilnost čvrstih farmaceutskih oblika, ali je vlaga, kao faktor nestabilnosti izuzetno proučavan, sa različitih aspekata i kod liofiliziranih proizvoda (15, 16, 17).

Brojni radovi govore o ispitivanju uticaja pH na stabilnost farmaceutskih proizvoda, kako u kiselim medijumima (18-21), tako i u baznim (19, 21). Ispitivanja su vršena korišćenjem različitih koncentracija HCl i NaOH, na povišenim temperaturama i u različitim vremenskim intervalima, zavisno od osobina ispitivanih supstanci.

Ispitivanje uticaja oksidacionih sredstava na stabilnost proizvoda vršeno je uz korišćenje vodonik peroksida u koncentraciji od 0,3 do 30 %, na povišenim temperaturama (37<sup>0</sup>C do 50<sup>0</sup>C) periodu od 6 do 72 sata (22-25).

Ispitivanje fotostabilnosti smatra se delom stres ispitivanja stabilnosti, iako rezultati ispitivanja predstavljaju deo formalne, registracione dokumentacije. U okviru ispitivanja uticaja svetla na stabilnost proizvoda danas se koriste različiti izvori svetla – od živinih lampi koje emituju svetlost kratkih talasa (UV oblast) do fluorescentnih, halogenih i ksenonskih lampi koje proizvode „veštačku dnevnu svetlost” (26, 27).

### **Formalno ispitivanje stabilnosti**

Brojna ispitivanja stabilnosti pod različitim uslovima komplikovala su procenu kvaliteta lekova. Harmonizacija zahteva je postala neophodna i u ovoj oblasti, pa se u okviru *The International Conference on Harmonisation* (ICH), na nivou Evrope, Sjedinjenih Američkih Država i Japana izdaje 1993. godine prva smernica Q1A „*Stability Testing of New Drug Substances and Products*” (3). Ova smernica označava početak formalnog ispitivanja stabilnosti čiji se rezultati, između ostalog, prilažu u dokumentaciji za registraciju. U navedenoj smernici, kao najbitniji elementi definišu se uslovi kondicioniranja i frekvencija ispitivanja kondicioniranih uzoraka. Uslovi kondicioniranja zavise od osobina ispitivanog proizvoda, ali se u osnovi mogu podeliti na: ubzano ispitivanje stabilnosti koje traje 6 meseci, dugotrajno ispitivanje stabilnosti koje se sprovodi u vremenu predviđenom kao rok trajanja, intermedijerno, u trajanju od godinu dana, ukoliko ispitivani proizvod ne zadovoljava ubrzane uslove ispitivanja.

U ovoj smernici takođe se definiše broj i veličina ispitivanih šarži, ambalaža u kojoj se vrši ispitivanje, daju se smernice o parametrima specifikacije koji se moraju pratiti, ali i osnovne direktive o evaluaciji rezultata i načinu izveštavanja.

Iskustva dobijena ispitivanjem stabilnosti u skladu sa ovom direktivom su zahtevala reviziju iste, pa je trenutno važeća druga revizija (Q1A R2) od

februara 2003. Treba naglasiti da ova smernica definiše ispitivanje stabilnosti za lekove koji se koriste u zemljama II klimatske zone. Naime, na osnovu parametara srednjih kinetičkih godišnjih vrednosti temperature i relativne vlage, Grimm je 1993. godine definisao, a 1996. godine Svetska zdravstvena organizacija (WHO) je ozvaničila postojanje četiri klimatske zone u svetu. Srbija, kao i većina evropskih zemalja spada u II klimatsku zonu, suprotnu (25<sup>0</sup>C, 65 % RH), za koju se ispitivanje stabilnosti vrši pod sledećim uslovima:

- 40<sup>0</sup>C i 75 % RH za ubrzano ispitivanje stabilnosti,
- 25<sup>0</sup>C i 60 % RH za potrebe dugotrajnog ispitivanja,
- 30<sup>0</sup>C i 65 % RH za intermedijerno ispitivanje.

Kako navedena smernica definiše uslove ispitivanja stabilnosti za nove lekovite supstance i odgovarajuće gotove proizvode, bilo je potrebno definisati uslove ispitivanja generičkih proizvoda. Tako se na nivou Evrope (Committee for Proprietary Medicinal Products – CPMP), marta 2004. izdaje smernica „*Guideline on Stability Testing: Stability testing of existing active substances and related finished products*” (4).

### **Ispitivanje *in use* stabilnosti**

Osim ispitivanja uslova čuvanja i roka trajanja tokom čuvanja, kod pojedinih farmaceutskih oblika (prašak za rastvor za injekcije/infuzije, praškovi za oralni rastvor/suspenciju i sl.) kao i kod multidoznih kontejnera (sirupi, kapi za oči i sl.) definiše se ispitivanje uslova čuvanja i roka trajanja nakon rekonstitucije, odnosno prvog otvaranja (*in use* stabilnost). U smernici „*Note for guidance on in-use stability testing of human medicinal products*” (28) definisane su osnovne smernice za ispitivanje roka u kome se mogu upotrebljavati sterilni proizvodi nakon prvog otvaranja, odnosno posle rekonstitucije. Neophodno je da proizvođač leka dostavi informacije o ponašanju proizvoda nakon otvaranja/rekonstitucije prema pravilima koja su definisana u smernici „*Note for guidance on maximum shelf-life for sterile producte for human use after first opening or following reconstitution*” (29). U toku ovih ispitivanja, osim potencijalnih hemijskih promena, neophodno je ispitati mikrobiološki status proizvoda, praćenjem ne samo hemijskog sastava konzervansa (ukoliko je prisutan u formulaciji), već i mikrobiološke aktivnosti konzervansa.

### **Specifikacija proizvoda**

Kvalitet gotovog proizvoda je definisan njegovim dizajnom, a specificiran je kroz razvoj i proizvodnju (30). Već u ovoj direktivi, Q 6A se konstatuje da je potrebno proveriti potencijalnu razliku u kvalitetu proizvoda

tokom vremena – stabilnost proizvoda tj. postaviti dve različite specifikacije za proizvod, ukoliko se pokaže potreba za tim:

- odmah nakon proizvodnje (*release specification*),
- u roku trajanja (*shelf life specification*).

Jasno je da se tokom ispitivanja prate samo parametri koji se mogu promeniti pod uticajem spoljašnjih faktora rizika, na primer sadržaj aktivne, lekovite supstance. Važan problem, odnosno oblast u kojoj se najviše istražuje u poslednje vreme su nečistoće, posebno degradacioni proizvodi i njihovi limiti u okviru specifikacije.

### **Nečistoće – degradacioni proizvodi**

Prema ICH smernici Q3A (31), odnosno ICH Q3B (32) „*Impurities in New Drug Substances (Products)*”, nečistoće se mogu klasifikovati u nekoliko osnovnih kategorija: organske nečistoće (procesne i srodne supstance), neorganske nečistoće, zaostali rastvarači.

Organske nečistoće mogu se pojaviti tokom procesa proizvodnje i/ili čuvanja, kako aktivne supstance, tako i gotovog proizvoda. One mogu biti identifikovane, neidentifikovane, isparljive ili neisparljive i uključuju (31): polazni materijal, sporedne produkte sinteze (*by-products*), intermedijere, degradacione proizvode, reagense, ligande i katalizatore.

Osnov za dalju klasifikaciju nečistoća koji je definisan u ICH Q 3B (R2) (32) dat je u smernici „*Guidance for industry ANDAs: Impurities in Drug Substance*” (33):

- hemijski aspekt koji uključuje klasifikaciju i identifikaciju nečistoća, postavljanje specifikacija, kao i definisanje analitičkih metoda;
- bezbednosni aspekt (*Safety aspect*) koji podrazumeva komparativne studije i genotoksične testove.

Ispitivanje nečistoća u novim aktivnim lekovitim supstancama (31) i odgovarajućim gotovim proizvodima (32) obavlja se prema smernicama u kojima su jasno definisani testovi, ali i način izveštavanja o dobijenim rezultatima, kao i postavljanje specifikacija u skladu sa dobijenim rezultatima.

Međutim, postojeće lekovite supstance i gotovi proizvodi, kao i nove formulacije koje u sebi sadrže postojeće lekovite supstance, moraju biti predmet dodatnih ispitivanja uzimajući u obzir nove tehnike, naučni progres, uvodeći sve promene koje su neophodne da se potvrdi da li se medicinski proizvod (lekovita supstanca ili gotov proizvod) proizvodi i kontroliše korišćenjem svih novih naučnih tehnika i metoda („farmakopejske supstance”). U smernici koja definiše ispitivanje stabilnosti postojećih supstanci i odgovarajućih gotovih proizvoda (4) definišu se uslovi ispitivanja koji nedvosmisleno ukazuju na



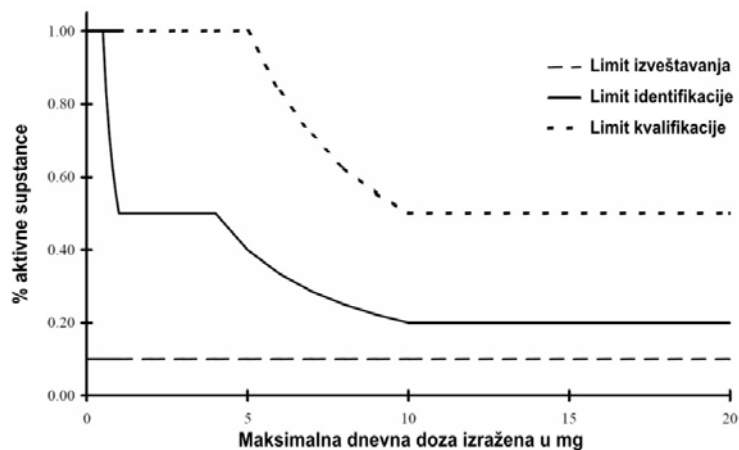
potrebu dodatnih ispitivanja u trenutku procene stabilnosti novih proizvoda koji kao aktivnu supstancu imaju lekovitu supstancu koja je farmakopejska. Pogotovo ako postojeća monografija nije u potpunoj saglasnosti sa najnovijom ICH smernicom koja definiše ovu oblast (32).

Navedena smernica odnosi se samo na nečistoće koje su klasifikovane kao degradacioni proizvodi aktivne supstance, proizvodi reakcije lekovite supstance sa pomoćnim supstancama ili kontaktnom ambalažom, proizvodi koji nastaju delovanjem, na primer, temperature, pH, vlage (vode) ili svetla.

Specifikacija lekovite supstance, kao i gotovog proizvoda treba da sadrži listu degradacionih proizvoda (*impurities profile*) za koje se očekuje da se mogu pojaviti tokom proizvodnje i čuvanja proizvoda pod deklarisanim uslovima (32). Lista degradacionih proizvoda mora biti zasnovana na naučnom pristupu i sagledavanju potencijalnog puta degradacije, kao i predviđene interakcije u formulaciji. Svaki, individualno definisan degradacioni proizvod mora imati definisan i limit prihvatljivosti. Prema ICH smernici Q 3B (R2) (32), definišu se limiti (pragovi) prihvatljivosti zavisno od maksimalne dnevne doze leka:

- limit izveštavanja;
- limit identifikacije;
- limit kvalifikacije.

Limiti se izračunavaju u odnosu na maksimalne dnevne doze lekovite supstance, a izražavaju se kao procenat lekovite supstance (slika 3) ili kao totalni dnevni unos degradacionog proizvoda, zavisno od toga koja je vrednost niža.



Slika 3. Prikaz limita (pragova) prihvatljivosti za izveštavanje, identifikaciju i kvalifikaciju degradacionih proizvoda u funkciji maksimalne dnevne doze

U toku ispitivanja stabilnosti proizvoda neophodno je definisati profil degradacije i uslove pod kojima se degradacija događa. Ukoliko je nemoguće izbeći degradaciju izborom formulacije i definisanjem uslova čuvanja, degradacioni proizvodi se moraju detaljno analizirati i definisati. Ovo podrazumeva ispitivanje kinetike degradacije i preračunavanje očekivane maksimalne koncentracije degradacionog proizvoda na predviđenim uslovima čuvanja.

U zavisnosti od maksimalno predviđene koncentracije degradacionog proizvoda u roku trajanja proizvoda neophodno je odrediti da se degradacioni proizvod mora identifikovati, kvalifikovati ili je dovoljno samo da se specificira (npr. podatak o relativnom retencionom vremenu je podatak kojim se specificira degradacioni proizvod ako ne postoji strukturna karakterizacija) – specificiran, neidentifikovan degradacioni proizvod.

Ukoliko je u toku razvojnih studija predviđena koncentracija nekog od degradacionih proizvoda iznad definisanog praga identifikacije, on se mora identifikovati, tj. mora se karakterisati njegova hemijska struktura – specificiran, identifikovan degradacioni proizvod. Identifikacija, tj. određivanje hemijske strukture degradacionog proizvoda i time poznavanja osobina degradacionog proizvoda omogućuje da se limit za degradacioni proizvod specificira iznad limita identifikacije, ali svakako ispod limita kvalifikacije.

Degradacioni proizvodi koji su prisutni ili mogu biti prisutni u koncentraciji koja je iznad limita kvalifikacije moraju biti ispitani i potvrđeni sa aspekta biološke sigurnosti. Takođe je neophodno imati i rezultat određenih kliničkih ispitivanja koji potvrđuju da očekivani procenat degradacionog proizvoda neće uticati na aktivnost niti štetnost proizvoda. U tom slučaju je moguće postaviti limit iznad granice za limit kvalifikacije.

## **Evaluacija rezultata ispitivanja stabilnosti**

Svi rezultati dobijeni u toku ispitivanja stabilnosti ne bi imali preveliki značaj ako se ne bi na adekvatan način obradili. S obzirom na broj rezultata, jasno je da to više ne može da bude samo stručna opservacija. Tako se u smernici ICH Q1E „*Evaluation of Stability Data*” (7) definiše kako se tumače rezultati dobijeni u toku ispitivanja stabilnosti. Evropska medicinska agencija (EMA) u svom dokumentu CPMP/QWP/609/96 (34) specificira kako se na osnovu istih rezultata deklarišu uslovi čuvanja na kom pakovanju, kutiji, odnosno, uputstvu. Rezultati dobijeni u toku ispitivanja stabilnosti u farmaceutskoj industriji koriste se za definisanje *re-test* perioda za aktivnu supstancu (datum nakon koga sirovina mora da se ispita kako bi se dokazalo da je još uvek u saglasnosti sa specifikacijom i da je pogodna za

proizvodnju), odnosno *shelf life* perioda za gotov lek (period za koji se očekuje da lek ostane u okviru odobrene *shelf life* specifikacije, ukoliko se čuva pod definisanim uslovima).

U okviru procene stabilnosti statistika danas zauzima sve značajnije mesto. Prvi razlog primene statističkih elemenata je veliki broj rezultata koji podrazumeva primenu postojećih statističkih funkcija u njihovoj obradi. Drugi razlog je još značajniji – dužina trajanja studija stabilnosti. Naime, postoje pokušaji da se primenom određenih matematičkih modela predvidi ponašanje ispitivanog preparata u dužem periodu.

Veštačke neuronske mreže (VNM) naziv je kompjuterskog programa koji simulira neke osobine bioloških neuronskih mreža kao što su učenje, sposobnost generalizacije i donošenje zaključaka iz stečenog iskustva. VNM se sve više koriste u fazi preformulacije lekova u cilju dobijanja relevantnih podataka kako bi se smanjio broj eksperimenata. Tako su Ibrić i saradnici razvili model generalizovanih regresionih neuronskih mreža (GRNM) za optimizaciju brzine rastvaranja aspirina iz dve vrste matriks tableta sa produženim oslobađanjem. (35,36).

U literaturi je do danas prikazan pokušaj korišćenja statičkih neuronskih mreža u predviđanju hemijske degradacije leka u studijama stabilnosti (37). U ovoj studiji, Ibrić i saradnici koristili su model statičkih neuronskih mreža od 9 neurona u skrivenim sloju, 2 ulazne promenljive (količina matriks supstance i kompresija) i izlaznim promenljivim koje odgovaraju konstantama brzina reakcija degradacije lekovite supstance (konstante brzine nultog reda za različite temperature). Dobijene vrednosti korištene su za trening, a dve formulacije za testiranje izabranog modela. GRNM-predviđene vrednosti roka trajanja nisu se razlikovale od eksperimentalno dobijenih čime je potvrđeno da bi primenom ovog modela bilo moguće predvideti rok upotrebe novih formulacija (izrađenih sa različitom količinom matriks supstance i kompresije) bez sprovođenja dodatnih testova stabilnosti.

Problem predviđanja ponašanja lekova u dužem periodu, na osnovu rezultata ispitivanja pod različitim uslovima kondicioniranja, jeste ne samo izazov za dalji naučni rad, već se postavlja kao zadatak farmaceutske industriji.

Za očekivati je da u budućnosti bude sve više pokušaja primene matematičkih modela u okviru ispitivanja stabilnosti, odnosno korišćenja rezultata iz studija stres stabilnosti u predviđanju ponašanja lekova pod uslovima dugotrajnog starenja, odnosno roka upotrebe. Tako je primenjen model dinamičkih veštačkih neuronskih mreža, kao i multipla regresiona analiza, u toku ispitivanja stabilnosti liofilizata za rastvor za injekcije sa kortikosteroidima pakovanim u dvokomorne bočice (38). Pokazano je da se obe metode optimizacije mogu uspešno koristiti u ove svrhe, mada se prednost daje

veštačkim neuronskim mrežama, s obzirom da se istovremeno mogu obrađivati svi potrebni podaci.

## **Zaključak**

Jasno je da je danas ispitivanje stabilnosti multidisciplinarno, sveobuhvatan proces koji podrazumeva primenu znanja iz baznih nauka (hemija, fizika, matematika). Takođe, potrebno je poznavanje tehnoloških procesa u farmaceutskoj proizvodnji, analitičkih procedura, poznavanje osobina pomoćnih supstanci, materijala za ambalažu i sl.

Zbog toga ne treba naglašavati koliki je značaj primene ovako definisanih uslova čuvanja lekova kako bi oni u toku transporta, skladištenja i primene zadržali kvalitet, bili bezbedni i efikasni što se zahteva svim smernicama koje se odnose na lekove. Primena matematičkih modela koji omogućavaju ekstrapolaciju dobijenih rezultata u okviru faze razvoja i ispitivanja lekova znatno će pomoći da novi, kao i generički lekovi, blagovremeno budu na raspolaganju pacijentima.

## **Literatura:**

1. The History of Drugs [Internet]. Available from: <http://www.drug-rehabs.org/drughistory.php>
2. Solomun Lj, Ibrić S, Boltić Z, Đurić Z, Stupar B. The impact of primary packaging on the quality of parenteral products. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;48(3):744-748.
3. ICH Steering Committee. Stability Testing of New Drug Substances and Products. ICH Q 1A (R2). 2003.
4. The European Medicinal Agency. Guideline on Stability Testing: Stability Testing of Existing Active Substances and Related Finished Products. 2004.
5. Food and Drug Agency. Stability Testing of Drug Substances and Drug Products. Draft Guidance for Industry. 1998.
6. ICH Steering Committee. Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products. ICH Q1B. 1996.
7. ICH Steering Committee. Evaluation for Stability Data. ICH Q1E. 2003.

8. Grimm W, Krummen K. Stability testing in the EC, Japan and the USA. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; 1993. 118 p.
9. Baertschi SW. Pharmaceutical Stress Testing. USA: Taylor & Francis; 2003. 1p.
10. Kenon L. Use of models in determining chemical pharmaceutical stability. *J Pharm Sci.* 1964; 53(7):815-18.
11. Yang W-H, Roy SB. Projection of tentative expiry date from one point accelerated stability testing. *Drug Dev Ind Pharm.* 1980; 6(6):591-604.
12. Withaus G, Breimer DD, Speiser P. Accelerated Storage Tests: Predictive Value, Topics in Pharmaceutical Science. North-Holland Biomedical Press; 1981. 275p.
13. Davis JS. Criteria for Accelerated Stability Testing, presented at the FDA/ASQC Seminar Chicago; 1991.
14. Carstensen JT. Drug stability, Principles and Practices. New York, Basel: Marcel Dekker, Inc.; 1990. 165p.
15. Corveleyn S, De Smedt S, Remon JP. Moisture absorption and desorption of different rubber lyophilisation closures. *Int J Pharm.* 2004; 159:57-65.
16. Pikal M, Shah S. Moisture transfer from stopper to product and resulting stability implications. *Dev in Biol Stand.* 1991; 74:165-79.
17. Herman BD, Sinclair BD, Milton N, Nail SL. The Effect of Bulking Agent on the Solid-State of Freeze-Dried Methylprednisolone Sodium Succinate. *Pharm Res.* 1994; 11(10):1467-73.
18. Florey K, Brittain HG. Analytical Profiles of Drug Substances. New York: Academic Press; 1972p.
19. Singh S, Bakshi M. Guidance on conduct of stress tests to determine inherent stability of drugs. *Pharm Technol.* 2000; 10 (8): 1-14.
20. Bridle JH, Brimble MT. A stability indicating method for dipyrindamole. *Drug Dev Ind Pharm.* 1993; 19:371-81.
21. Florey K. Analytical Profiles of Drug Substances. New York: Academic Press; 1989. 76p.
22. Muhtadi FJ. Analytical profile of morphine. In: Florey K ed. Analytical Profiles of Drug Substances, Vol 17. New York: Academic Press; 1988. 309p.
23. Maron N, Wright G. Application of photodiode array UV detection in the development of stability-indicating LC methods: determination of mefenamic acid. *J Pharm Biomed Anal.* 1990; 8:101-05.
24. Brittain, HG ed, Analytical Profiles of Drug Substances, Vol 22. New York: Academic Press. 1993. 216p.
25. Johnson B.M. Change P-T.L. Sertraline hydrochloride. In: Brittain, HG., ed. Analytical Profiles of Drug Substances, Vol 24. New York: Academic Press. 1996. 443-86.
26. Anderson NH, Johnston D, Mc Lelland MA, Munden P. Photostability testing of drug substances and drug products in UK pharmaceutical laboratories. *J Pharm Biomed Anal.* 1991; 9(6):443-49.

27. Thatcher SR, Mansfield RK, Miller RB, Davis CW, Beartschi SW. Pharmaceutical photostability: a technical and practical interpretation of the ICH guideline and its application to pharmaceutical stability: Part I, Pharm Technol. 2001; 25(4):98-110.
28. The European Medicinal Agency. Note for Guidance on in-use Stability Testing of Human Medicinal products. 2001.
29. The European Medicinal Agency. Note for Guidance on Maximum Shelf-life for Sterile Products for Human Use after First Opening or Following Reconstitution. 1998.
30. ICH Steering Committee. Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. ICH Q6A. 1999.
31. ICH Steering Committee. Impurities in New Drug Substances. ICH Q3A (R2). 2006.
32. ICH Steering Committee. Impurities in New Drug Products, ICH Q3B (R2). 2006.
33. Food and Drug Agency. Impurities in Drug Products: Guidance for Industry ANDAs. 1999.
34. The European Medicinal Agency. Guideline on declaration of storage conditions: a: in the product information of medicinal products; b: for active substances. Annex to note for guidance on stability testing of new drug substances and products. Annex to note for guidance on stability testing of existing active substances and related finished product (CPMP/QWP/609/96). 2007.
35. Ibrić S, Jovanović M, Đurić Z, Parojčić J, Solomun Lj. The application of generalized regression neural network in the modeling of aspirin extended release tablets with Eudragit RS PO as matrix substance. J Controll Rel. 2002; 82: 213–22.
36. Ibrić S, Jovanović M, Đurić Z, Parojčić J, Petrović S, Solomun Lj, Stupar B. Artificial neural networks in the modeling and optimization of aspirin extended release tablets with Eudragit L 100 as matrix substance. AAPS Pharm Sci Tech 2003; 4(1): 9p.
37. Ibrić S, Jovanović M, Đurić Z, Parojčić J, Solomun Lj, Lučić B. Generalised regression neural networks in predicting of drug stability. J Pharm Pharmacol. 2007; 59(5):745-50.
38. Solomun Lj. Primena *in silico* metoda u predviđanju stabilnosti liofilizata za rastvor za injekcije sa kortikosteroidima pakovanih u dvokomorne bočice [disertacija]. [Beograd (RS)]: Univerzitet u Beogradu; 2010.

## Drug stability – Industry view

Ljiljana Solomun<sup>1</sup>, Svetlana Ibrić<sup>2</sup>, Vjera Pejanović<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hemofarm AD, Beogradski put bb, Vršac

<sup>2</sup> University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, Beograd, Serbia

---

### Summary

Stability testing is carried out in several phases of new product development. The effect of various external factors on possible formulations, compatibility of active pharmaceutical ingredient, excipients and primary packaging material, is examined in early phases of development. Possible pathways of degradation are defined, and degradation rate is estimated by subjecting the products to different, extreme conditions. The results obtained during this phase of testing are used for defining the testing parameters in formal stability studies. Numerous guidelines, which define the testing parameters, are used in this phase of testing. The principal elements which are defined include testing conditions and testing frequency. An accelerated stability testing is carried out over a period of 6 months, whereby a product is exposed to the temperature exceeding the expected warehousing temperature, while a long-term stability testing is performed under the predicting storage conditions, and the length of testing corresponds to the envisaged shelf life. Photostability testing is carried out within a stress testing, and in certain cases, *in use* stability testing is carried out, whereby storage conditions and the period within which a product must be used after the first opening, i.e. reconstitution, are defined. Testing results are also used for establishing the final specifications of the quality of medicinal products, particularly from the aspect of degradation products (impurities). Various statistical methods and mathematical models, such as artificial neural networks, are used in results processing for the purpose of estimating the stability in a shorter period of time.

**Key words:** stability, stress testing, formal testing, photostability, *in use* stability, degradation products, artificial neural networks

---