

#综述#

药物稳定性实验方案设计研究的国际化规范

Daniel LIU^X

(Meta Consultant, Incl, USA)

=摘要> 综述了药物稳定性实验的国际化规范要求,着重探讨了全球化和国际协调化的进展和稳定性研究中可能遇到的问题,以供从事药物产品全球化的药物研究者,药物厂商和药政管理人员参考。

=关键词> 药物;稳定性;规范;实验设计

=中图分类号> R926 **=文献标识码>** A **=文章编号>** 1000- 5048(2005)03- 0284- 05

在过去的30年,药物的稳定性实验已从仅仅检测产品中有害物质的变化发展到运用科学原理对药品进行综合性的质量控制。目前,世界各国对此项工作逐渐重视,各国都已开始制定适合本国的药品稳定性实验规范。

由于稳定性研究周期较长,因此从建立方案时就应对产品详尽分析,还应考虑国际协调指南(ICH指南)、欧洲药物审评机构要求和美国FDA稳定性实验要求等。按照这些指南或要求所获得的稳定性数据将有利于药品的全球化注册。本文将探讨制药工业各研究阶段所进行的稳定性研究方案,与之有关的ICH指南^[1]、欧洲药物评审机构和FDA对稳定性研究试验设计的要求。

1 稳定性研究阶段

药物的稳定性可定义为在特定的容器或密闭系统中可保持药物原有的物理、化学、生物学、治疗、毒理及其相关性。药物从最初的合成到储存的研发过程通常可分为5个阶段。在每个阶段都应监察和记录药物的纯度、杂质含量以及降解产物。最理想的情况是药物原料的纯度、杂质含量在各个安全性实验、临床试验评估、制剂研究和稳定性实验中都保持恒定。所有过程的活动都必须全面监控并做到尽可能详尽观察记录,保持信息记录的有效性和逻辑性,使稳定性结论可以根据数据而得到。常用药物研发各阶段所应进行的稳定性实验要求见表1。

表1 药物研发各阶段的稳定性实验要求

周期	药物研发阶段	稳定性研究重点
N	制剂前	固态原料药 (多晶型变化) 原料药应进行初级稳定性实验(25 e / 65%相对湿度, 40 e / 75%相对湿度, 1周; 温度50或60 e, 4周; 光敏实验: 敞开器皿在日光灯下若干时间)。 制剂配伍中主要辅料的稳定性研究, 储存在极端条件下2周(50或60 e)。 液态原料药 25 e 下, 不同 pH 范围内溶解状况, 4周。
0	制剂研究	毒理制剂稳定性研究: 取决于毒理学研究要求周期。 制剂类型稳定性研究: 在极端条件下共1个月(40 e / 75%相对湿度) 以便快速决定制剂类型。 临床制剂稳定性研究: 可按照稳定性研究一般原则进行(25 e / 65%相对湿度或40 e / 75%)。 若中间体半成品是光敏原料, 最终制剂应放在敞开容器中检测稳定性, 必要时应增加使用期限研究。
0	加速和长期研究	分析角度: 鉴定在所建议的药物有效期内加速和长期实验中所形成的降解产物; 确证降解途径和解析降解产物结构; 优化稳定实验方法。 制剂角度: 评价制剂的优逆性; 确定制剂配方对药物有效期的影响; 研究制剂储存问题(如运输); 选择包装材料。 稳定性角度: 制定稳定性实验方案应考虑 有效期详细说明; 储存条件; 实验间隔; 实验选项(物理、化学、生物学等); 必要时应增加原料药放置实验研究、使用中稳定性研究和光稳定性研究; 参考稳定性研究方案一般原则。
0	药物申请期	药物申请批准期间, 也应不间断地进行稳定性监督。在申请中至少要对3个完整规模的生产批号稳定性进行实验考察。
V	稳定性追随期	监督连续生产批号的稳定性, 核实由此而演绎出的稳定性结论。

2 稳定性研究方案设计的一般原则

ICH 指导原则已经阐明了稳定性研究方案的基本原则, 首先是测试周期的确定, 如果药物的稳定性较好, 则测定周期应较长, 以表明没有可测定的降解物产生。对药物原料和制剂而言, 至少需要采集 3 批不同批号的样品进行稳定性试验, 3 批样品至少应有两批是中试生产样品。如果样品为药物原料, 则至少应收集与最终生产过程中有相同合成路线的中试样品, 以保证所测样品的质量与未来生产过程的原料质量一致性。若样品为药物制剂, 所采集的样品应与最终上市药品有同样的剂型和包装。在可能的情况下, 应用不同批号的药物原料来进行稳定性实验, 所做的稳定性实验应包括理化特性、生物学特性。所用的分析方法都应经过标准化校对。

对原料药而言, 首先应进行在极端条件下的影响因素试验, 以探讨药物固有稳定性。供试品可以用一批原料进行, 将供试品置适宜的容器中(如量瓶或培养皿), 摊成约 5 mm 的薄层, 疏松原料药摊成约 10 mm 的薄层进行高温、高湿度和强光照射试验。此外, 根据药物的性质, 必要时还应进行 pH 值、氧及其它条件对稳定性的影响。全新药物还应对分解产物的性质和结构进行必要的分析。

表 2 国际通用稳定性测试实验条件要求

储存条件	实验类别	温度 (e)	相对湿度 (%)	检测最少需 要时间(月)
常温	长期实验	25 ? 2	60 ? 5	12
		30 ? 2	65 ? 5	
	加速实验	40 ? 2	75 ? 5	6
低温	中间条件实验	30 ? 2	65 ? 5	6
	长期实验	5 ? 3		12
冷冻	加速实验	25 ? 2	60 ? 5	6
	长期实验	- 20 ? 5		12

对长期稳定性研究, 一般供试品要求 3 批, 市售包装。药物原料至少要进行 12 个月的稳定性监控。对有些药物制剂进行的稳定性监控有时达 5 年以上。检测间隔在第 1 年为每 3 个月检测 1 次, 在第 2 年每 6 个月检测 1 次, 3 年以上进行年检。将结果与 0 月比较, 以确定药物的有效期。由于实测数据的分散性, 一般应用统计分析以确定药物的有效期。如 3 批统计分析结果差别较小, 则取其最短的时间为有效期。如数据表明测定结果变化很

小, 表明药物是很稳定的, 则可以不作统计分析。

在加速稳定性研究实验中, 需要设定最少 3 个采样点, 如 0, 3 和 6 个月各收集样品测试 1 次, 市售包装。加速试验在加速条件下, 一旦发现稳定性显著变化, 则应增加采样点。一般而言, 药物原料和制剂在储存条件下所测试的目的是检查样品的热力学稳定性和对温度的敏感性。原料药进行加速实验与长期实验所用的包装应采用模拟小桶, 但所用材料与封装条件应与大桶一致。各种储存条件下测定稳定性参数的温度和湿度要求见表 2。

对湿度敏感或易失去所含溶剂的药物制剂应当在完全密闭的条件下进行。其稳定性研究要在可控制的或临界湿度条件下进行, 如 10% ~ 20% 相对湿度。储存在半通透性容器中的水基质药物制剂除了进行常规的理化、生物和微生物试验外, 还应增加水丢失测定, 而这种测定研究应在相对较低湿度的条件下进行。这种实验的目的是要确证这种储存在半通透性容器中的水基质制剂可以耐受相对较低湿度环境(见表 3)。

表 3 水基质制剂稳定性测定环境要求

实验类别	温度 (e)	相对湿度 (%)	检测最少 要求时间(月)
长期实验	25 ? 2	40 ? 5	12
	30 ? 2	35 ? 5	
加速实验	40 ? 2	F 25	6
中间条件实验	30 ? 2	65 ? 5	6

此外, 一旦在 30 e / 65% 相对湿度条件下, 若 12 个月的稳定性结果有显著变异, 其相应的药物原料或制剂就不应当标示可在室温下储存至有效期的声明, 即使 25 e / 65% 相对湿度的结果令人满意也不行。在这种情况下, 缩短检测周期重新测定, 改变包装条件或变为低温储存等手段可以加以考虑。重新进行相关测试后, 相应地调整药物标签标示的稳定性参数及其说明。如果坚持室温储存为最终条件, 在标示上应明确警告储存温度不应超过 30 e。被储存在低温条件下的热敏药物应用长期试验来测定其稳定性时, 周期最好应为 12 个月, 温度为(6 ? 2) e。加速试验时的周期最好为 6 个月, 所测定储存温度应比用于长期储存此药物的低温条件要高 15 e。例如, 已知热敏药物要被长期储存在低温条件下, 则加速实验应在(25 ? 2) e / (60 ? 5)% 相对湿度中进行。所有这些稳定性研究

数据都应记载在药品申请中,任何正在进行的或常规年检批号数据则应包括在申请厂商的年度报告中。

作为加速研究的组成部分,运输过程中的温度变化研究值得关注。包装药品应模拟运输过程中的温度状况进行循环式稳定性研究,如非冷冻状态:2 d 2 e ~ 8 e 和 2 d 40 e 共 3 个循环;冷冻状态:2 d - 10 e ~ - 20 e 和 2 d 40 e 共 3 个循环。半成品(中间体)可以从生产之日起 30 d 内而不用重新考察其稳定性。如果它们被搁置 30 d 以上的话,其稳定性应当被检测,但通常其储存不应超过 6 个月。用这批中间体生产的第一批药品应当进行长期稳定性实验。

气候区域也是应考虑的另一项重要因素^[3,4]。按照平均动态温度和相对湿度变化,全球被分为 4 个区域,每个区域都有他们各自相应的储存条件(见表 4)。表 4 列出了划分某一地区属于哪一种气候区域的标准和指标。如果厂家计划将其药物原料或制剂在某一气候区域内经销的话,药物稳定性实验的设计就应考虑到该地区的储存条件。

表 4 世界气候区域分布和长期稳定性试验条件

	气候区域	定义	长期稳定性试验
N 区	北欧,英国,加拿大,俄国	北温带	21 e / 45% 相对湿度
O 区	南欧,日本,美国	地中海亚 热带气候	25 e / 60% 相对湿度
O 区	沙哈拉,伊朗,伊拉克, 苏丹等	热带、干燥	30 e / 35% 相对湿度
O 区	中非,印度尼西亚,巴西, 菲律宾,加纳,尼加纳瓜等	热带、潮湿	30 e / 65% 相对湿度*

* 南亚国家的最新长期稳定性试验条件: 30e / 75% 相对湿度

3 稳定性研究方案设计

在制定药物稳定性方案时,若干实验因素和要求在制定方案时就应加以考虑,如实验背景信息(剂量规格,每种剂量的包装类型,理想的有效期和储存条件),过去类似试验的稳定性数据,实验设计因素(批号,剂量,包装,储存条件等),样本规模和统计分析方法。最重要的是要掌握有关所测药物的市场要求,生产方法,过去制剂研究结果和含量分析方法的知识。就市场要求而言,包装容器类型以及所要上市的地区或国家对包装的要求,和所期待的有效期等都是在计划药物申请前所应掌握和考虑的主要方面。药物公司通常感兴趣的还有要

检查由剂量而定的各种包装和各个批号药品在室温下是否有同样的稳定性。含量分析方法的选择常由样本规模而定,这样可以确保建立可靠的药物有效期。当有若干设计因素涉及在稳定性研究中时,主要要监督的是这些因素对稳定性的影响。例如,监督降解速率是否在所有包装中都一样。为了回答这一问题,样本规模就应当仔细选择以便有足够的统计强度(statistical power)来检测各包装组之间稳定性的平均偏差。

一般说来,稳定性研究设计方法可分为两类。一类称为完全研究设计方法(full study design),另一类叫做简化设计方法(reduced study design)。前者是对所有样品在每一个规定时间点对每一个设计因素之间的关系都进行测定(表 5)。后者是对一部分样品的规定时间点的测定,因而不是每一个设计因素之间的关系都需要测定。当有多种设计因素需要被测试时,前一种方法就显示了优越性。在许多情况下,简化设计方法是否可以用于稳定性研究取决于下列若干因素:

- # 当数据出现差异时,有统计方法可以调整
- # 该药品的稳定性有一定的可预见性
- # 有辅助数据可供参考

影响稳定性研究的因素(如包装、剂量等)比较明确。

当然使用简化设计方法的风险也是应当考虑的另一个方面。首先,这一方法的统计强度不够,因而得到的有效期通常较短。另外,所得到的这种短有效期也可能是在最不好的数据点上而获得的。其次,由于所收集的数据较少,因而最后的结论可能建立在不完善的数据群上。最后,不可能获得包括所有影响因素在内的有效期。

简化研究设计方法有括号法和距阵法^[5,6]。

括号法(bracketing design):这种方法仅对药物原料和制剂的最大和最小剂量或最大和最小容器(有同样包装材料和密闭条件)的稳定性进行测定。这种方法的前提假设是任何中间态的样品都可以被两端条件下的稳定性所代表。括号法适用于具有相同或极为相近配方的不同剂量强度的药物,它包括:

- # 同样药物成分、不同填充剂、不同型号胶囊。
- # 相似药物颗粒但不同压片力度下做成的片剂
- # 只是在辅料上略有不同(如着色剂,矫味剂)

表 5 常用稳定性实验完全研究设计

药物类别	气候区域	储存条件(e / RH%)	测试间隔时间(月)									
			0	3	6	9	12	18	24	36	48	60
长期稳定性实验												
原料药		(25? 2)/(60? 5)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
新药制剂	Ñ / Ò 区	(25? 2)/(60? 5)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		(30? 2)/(60? 5)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
装在半通透性容器中的液体	Ó / Ô 区	(30? 2)/(65? 5)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		(25? 2)/(40? 5)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
低温, 制剂和原料	Ó / Ô 区	(30? 2)/(40? 5)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		5 e	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
冷冻制剂和原料		- 20? 5 e	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
加速稳定性实验												
原料和制剂		(40? 2)/(75? 5)	x	x	x							
		(30? 2)/(65? 5)*	x	x	x	x	x					
装在半通透性容器中的液体		(40? 2)/(20? 5)	x	x	x							
		(30? 2)/(40? 5)*	x	x	x	x	x					
低温, 制剂和原料		(25? 2)/(60? 5)	x	x	x							

* 一旦加速实验 6 个月后药物稳定性或效价出现显著变化, 则应考虑增加此条件重做稳定性实验

如果考虑容器型号的话, 只有容器大小或填充方式变化, 而容器内的任何剂量药物组成和密闭方式都一致, 均可以考虑使用括号法。但是, 如果容器大小和填充方式同时发生变化时, 括号法并不适用。显然, 这种方法不适用于干粉末状的喷雾剂和透皮吸收制剂, 除非药物²包装容器间的相互作用可以被适当的方法校正。同样, 它也不适用于使用不同辅料的不同剂量组的同一药物制剂和使用不同容器密闭系统的药物制剂。表 6 演示了括号法的试验设计模式。

表 6 括号法设计模式

剂量 (mg)	批号	容器规格 (mL)		
		15	100	500
50	1	T		T
	2	T		T
	3	T		T
75	1			
	2			
	3			
100	1	T		T
	2	T		T
	3	T		T

T= 样品测试点

在这一例证中, 药物被包装在相同包装容器和密闭系统中。假设有 3 种剂量强度和 3 种包装规格的话, 15 mL 和 500 mL 的高密度聚乙烯容器型号代表了两端容器条件。所测定的不同批号的两端样品应按照完全稳定性设计法进行稳定性试验, 如每一批号的 50 mg 和 100 mg 样品(批号 1, 2, 3)应

按照表 6 中的试验设计取每一个样品测试点进行稳定性试验测定。中间剂量单位(75 mg)的稳定性可以用两端剂量(50 mg 和 100 mg)的稳定性所代表。如果两端点的稳定性有所不同的化, 中间样品点的稳定性应被考虑与最不稳定的极端点相似。选用这一方法的另一个不利因素是一旦这种结论被获得, 不能将中间样品点单独再进行稳定性实验。所以, 一般的做法是将所有的剂量和包装在取样时都放在稳定性实验测试中, 但中间样品点(如 75 mg 样品)只被冷藏以便于在必要时将实验转化成完全研究设计法来进行。但是这种试验转化的设计方法必须预先征得药政当局的同意方可被接受。如果最终的上市药品包装和剂量与原来新药申请中括号法稳定性实验所用的样品不同, 那么从第一批生产的上市药品中应当取样以进行相应的极端点的稳定性实验。

矩阵法(matrixing design): 当药品的稳定性评价涉及到许多因素时, 应当考虑使用矩阵法。它的假设前提是在某一个时间点上被测定的部分样品的稳定性具有总体样品的代表性。距阵法不适用的情况有: 一是容器的密闭系统在所测样品中不一致; 二是用同样测定方法得出的批号间稳定性数据差异较大; 三是样品的储存条件不一致。此外, 在进行距阵法测定中, 虽然样品测试的时间点可以被选择省略, 但所测样品稳定性项目不能被省略。表 7 演示了 1/2 式矩阵法的试验设计模式。

表7 矩阵法设计模式

剂量组	测试时间点(月)								
	0	3	6	9	12	18	24	36	
1	批号1	T	T		T	T		T	T
	批号2	T	T		T	T	T		T
	批号3	T		T		T		T	T
2	批号1	T		T		T		T	T
	批号2	T	T		T	T	T		T
	批号3	T		T		T		T	T

T= 样品测试点

从表中可看出,这种 1/2 式简化法从完全设计法出发,每两个时间测试点后省略一个测试点。但起始点(0个月),12个月和36个月取样点必需测定。设计取样点应尽可能平衡,即每一个设计因素都应被测试同样或尽可能一样的次数。表8给出了应用矩阵法测定某一种药物稳定性的实际例证。

由于矩阵法收集样品量减少,有效期确定的精确度会降低。同时,在某些情况下由于没有足够的数据量来确定影响因素间的关系,从而导致应用欠准确的数据群来估算有效期。所以过量减少影响稳定性因素量的测定,会导致最终无法准确判断药品的有效期。如果这一情况发生,应该考虑改用完全设计法或增加测定点来弥补缺失,并以此完成剩余的整个稳定性实验。

表8 矩阵法应用实例

批号	剂量(mg)	包装型号		
		30粒装	60粒装	90粒装
1	10	T1	T2	T3
	20	T3	T1	T2
	40	T2	T3	T1
2	10	T2	T3	T1
	20	T1	T2	T3
	40	T3	T1	T2
3	10	T3	T1	T2
	20	T2	T3	T1
	40	T1	T2	T3

T= 样品测试点: T120, 3, 9, 12, 24, 36个月; T220, 3, 6, 12, 18, 36个月;

T320, 6, 9, 12, 18, 24, 36个月

4 稳定性实验数据的评价

经过测试,与药物原料的特定指标相比,一旦

发现药物原料的含量有显著地变化则应视为已变质。按照长期试验测定数值,以标示量(%)对时间进行直线回归,得回归方程,求出各时间点标示量的计算值,然后计算标示量95%单侧可信限的置信区间。对药物制剂而言,如果发现其效价降低了5%,或有关原料特定指标发生了变化,如理化参数或器官感觉性质的变化等也应视为失效。在评价过程中,统计学方法应用与否通常视情况而定。如果稳定性数据未出现较大的差异则可省略不用。但药品标签上对稳定性的说明应根据稳定性数据而定并应符合国家制定的相应要求。

总之,要想取得成功的稳定性实验,就必须制定完备的稳定性实验方案并严格执行;在首次(并且每次)都应做到收集正确量的批号样品并储存在相应的条件下;在无任何干扰的情况下按照方案规定维持储存条件;按照时间表从储存地采集适量批号样品并对其立即予以标示以防与其它后续样品混淆;按照批准的方案方法并用以被标准化的仪器对所采集的样品进行相关测试;保留所有有关记录和行动的准确性。稳定性实验是一个复杂的动态研究,由于篇幅的限制不可能将所有稳定性实验方面包络在此。在实践过程中应当充分参照ICH制定的标准化规范和相应的其它国际稳定性研究指南,并结合具体的实情加以完善。

=参考文献<

- [1] ICH, Q1E. Evaluation for Stability Data. February, 2003I
- [2] ICH, Q1F. Stability data package for registration applications in climatic zones 0 and 0. February, 2003I
- [3] Brahmaiah Kommanaboyina CT, Rhodes. Trends in stability testing, with emphasis on stability during distribution and storage[J]. Drug Dev Ind Pharm, 1999, 25(7): 857- 868I
- [4] FDA Guidance for Industry: Q1D bracketing and matrixing designs for stability testing of new drug substances and products. January, 2003I
- [5] ICH, Q1D. Bracketing and matrixing designs for stability testing of new drug substances and drug products. February, 2002I