



ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Ιωάννης Ντότσικας
Αν. Καθηγητής

Ερωτήματα στα οποία οι μέθοδοι φαρμακευτικής ανάλυσης απαντούν (1/3)



- Είναι η ταυτότητα του φαρμάκου στο μορφοποιημένο προϊόν ορθή (ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΑΥΤΟΤΗΤΑΣ);
- Ποιο είναι το ποσοστό της δηλούμενης περιεκτικότητας του φαρμάκου που βρίσκεται στο σκεύασμα (ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ);
- Περιέχει αυτό το σκεύασμα αποκλειστικά το δραστικό συστατικό ή συνυπάρχουν προσμείξεις (ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ);
- Ποια είναι η σταθερότητα του φαρμάκου στο σκεύασμα και συνεπώς ο χρόνος ζωής του προϊόντος (ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ);

Ερωτήματα στα οποία οι μέθοδοι φαρμακευτικής ανάλυσης απαντούν (2/3)



- Με ποιο ρυθμό το φάρμακο απελευθερώνεται από το σκεύασμα, ώστε να μπορεί να απορροφηθεί από το σώμα (ΕΛΕΓΧΟΣ ΔΙΑΛΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ-dissolution);
- Ανταποκρίνεται η ταυτότητα και η καθαρότητα της πρώτης ύλης του φαρμάκου που θα χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή του σκευάσματος προς τις προδιαγραφές;
- Ανταποκρίνεται η ταυτότητα και η καθαρότητα της πρώτης ύλης των εκδόχων που θα χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή του σκευάσματος προς τις προδιαγραφές;

Ερωτήματα στα οποία οι μέθοδοι φαρμακευτικής ανάλυσης απαντούν (3/3)



- Ποιες είναι οι συγκεντρώσεις καθορισμένων προσμίξεων στην καθαρή πρώτη ύλη του φαρμάκου (ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΙΩΝ);
- Ποια είναι η συγκέντρωση του φαρμάκου σε ένα δείγμα ιστού ή βιολογικού υγρού (ΒΙΟΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ);
- Ποιες είναι οι τιμές pK_a , οι συντελεστές κατανομής, οι διαλυτότητες και η σταθερότητα μιας φαρμακευτικής ουσίας υπό ανάπτυξη;

Εισαγωγή στον Έλεγχο Ποιότητας

- Σχετίζεται με την **ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ** των μετρήσεων
- Διασφαλίζει την **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ** & την **ΑΣΦΑΛΕΙΑ** των σκευασμάτων
- Χρονοβόρος και ακριβή διαδικασία, αλλά **ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ**
- Υπάρχουν συγκεκριμένα **ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ** μιας ανάλυσης



Guidance for Industry

Bioanalytical Method Validation



Guide

Table of Contents
Introduction
Topics



DRAFT

ADOPTED

END OF

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Veterinary Medicine (CVM)
May 2001
BP

Έλεγχος σφαλμάτων στην ανάλυση

- Η **εκτίμηση του σφάλματος** είναι απαραίτητη σε μία ανάλυση
- Συχνά πραγματοποιούνται **επαναληπτικές μετρήσεις** για την εύρεση της συμφωνίας μεταξύ τους
- **Χονδρικό σφάλμα**: Σημαντική αποτυχία στην αναλυτική διαδικασία (λάθος αραιώσεις, βλάβη οργάνων κτλ)
- **Συστηματικό σφάλμα**: Επαναλήψιμα ανακριβής προσδιορισμός (σφάλμα σε 1 στάδιο)
- **Τυχαίο σφάλμα**

Παράδειγμα σφαλμάτων

- 4 φοιτητές μέτρησαν φασματοφωτομετρικά εκχυλίσματα δισκίων παρακεταμόλης (δηλούμενη περιεκτικότητα: 500 mg)
- Φοιτητής 1: 99,5%, 99,9%, 100,2%, 99,4%, 100,5%
- Φοιτητής 2: 95,6%, 96,1%, 95,2%, 95,1%, 96,1%
- Φοιτητής 3: 93,5%, 98,3%, 92,5%, 102,5%, 97,6%
- Φοιτητής 4: 94,4%, 100,2%, 104,5%, 97,4%, 102,1%
- Κάθε φοιτητής πραγματοποίησε 5 μετρήσεις και υπολόγισε τα ποσοστά επί της δηλούμενης περιεκτικότητας

Ανάλυση αποτελεσμάτων

Οι μέσοι όροι αυτών των αποτελεσμάτων μπορούν απλά να υπολογιστούν σύμφωνα με τον τύπο:

$$\bar{x} = \sum_i \frac{x_i}{n}$$

[Εξίσωση 1]

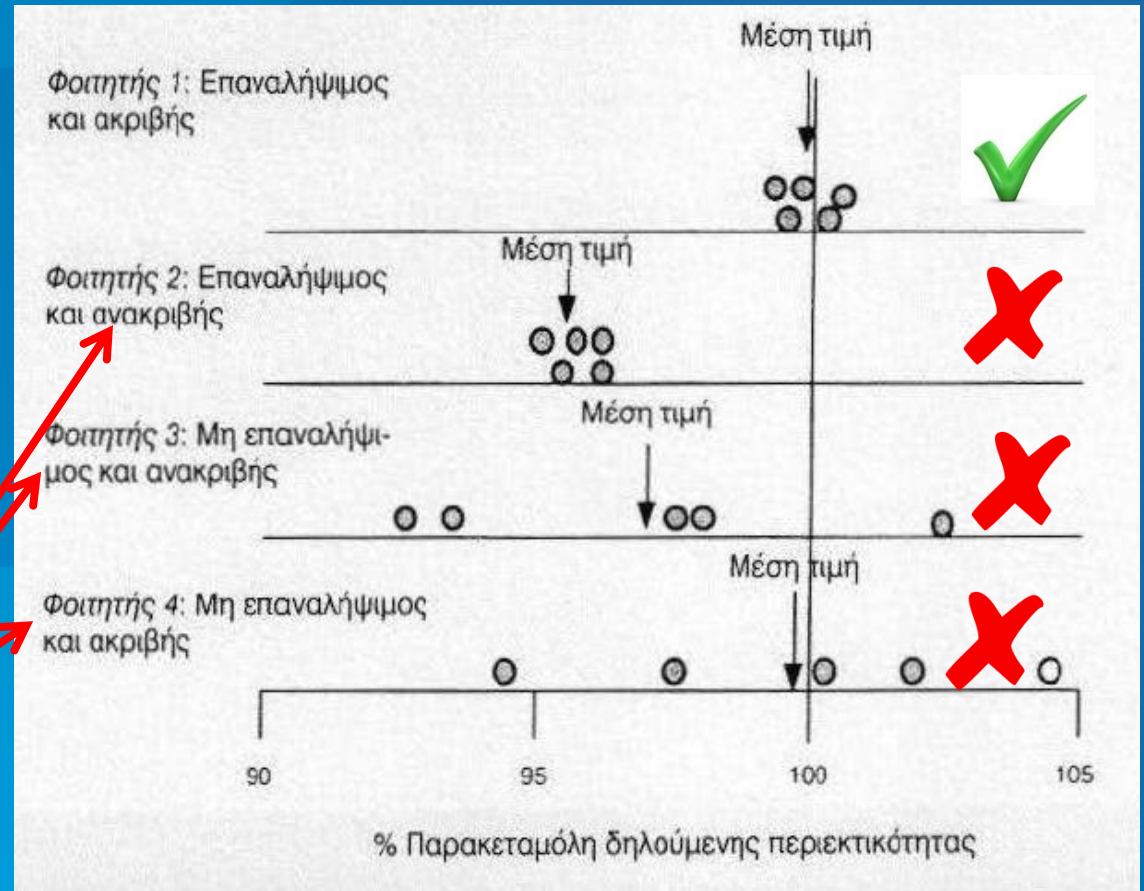
Όπου \bar{x} είναι η αριθμητική μέση τιμή, x_i είναι η κάθε ανεξάρτητη τιμή και n είναι ο αριθμός των μετρήσεων.

Ανάλυση αποτελεσμάτων

Ακριβής (accurate)

Επαναλήψιμος (precise)

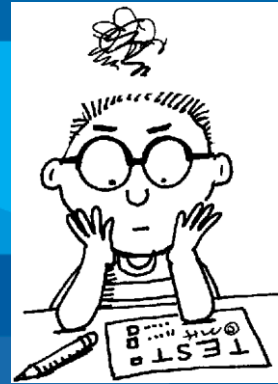
Συχνά
Τυχαϊκό
σφάλματα



Αιτίες ανακρίβειας & μη επαναληψιμότητας

- Μη ορθή ζύγιση και μεταφορά των αναλυτών και των προτύπων
- Ανεπαρκής εκχύλιση του αναλύτη από ένα μητρικό υλικό, π.χ. δισκία
- Μη ορθή χρήση πιπετών, προχοϊδων ή ογκομετρικών φιαλών για τη μέτρηση όγκων
- Πραγματοποίηση της μέτρησης με μη κατάλληλα βαθμονομημένο/διακριβωμένο εξοπλισμό
- Παράλειψη χρήσεως ενός αναλυτικού λευκού δείγματος
- Επιλογή συνθηκών προσδιορισμού που προκαλούν διάσπαση του αναλύτη
- Αποτυχία στην αναγνώριση ή απομάκρυνση παρεμποδίσεων από τα έκδοχα κατά τη μέτρηση του αναλύτη

Αυτοεξέταση



Προτείνετε πως τα παρακάτω μπορούν να δώσουν αφορμή για σφάλματα σε μία αναλυτική διαδικασία:

(i) Ανάλυση ενός σακχαρούχου ελιξηρίου χρησιμοποιώντας σιφώνιο για τη μέτρηση όγκων του ελιξηρίου προς ανάλυση

Απάντηση: Το ιξώδες οδηγεί σε ελλιπή απορροφή του σιφωνίου

Αυτοεξέταση



(ii) Ζύγιση 2 mg ενός αναλυτικού προτύπου σε ζυγό τεσσάρων ψηφίων, που ζυγίζει ένα ελάχιστο 0,1 mg.

Απάντηση: Σε κάθε ζύγιση υπάρχει μία αβεβαιότητα $\pm 0,05$ mg, η οποία σε συσχέτιση με τα 2 mg είναι $\pm 2,5\%$

Αυτοεξέταση



(iii) Χρησιμοποίηση αναλυτικού προτύπου που απορροφά υγρασία από την ατμόσφαιρα

Απάντηση: Ο βαθμός απορρόφησης της υγρασίας είναι αβέβαιος

Αυτοεξέταση



(iv) Ατελής κονιοποίηση των επικαλυμμένων δισκίων πριν την εκχύλιση

Απάντηση: Φτωχή ανάκτηση του αναλύτη

Αυτοεξέταση



(ν) Εκχύλιση μίας αλοιφής με ένα διαλύτη στον οποίο ο αναλύτης είναι ελάχιστα διαλυτός

Απάντηση: Φτωχή ανάκτηση του αναλύτη

Αυτοεξέταση



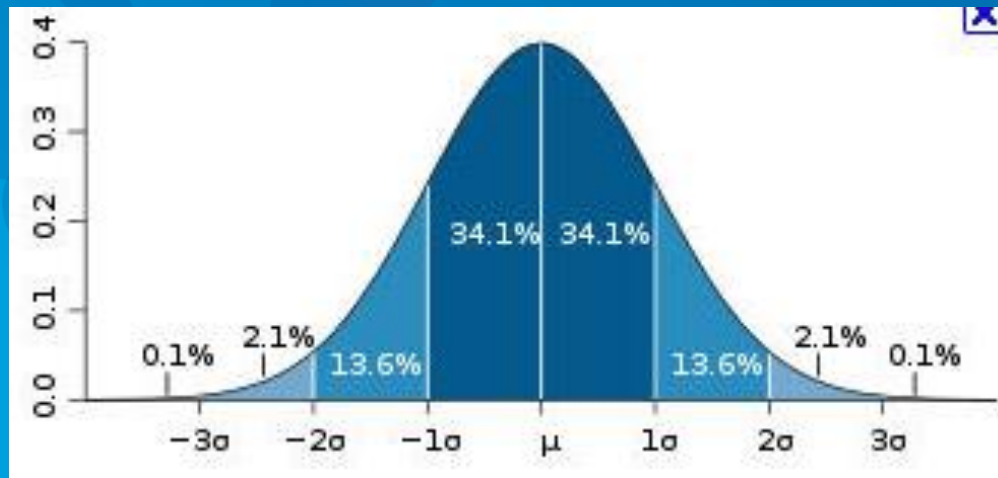
(vi) Χρησιμοποίηση προχοϊδας που δεν έχει εκπλυθεί για την απομάκρυνση λίπους

Απάντηση: Παραμόρφωση του μηνίσκου που καθιστά την ανάγνωση της προχοϊδας

Ακρίβεια (Accuracy) & Πιστότητα (Precision)



- Πρόκειται για τα 2 σημαντικότερα στατιστικά κριτήρια σε αναλυτικές μετρήσεις
- Θεωρείται, αν και δεν μπορεί να αποδειχτεί, ότι μία σειρά μετρήσεων (y) του ίδιου δείγματος κανονικά θα κατανέμεται γύρω από τη μέση τιμή (μ), δηλ. θα πέφτουν εντός της χαρακτηριστικής καμπύλης Gauss



Ακρίβεια (Accuracy) & Πιστότητα (Precision)



- το **95%** των μετρήσεων βρίσκονται εντός απόστασης **2σ** από τη μέση τιμή
- Στόχος: Το **σ** όσο το δυνατό μικρότερο
- Εκτιμητήρια του **σ**, η **ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ S**

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

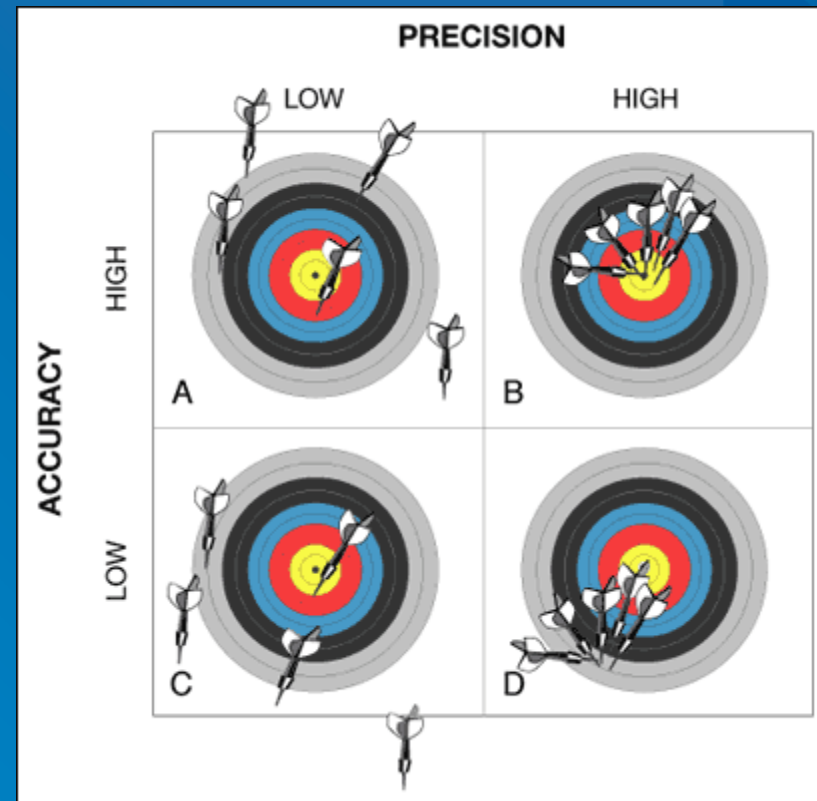
s = τυπική απόκλιση

n = αριθμός δειγμάτων

x_i = λαμβανόμενες τιμές για κάθε μέτρηση

\bar{x} = μέση τιμή των μετρήσεων

I



Ακρίβεια (Accuracy) & Πιστότητα (Precision)



Για παράδειγμα, για το φοιτητή 1 (99,5%, 99,9%, 100,2%, 99,4%, 100,5%) όπου η μέση τιμή υπολογίστηκε να είναι 99,9%, λαμβάνεται το ακόλουθο αποτέλεσμα:

$$s = \sqrt{\frac{(99,5 - 99,9)^2 + (99,9 - 99,9)^2 + (100,2 - 99,9)^2 + (99,4 - 99,9)^2 + (100,5 - 99,9)^2}{(5 - 1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{(-0,4)^2 + (0)^2 + (0,3)^2 + (-0,5)^2 + (0,6)^2}{4}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,16 + 0 + 0,09 + 0,25 + 0,36}{4}} = \sqrt{\frac{0,86}{4}} = \sqrt{0,215} = 0,46$$

$s = 0,46\%$ του καθορισμένου περιεχομένου.

Ακρίβεια (Accuracy) & Πιστότητα (Precision)



- Το **68%** των αποτελεσμάτων της ανάλυσης θα βρίσκονται εντός του εύρους $99,9 \pm 0,46\%$ ($\pm \sigma$) ή εντός του εύρους $99,44 - 100,36\%$.

- Για στάθμη εμπιστοσύνης **95%**, πρέπει να χρησιμοποιηθεί το $\pm 2\sigma$, δηλ. το 95% των αποτελεσμάτων του φοιτητή 1 πρέπει να βρίσκεται εντός του $99,9 \pm 0,92\%$ ή $98,98 - 100,82\%$.

Η **% σχετική τυπική απόκλιση (%RSD)** χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της πιστότητας

$$RSD = \frac{s}{x} \times 100$$



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

Η πλήρης αναλυτική μέθοδος πρέπει να περιγράφει:

- (i) την ποιότητα και την πηγή του προτύπου αναφοράς για το μόριο που αναλύεται.
- (ii) τις πορείες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των διαλυμάτων των προτύπων αναφοράς.
- (iii) την ποιότητα όλων των αντιδραστηρίων και διαλυτών που χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό, και στη μέθοδο παρασκευής τους.
- (iv) τις πορείες και ρυθμίσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τη λειτουργία κάθε οργάνου που απαιτείται για τον προσδιορισμό.
- (v) τη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τη βαθμονόμηση στον προσδιορισμό και τη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την κατεργασία των δειγμάτων πριν την ανάλυση.



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

1. Πιστότητα (Precision)

Οι κατευθυντήριες γραμμές της ICH ορίζουν την πιστότητα ως εξής: «Η πιστότητα μίας αναλυτικής διαδικασίας εκφράζει την εγγύτητα της συμφωνίας (βαθμός διασποράς) μεταξύ μίας σειράς μετρήσεων που ελήφθησαν από πολλαπλή δειγματοληψία του ίδιου ομογενούς δείγματος, κάτω από τις συνιστώμενες συνθήκες... Η πιστότητα μίας αναλυτικής διαδικασίας συνήθως εκφράζεται ως η **διακύμανση (variance)**, η **τυπική απόκλιση (standard deviation)** ή ο **συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation)** μίας σειράς μετρήσεων.»

- Γενικά, τιμές %RSD < 1% θεωρούνται απολύτως ικανοποιητικές για τη δραστική ουσία σε ένα σκεύασμα (όχι σαφές όριο) –n>5-
- Σε βιοαναλύσεις, ανώτατες τιμές %RSD 15-20%



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

Επίπεδα πιστότητας

1^α Επαναληψιμότητα (Repeatability)

Η επαναληψιμότητα εκφράζει την πιστότητα που λαμβάνεται υπό τις ίδιες συνθήκες χειρισμού και για βραχύ χρονικό διάστημα. Η επαναληψιμότητα μπορεί να οριστεί και ως η εντός προσδιορισμού πιστότητα (intra-assay).

1^β Ενδιάμεση πιστότητα (Intermediate precision)

Η ενδιάμεση πιστότητα εκφράζει την ενδοεργαστηριακή διακύμανση της πιστότητας όταν η ανάλυση εκτελείται από διαφορετικούς αναλυτές, σε διαφορετικές μέρες και με διαφορετικό εξοπλισμό.

1^γ Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility)

Η αναπαραγωγιμότητα εκφράζει την πιστότητα μεταξύ εργαστηρίων



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

2. Ακρίβεια (Accuracy)

- Εκφράζει την εγγύτητα του αποτελέσματος στη δηλούμενη τιμή (π.χ. περιεκτικότητα σκευάσματος)
- Η απλούστερη μέθοδος προσδιορισμού βασίζεται στη σύγκριση της προς ανάλυσης ουσίας με μία πρότυπη αναφοράς που θα αναλυθεί με την ίδια διαδικασία
- Η ακρίβεια πρέπει να αναφέρεται ως **εκατοστιαία ανάκτηση** ως προς τη γνωστή συγκέντρωση του αναλύτη που προστίθεται στο δείγμα ή τη διαφορά ανάμεσα στη γνωστή ποσότητα και την ποσότητα που προσδιορίστηκε από την ανάλυση ($n > 5$)



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

Τυποποιημένη διαδικασία λειτουργίας (SOP, standard operating procedure) σε δισκία παρακεταμόλης

Πλαίσιο 1.4 Απόσπασμα από τυποποιημένη διαδικασία λειτουργίας για την ανάλυση δισκίων παρακεταμόλης

8. Πορεία προσδιορισμού

8.1. Χρησιμοποιήστε ένα διακριβωμένο ζυγό

8.2. Ζυγίστε 20 δισκία

8.3 Κ

τητα κ

8.4. Α

10 ml

περισσ

8.5. Διηθήστε περίπου 100 ml του διαλύματος σε κωνική φιάλη και ακολούθως μεταφέρετε πέντε ξεχωριστά κλάσματα των 5 ml του διηθήματος σε ογκομετρικές φιάλες των 100 ml και ρυθμίστε τους όγκους στα 100 ml με οξικό οξύ (0,05 M)

8.6. Λάβετε δύο ενδείξεις για κάθε αραιώση, χρησιμοποιώντας ένα φασματοφωτόμετρο UV και τη διαδικασία που καθορίζεται στο Εδάφιο 9.

➤ Η ζύγιση είναι η πλέον επαναλήψιμη διαδικασία

➤ Δεν ισχύει το ίδιο για την εκχύλιση



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

Συνδυασμένα τυχαία σφάλματα

π.χ. λόγω των ανοχών των κατασκευαστών γυαλικών

Αποκλίσεις παρασκευαστών για συγκεκριμένους τύπους γυαλικών

Τύπος γυαλικού	A' Τάξεως	B' Τάξεως
Σιφώνιο 1 mL με φούσκα	$\pm 0,7\%$	$\pm 1,5\%$
Σιφώνιο 5 mL με φούσκα	$\pm 0,3\%$	$\pm 0,6\%$
Ογκομετρική φιάλη των 100 mL	$\pm 0,08\%$	$\pm 0,15\%$
Ογκομετρική φιάλη των 500 mL	$\pm 0,05\%$	$\pm 0,1\%$
Προχοΐδα των 25 mL	$\pm 0,2\%$	$\pm 0,4\%$



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

Αυτοεξέταση

Υπολογίστε το συνδυασμένο τυχαίο σφάλμα στον ακόλουθο προσδιορισμό, σχετικά με τα στάδια της αραιώσης που περιγράφηκαν και υπολογίστε το σφάλμα ως SD της εκατοστιαίας β/ο περιεκτικότητας στο ενέσιμο, υποθέτοντας ότι η περιεκτικότητά του είναι ακριβώς 2% β/ο.

Ένα ενέσιμο 2% β/ο αραιώθηκε 2 φορές χρησιμοποιώντας σιφώνιο με φούσκα των 5 mL, τάξεως A και ογκομετρικές φιάλες των 100 mL τάξεως A ως ακολούθως:

Αραιώση 1: 5 στα 100 mL

Αραιώση 2: 5 στα 100 mL

Η αβεβαιότητα της φασματοφωτομετρικής ένδειξης είναι $\pm 0,2\%$.

Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Απάντηση

Συνδυασμένο τυχαίο σφάλμα =

$$\sqrt{0,3^2 + 0,08^2 + 0,3^2 + 0,08^2 + 0,2^2} = 0,48\%$$

Τυχαίο
Σφάλμα σιφωνίου

Τυχαίο
Σφάλμα φιάλης

Αβεβαιότητα
ένδειξης

$$SD = 2\% \times 0,48/100 = \pm 0,01\%$$

Έκθεση αποτελεσμάτων



Δεν πρέπει να εμφανίζεται μία υψηλότερη στάθμη πιστότητας από αυτή που πραγματικά ήταν δυνατή στον προσδιορισμό.

Σημαντικά ψηφία στην καταγραφή των αποτελεσμάτων

Απάντηση ± S εσφαλμένη	RSD	Απάντηση ± S σωστή	RSD
% δηλούμενης περιεκτικότητας = 99,2 ± 0,22	0,22	% δηλούμενης περιεκτικότητας = 99,2 ± 0,2	0,2
% δηλούμενης περιεκτικότητας = 101,15 ± 0,35	0,35	% δηλούμενης περιεκτικότητας = 101,2 ± 0,4	0,4
0,2534 ± 0,00443% w/v	1,75	0,2534 ± 0,0044% w/v	1,7
1,0051 ± 0,0063% w/w	0,63	1,005 ± 0,006% w/w	0,6
1,784 ± 0,1242 µg/mL	6,962	1,784 ± 0,124 µg/mL	7,0

Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Άλλοι όροι:

1. **Καταλληλότητα συστήματος (system suitability).**
Χρησιμοποιείται για την εκτίμηση των συστατικών του αναλυτικού συστήματος με σκοπό ναδειχθεί ότι η απόδοση του συστήματος πληροί τα κριτήρια που απαιτούνται από τη μέθοδο. Σε χρήση ρουτίνας χρησιμοποιείται για να ελεγχθεί η ένταση του σήματος και η διαχωριστική ικανότητα της χρωματογραφίας
2. **Αναλυτικό λευκό (blank).**
Αυτό συνίσταται από όλα τα αντιδραστήρια ή διαλύτες που χρησιμοποιούνται σε μία ανάλυση χωρίς την παρουσία κανενός από τους αναλύτες

Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Άλλοι όροι:

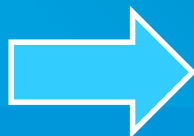
3. Διακρίβωση/Βαθμονόμηση (calibration).

Η διακρίβωση εξοπλισμού & η βαθμονόμηση μίας μεθόδου περιλαμβάνει σύγκριση της τιμής ή των τιμών μίας ειδικής παραμέτρου που μετρήθηκαν από το σύστημα κάτω από αυστηρά καθορισμένες συνθήκες με προκαθορισμένες πρότυπες τιμές

4. Όριο Ανίχνευσης (LOD, Limit of Detection).

Αυτή είναι η μικρότερη ποσότητα του αναλύτη που μπορεί να ανιχνευτεί με μία συγκεκριμένη μέθοδο. Επίσημα ορίζεται ως εξής: $x - x_B = 3s_B$

Όπου x είναι το σήμα από το δείγμα, x_B είναι το σήμα από το αναλυτικό λευκό και s_B είναι η SD της ένδειξης για το αναλυτικό λευκό.



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Στην περίπτωση των **χρωματογραφικών** διαχωρισμών υπάρχει συνήθως μία σταθερή ένδειξη υποβάθρου που καλείται **γραμμή βάσης**. Σε αυτή την περίπτωση, ένας καλύτερος ορισμός του ορίου ανίχνευσης είναι ότι ο αναλύτης πρέπει να δίνει ένα σήμα **> τρεις φορές** την τυπική απόκλιση της χρωματογραφικής γραμμής βάσης εντός του χρονικού εύρους των 0,5 min πριν και μετά την κορυφή.

$$S/N > 3 \text{ (S=signal, N=noise)}$$

Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



ΑΥΤΟΕΞΕΤΑΣΗ

Σε ποια από τις παρακάτω περιπτώσεις έχει επιτευχθεί το όριο ανίχνευσης;

Σήμα δείγματος	SD δείγματος	Σήμα αναλυτικού λευκού	SD λευκού
1. Απορρόφηση 0,0063	0,0003	0,0045	0,0003
2. Απορρόφηση 0,0075	0,0017	0,0046	0,0018
3. 0,335 ng/mL	0,045 ng/mL	0,045 ng/mL	0,037 ng/mL



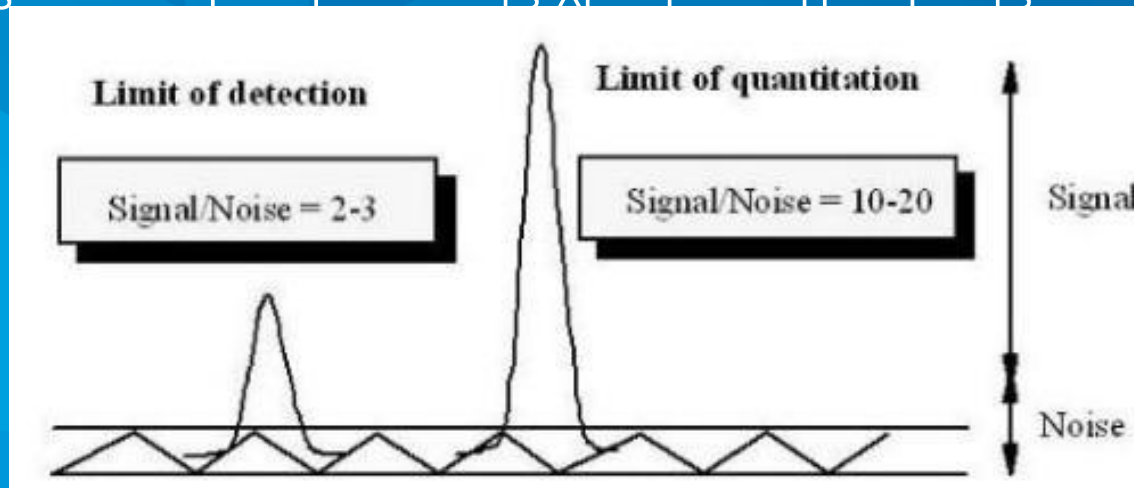
Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Άλλοι όροι:

5. Όριο Ποσοτικοποίησης (LOQ, Limit of Quantitation).

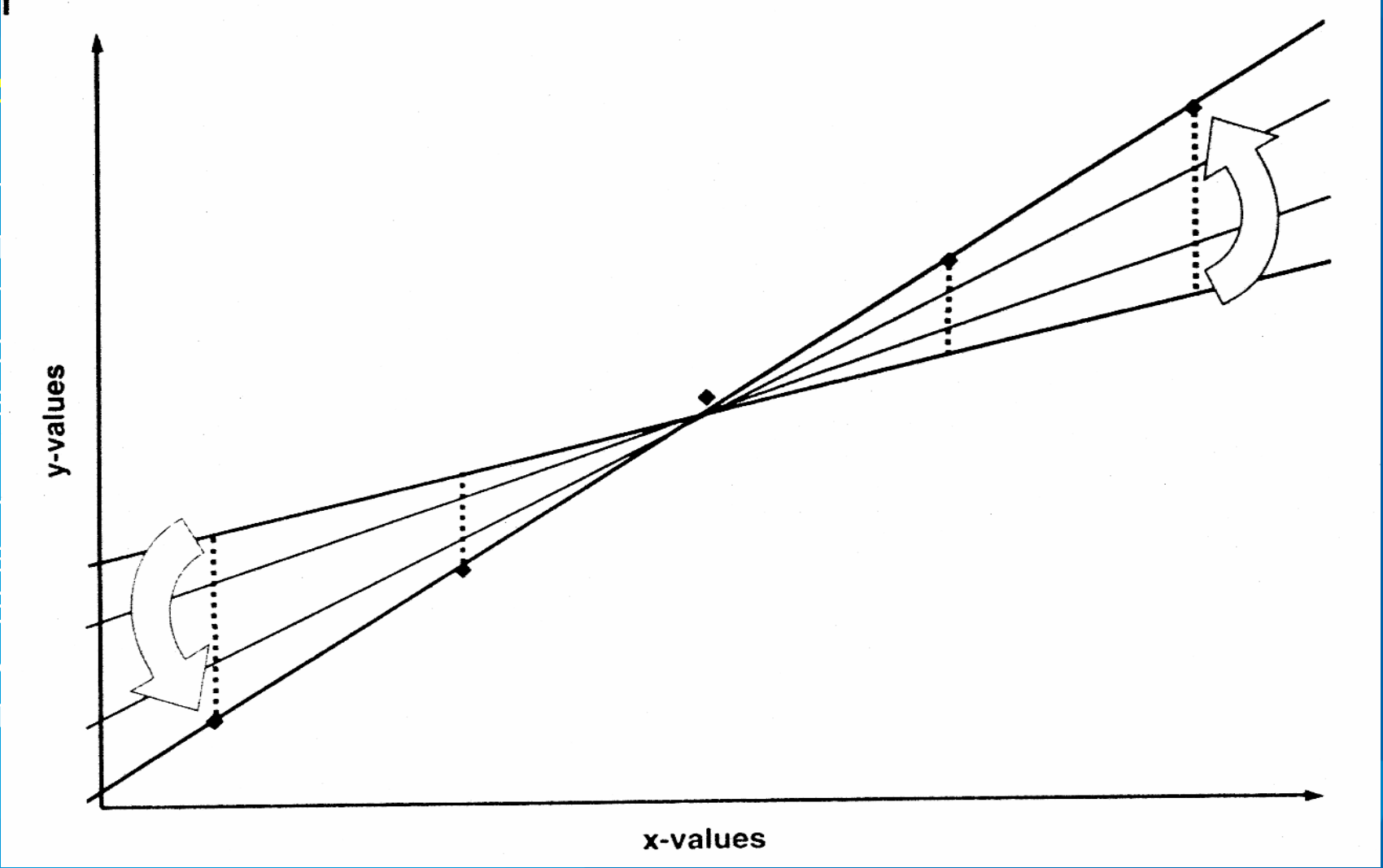
Το όριο ποσοτικοποίησης ορίζεται ως η μικρότερη ποσότητα του αναλύτη που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί αξιόπιστα, δηλ. με μία RSD για επαναλαμβανόμενη μέτρηση $< \pm 20\%$. Το όριο ποσοτικοποίησης ορίζεται ως: $x - x_B = 10s_B$. Σε αυτή την περίπτωση ο αναλύτης πρέπει να δίνει μία κορυφή $>$ δέκα φορές την τυπική απόκλιση της χρωματογραφικής γραμμής βάσης κατά τη διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης.





Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών

Άλλοι όροι:



Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Άλλοι όροι:

7. Περιοχή (Range).

Αναφέρεται στο διάστημα μεταξύ της υψηλότερης και της χαμηλότερης συγκέντρωσης ενός αναλύτη για το οποίο μία αποδεκτή στάθμη ακρίβειας και πιστότητας έχει κατοχυρωθεί. Τυπικές περιοχές είναι: 80-120% της δηλούμενης περιεκτικότητας για ένα τελικό προϊόν, 70-130% της αναμενόμενης συγκέντρωσης (π.χ. δισκία)

8. Ανθεκτικότητα (Robustness)

Η ανθεκτικότητα υπολογίζεται για να προσδιοριστεί πόσο ανθεκτικές είναι η ακρίβεια και η πιστότητα ενός προσδιορισμού σε μικρές διακυμάνσεις της μεθόδου (π.χ. pH, θερμοκρασία στήλης, αναλυτική στήλη, σύσταση κτλ)

Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Άλλοι όροι:

9. Εκλεκτικότητα (Selectivity).

Η εκλεκτικότητα μίας μεθόδου είναι ένα μέτρο του πόσο ικανή είναι για τη μέτρηση μόνο του αναλύτη παρουσία άλλων μορίων που περιέχονται στο δείγμα. Οι πιο εκλεκτικές αναλυτικές μέθοδοι περιλαμβάνουν έναν χρωματογραφικό διαχωρισμό. Ο ανιχνευτής παίζει πολύ μεγάλο ρόλο για την εκλεκτικότητα (UV---- φθορισμός---- MS/MS)

10. Ευαισθησία (Sensitivity)

Η ευαισθησία της μεθόδου δείχνει πόσο καλά αυτή αποκρίνεται σε μία μικρή αλλαγή της συγκεντρώσεως του αναλύτη. Σχετίζεται με την κλίση. Η ευαισθησία και το όριο ανίχνευσης μίας μεθόδου συχνά μπερδεύονται. Το **όριο ανίχνευσης** είναι αποτέλεσμα συνδυασμού της **περιοχής** και της **ευαισθησίας**.

Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών



Άλλοι όροι:

11. Ζύγιση εκ διαφοράς

Χρησιμοποιείται για την ελαχιστοποίηση των σφαλμάτων ζύγισης σε μία αναλυτική διαδικασία.

Πηγές προσμίξεων στη φαρμακευτική παραγωγή

- Να είναι παρούσες στις **αρχικές πρώτες ύλες** για τη σύνθεση
- Να είναι αποτέλεσμα από **υπολείμματα χημικών ενδιαμέσων** που χρησιμοποιούνται στη συνθετική διαδικασία και από ανεπιθύμητες δευτερεύουσες αντιδράσεις
- Να είναι αποτέλεσμα **αντιδραστηρίων, διαλυτών και καταλυτών** που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή

Η διαδικασία που χρησιμοποιείται για την παραγωγή της μορφοποιημένης φαρμακευτικής ουσίας μπορεί να εισάγει προσμίξεις ως ακολούθως:

- Σωματιδιακή ύλη από την **ατμόσφαιρα, μηχανές** και από **περιέκτες**
- Προσμίξεις που είναι παρούσες στα **έκδοχα** που χρησιμοποιούνται κατά τη μορφοποίηση
- Διασταυρούμενη μόλυνση** μπορεί να συμβεί από άλλες διαδικασίες που πραγματοποιούνται με χρήση του ίδιου εξοπλισμού, π.χ. από **αναμικτήρες**
- Μπορεί να λάβει χώρα **μικροβιακή μόλυνση**
- Το φάρμακο μπορεί να **αντιδράσει με τα έκδοχα** που χρησιμοποιούνται κατά τη μορφοποίηση
- Προσμίξεις μπορεί να εισαχθούν από τη **συσκευασία**, π.χ. μονομερή πολυμερών

Διαδικασίες που οδηγούν στην απόκλιση της πραγματικής περιεκτικότητας από τη δηλούμενη περιεκτικότητα σε ένα σκεύασμα

- Ατελής ανάμειξη του φαρμάκου με τα έκδοχα μορφοποίησεως πριν τη συμπίεση για δισκία ή την πλήρωση σε κάψουλες
- Φυσική αστάθεια της φαρμακοτεχνικής μορφής: δισκία που θρυμματίζονται πολύ εύκολα, κρέμες ή εναιωρήματα με διαχωρισμό φάσεων και υπερ- ή υποσυμπιεσμένα δισκία, οδηγούν σε απόκλιση από το απαιτούμενο βάρος
- Χημική διάσπαση του φαρμάκου προκαλούμενη από την αντίδρασή του με τον αέρα, το νερό, το φως, τα έκδοχα σε ένα σκεύασμα ή με τα υλικά συσκευασίας
- Κατανομή του φαρμάκου στα υλικά συσκευασίας

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

✓ Επί τοις εκατό όγκος/όγκο (% v/v)

Απαντάται πιο συχνά περιγράφοντας τη σύσταση των κινητών φάσεων που χρησιμοποιούνται στην υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Έτσι, όταν 30 mL μεθανόλης αναμειγνύονται με 70 mL νερό, σχηματίζεται ένα μείγμα 30:70 v/v.

✓ Επί τοις εκατό βάρος/όγκο (% w/v)

Το % w/v κανονικά χρησιμοποιείται για να εκφράσει το περιεχόμενο του δραστικού συστατικού σε υγρά σκευάσματα, όπως ενέσιμα, εγχύματα και κολλύρια. Η πυκνότητα του διαλύτη σε αυτή την περίπτωση δεν παίζει ρόλο, συνεπώς ένα διάλυμα 1 g/100 mL του φαρμάκου είναι 1% w/v ασχέτως αν διαλύεται σε αιθανόλη ή νερό.

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

Αυτοεξέταση

Μετατρέψτε τις παρακάτω συγκεντρώσεις σε % w/v.

- (i) 0,1 g/100 mL
- (ii) 1 mg/mL
- (iii) 0,1 g/mL
- (iv) 100 μg/mL

Απαντήσεις:

- (i) 0,1% w/v
- (ii) 0,1% w/v
- (iii) 10% w/v
- (iv) 0,01% w/v

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

Αυτοεξέταση (Αραίωση)

Ένας όγκος κολλυρίου 2 mL που περιέχει το τοπικό αναισθητικό υδροχλωρική προξυμετακαΐνη αραιώνεται στα 100 mL και ακολούθως 5 mL της αραιώσης αραιώνεται στα 200 mL. Το αραιωμένο δείγμα μετρήθηκε με φασματοφωτομετρία UV και βρέθηκε να περιέχει 0,512 mg/100 mL του φαρμάκου. Υπολογίστε το % β/ο του φαρμάκου στο κολλύριο.

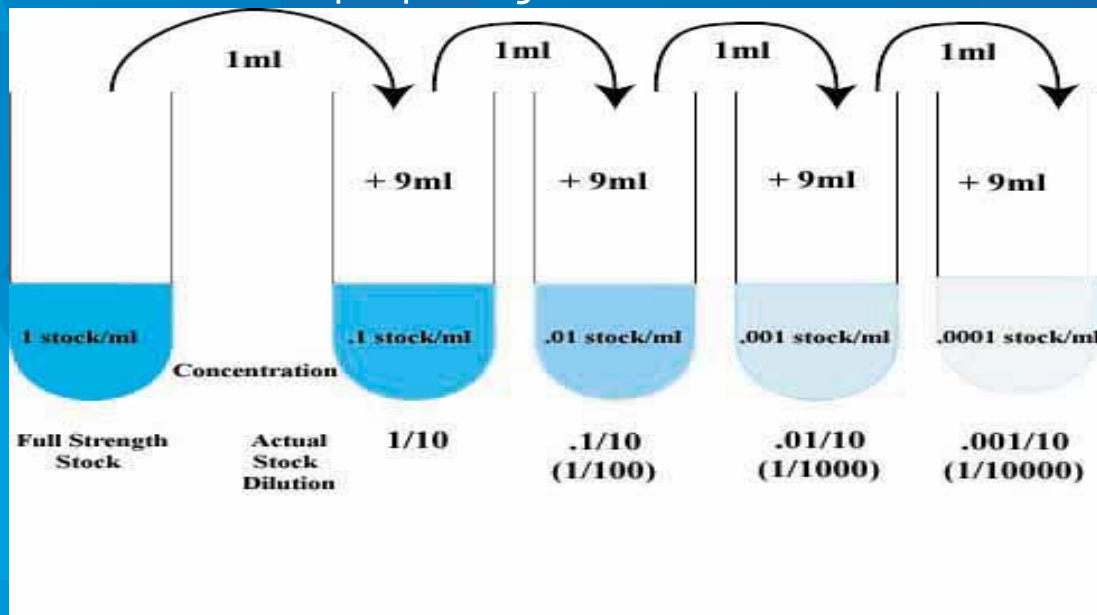
Απάντηση:

Παράγοντες αραιώσης 2 έως τα 100 (x 50). 5 έως τα 200 (x 40).
Ολική αραιώση $40 \times 50 = 2000$.

Αρχική συγκέντρωση = $2000 \times 0,512 = 1024 \text{ mg/100 mL} = 1,024 \text{ g/100 mL} = 1,024\% \text{ w/v}$.

Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων παρακαταθήκης

Κατά την παρασκευή ενός διαλύματος παρακαταθήκης ενός προτύπου χρησιμοποιώντας ζυγό τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων, και υποθέτοντας ότι δεν υπάρχει έλλειψη επάρκειας του προτύπου, είναι καλύτερο να ζυγίζονται τουλάχιστον 100 mg από το υλικό, καθώς ένα λάθος 0,1 mg στη ζύγιση αντιστοιχεί σε μόλις 0,1% του συνολικού βάρους.



Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

Αυτοεξέταση

Παρασκευάζεται ένα διάλυμα παρακαταθήκης που περιέχει 125,6 mg μίας πρότυπης ουσίας σε 250 mL. Προτείνετε πως η ακόλουθη αλληλουχία αραιώσεων θα μπορούσε να προετοιμαστεί (πρέπει να χρησιμοποιηθούν σιφώνια των 5 mL ή και μεγαλύτερα).

0,1005 mg/100 mL, 0,2010 mg/100 mL, 0,3015 mg/100 mL, 0,4020 mg/100 mL, 0,5025 mg/100 mL

Απαντήσεις: Αρκετές πιθανές απαντήσεις, π.χ. αραιώση 1,10 mL στα 250 mL. Ακολουθως από την αραιώση 1, σιφώνια των 5, 10, 15, 20 και 25 mL χρησιμοποιήθηκαν για τη μεταφορά σε ογκομετρικές φιάλες των 100 mL.

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

✓ Επί τοις εκατό βάρος/βάρος (% w/w)

Το % β/β είναι ένας κοινός τρόπος μέτρησης που χρησιμοποιείται να εκφράσει τη συγκέντρωση του δραστικού συστατικού σε ένα σκεύασμα, όπως μία κρέμα ή να εκφράσει το περιεχόμενο μίας πρόσμιξης σε μία φαρμακευτική ουσία.

Έτσι, μία κρέμα που περιέχει 10 mg (0,01 g) φαρμάκου ανά g είναι ένα: $(0,01/1) \times 100 = 1\% \text{ w/w}$ σκεύασμα

1 g του φαρμάκου θα μπορούσε να διαλυθεί σε 100 mL διαλύτη. Αν μία ανάλυση πραγματοποιείτο και το διάλυμα του φαρμάκου βρισκόταν να περιέχει 3 mg/100 mL μίας πρόσμιξης, τότε το %β/β αναφερόμενο πίσω στην αρχικό βάρος της φαρμακευτικής ουσίας θα ήταν:

$$(0,003/1) \times 100 = 0,3\% \text{ w/w}$$

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

✓ Μέρη στο εκατομμύριο (ppm)

Τα μέρη ανά εκατομμύριο (ppm), βάσει w/w είναι 1 mg/kg (1 μg/g). Είναι ένας κοινός τρόπος μέτρησης που χρησιμοποιείται για προσμίξεις σε φαρμακευτικές ουσίες, ειδικά για βαρέα μέταλλα και διαλύτες. 1 ppm είναι επίσης 0,0001% w/w.

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

Αυτοεξέταση

125,1 mg θειικής στρεπταμυκίνης διαλύονται σε 10 mL νερού. Μία ανάλυση GC υπερκείμενου χώρου πραγματοποιείται για να προσδιοριστεί το περιεχόμενο της μεθανόλης στο φάρμακο. Μία κορυφή μεθανόλης παρατηρήθηκε που έχει το 73,2% του εμβαδού κορυφής από πρότυπη μεθανόλη που περιέχει 0,532 mg/100 mL μεθανόλης σε νερό, το οποίο αναλύθηκε κάτω ακριβώς από τις ίδιες συνθήκες. Ποιο είναι το περιεχόμενο σε μεθανόλη της θειικής στρεπταμυκίνης σε ppm και % w/w;

Απάντηση:

311,3 ppm, 0,03113% w/w

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

Εργαζόμενοι μεταξύ βαρών και μοριακότητας (molarity)

Μοριακός (Molar, M) : μοριακό βάρος σε g/L (mg/mL)

Χιλιοστομοριακός (mMolar, mM): μοριακό βάρος σε mg/L
($\mu\text{g/mL}$)

Μικρομοριακός (μMolar , μM): μοριακό βάρος σε $\mu\text{g/L}$
(ng/mL)

Νανομοριακός (nMolar, nM): μοριακό βάρος σε pg/L
(pg/mL)

Βασικοί υπολογισμοί στη Φαρμακευτική Ανάλυση

Αυτοεξέταση

- (i) Υπολογίστε τις συγκεντρώσεις σε mg/mL και $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ενός διαλύματος καναμυκίνης $10\mu\text{M}$ (MB 484,5)
- (ii) Παρασκευάστηκε ένα διάλυμα σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει νατριούχο δικλοφαινάκη (MB 318,1) σε συγκέντρωση $79,5\text{ mg}/100\text{ mL}$. Τι όγκος αυτού του διαλύματος απαιτήθηκε για να εκτελεστεί μία μικροσωματική επώαση 1 mL που περιέχει $25\mu\text{M}$ συγκέντρωση του φαρμάκου;

Απάντηση:

- (i) $0,004845\text{ mg}/\text{mL}$, $0,004845\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$
- (ii) $10\text{ }\mu\text{L}$