

Евалуација на робустност на аналитички метод за определување на содржина на конзерванс во полуцврста дозирана форма

Антонела Бојковска*¹, Филип Смиљчевски *¹, Марија Величковска *¹, Дино Карпичаров *², Паулина Апостолова *², Благица Манчевска *¹, Ана Атанасова *¹, Пацка Антовска *¹

¹Институт за истражување и развој, Алкалоид АД Скопје, Булевар „Александар Македонски“, бр. 12, 1000, Скопје, Северна Македонија

²Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, ул. „Крсте Мисирков“, бр. 10А, 2000, Штип, Северна Македонија

Вовед

Според водичот на Интернационалната конференција за хармонизација за валидација на методи, робустноста на аналитички метод е дефинирана како мерка за капацитетот на аналитичкиот метод, кој останува непроменет при мали, но значајни промени во параметрите на методот како индикација за неговата веродостојност во секојдневна употреба¹. Со цел да се зголеми ефикасноста и да се подобри квалитетот, а да се намали времето потрошено за анализа, со помош на Modde Go (Umetrics) креиран е експериментален дизајн чии експерименти се анализирани во рандомизиран распоред и даваат можност да се истражи областа од интерес². Со целосен факторијален дизајн, анализирајќи 4 фактори на две нивоа, креирани се 19 експерименти и истите се анализирани со соодветен хроматографски метод. Притоа, следена е промената на вредностите на три параметри за соодветност на системот, односно асиметрија на пик и број на теоретски подови. За овие параметри воспоставени беа соодветни критериуми за прифатливост, односно вредност за асиметријата на пик помеѓу 0.8 и 2.0, и бројот на теоретски подови не помал од 2000. Дополнително, релативната стандардна девијација, добиена од шест последователни инјектирања на ист стандарден раствор, не треба да биде поголема од 2.0%.

Материјали и методи

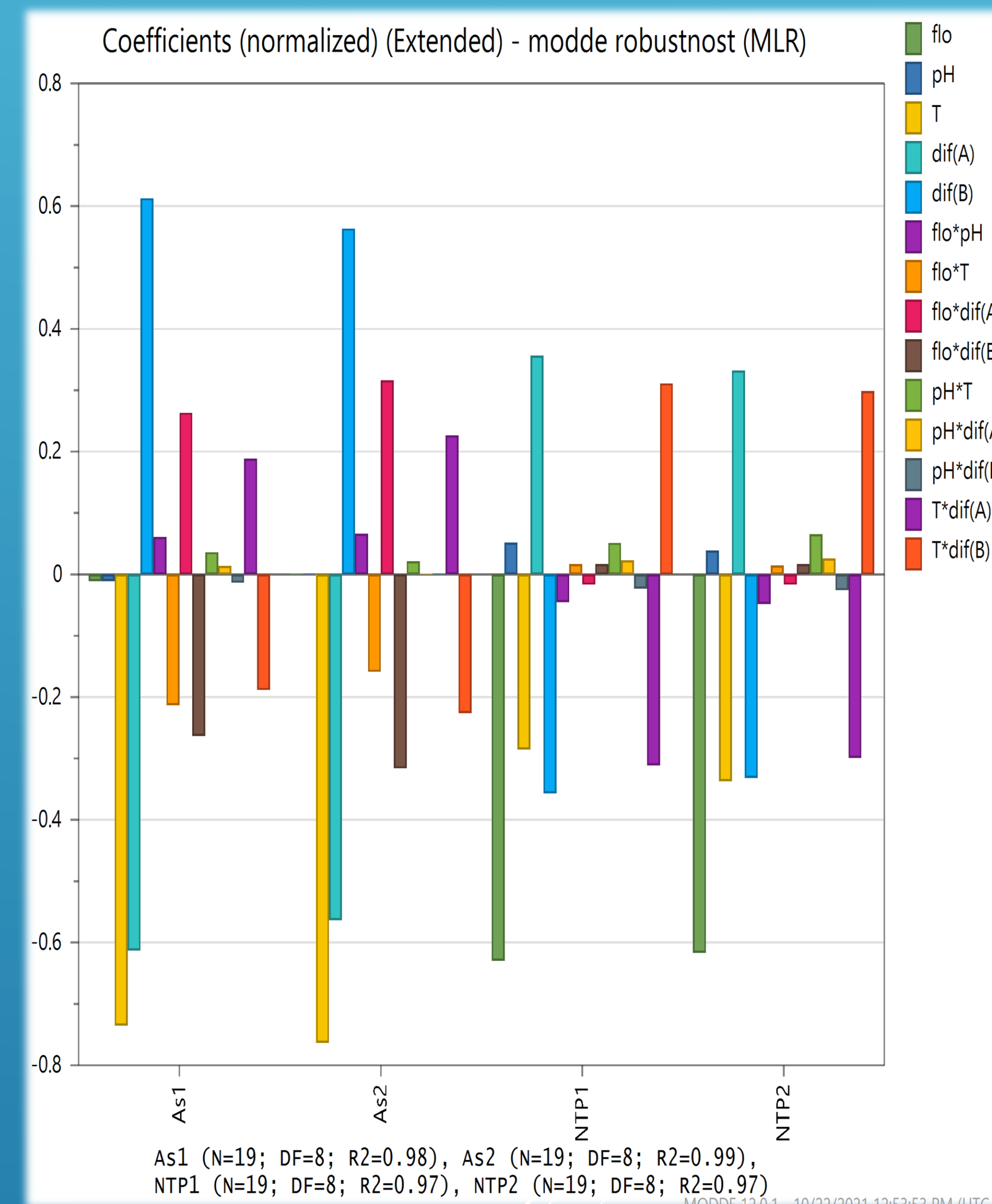
Одредување на содржината на конзервансот се изведува со користење на течна хроматографија под висок притисок. За анализата потребни се референтен стандард од конзерванс, калиум дихидроген фосфат како реагенс, 85% раствор на орто-фосфорна киселина, ацетонитрил и прочистена вода. Користена колона е Waters Spherisorb CNRP, 4.6 x 150 mm; 5 µm. Температура на колона е 30°C. Мобилната фаза се состои од мешавина од фосфатен пуфер со рН вредност 3.0 и ацетонитрил во сооднос 60:40 (v/v). Времето на хроматографијата е 15 минути, а брзина на проток е 1.5 ml/min. Волумен на инјектирање е 20 µL од стандардниот и пробниот раствор. УВ детекција се врши на 210 nm.

Табела 1. Експериментален дизајн

Екс. број	Број на ран	Проток	рН на пуфер	Температура на колона	Различна серија на колона
1	16	1.3	2.98	25	A
2	12	1.7	2.98	25	A
3	17	1.3	3.02	25	A
4	2	1.7	3.02	25	A
5	19	1.3	2.98	35	A
6	4	1.7	2.98	35	A
7	13	1.3	3.02	35	A
8	7	1.7	3.02	35	A
9	6	1.3	2.98	25	B
10	10	1.7	2.98	25	B
11	11	1.3	3.02	25	B
12	3	1.7	3.02	25	B
13	9	1.3	2.98	35	B
14	18	1.7	2.98	35	B
15	5	1.3	3.02	35	B
16	8	1.7	3.02	35	B
17	14	1.3	2.98	25	A
18	15	1.3	2.98	25	A
19	1	1.3	2.98	25	A

Резултати и дискусија

Релативната стандардна девијација, асиметријата и бројот на теоретски подови се евалуирани одговори. Моделот е валидиран со анализа на варијанса (*Anova*). Релативната стандардна девијација од 6 последователни инјектирања не е подложна на влијание од факторите одбрани во дизајнот на експеримент и истата во сите експерименти е во рамките на дозволените граници. Затоа релативната стандардна девијација нема да се евалуира како одговор на дизајнот на експерименти. Во однос на останатите два одговора, пресметаните вредности за $R^2 > 0.96$ (процент од варијацијата на одговорот објаснет со моделот) и $Q^2 > 0.8$ укажуваат на тоа дека моделот има потврда за соодветност. Валидноста на моделот е > 0.4 што значи дека моделот е добар и комплетен. Репродуцибилноста на методот дава податоци за контролата на експерименталната процедура, со добиена вредност поголема од 0.9. Квалитативниот придонес на секој фактор врз одговорот е анализиран со Парето дијаграм. (Слика 1). Асиметријата е најмногу зависна од температурата на колона и од серијата на колоната која се користи, додека бројот на теоретски подови од брзината на протокот и серијата на колона која се користи.



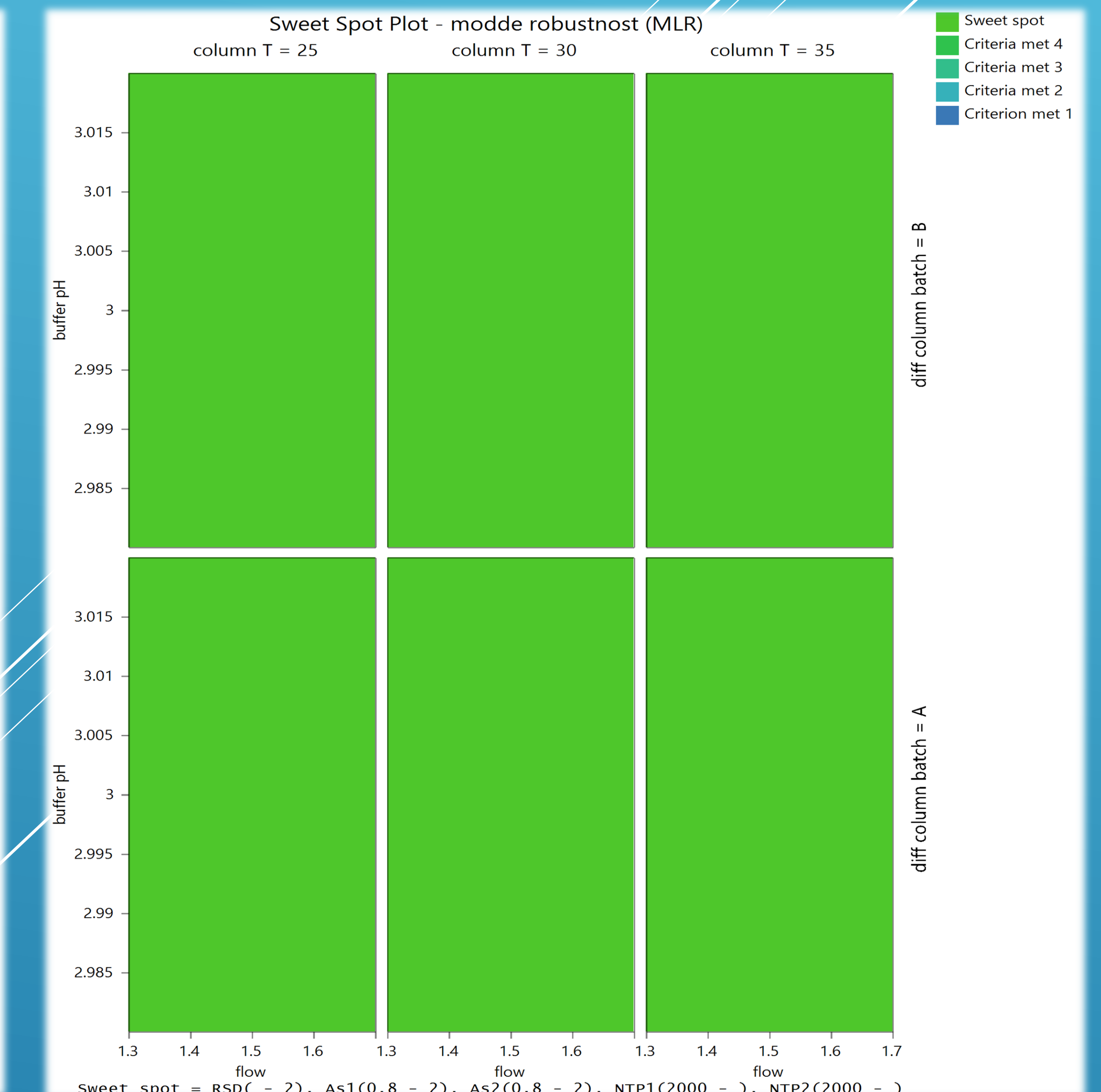
Слика 1. Парето дијаграм

Заклучок

Согласно слика 2, зелената област го претставува делот од дизајнот каде сите критериуми за следените одговори се постигнати. Ова област претставува “sweet spot”. Од приложените податоци може да се заклучи дека методот е робустен и мали промени во параметрите не влијаат на соодветноста на методот.

Референци

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline; Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1); 1994; Available on: [Q2\(R1\) Guideline.pdf \(ich.org\)](https://www.ich.org/documents/monographs/chapter02/)
2. P.K. Sahu et al. / Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 147 (2018) 590–611



Слика 2. “Design Space model” за сите фактори