

Kompjutorska potpora u kontroli kakvoće lijekova. V. Otpornost kao prosudbeni kriterij

Bezjak, Aleksandar; Grdinić, Vladimir

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1994, 50, 245 - 251**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:803330>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and
Biochemistry University of Zagreb](#)



FARMACEUTSKI GLASNIK

GLASILO HRVATSKOG FARMACEUTSKOG DRUŠTVA

GOD. 50

LISTOPAD 1994.

BROJ 10

FAGLAI

Farm.Glas.

ISSN 014-8202

ZNANSTVENI RADOVI

Aleksandar Bezjak i Vladimir Grdinić (Zagreb)

Kompjutorska potpora u kontroli kakvoće lijekova V. Otpornost kao prosudbeni kriterij*

(Primljeno 29. 04. 1994.)

*Computer-aided Pharmaceutical Quality Control
V. Ruggedness as an evaluation criterion*

S u m m a r y – The principal purpose of ruggedness test is to ensure that a selected analytical procedure will give reproducible and reliable results. That means to know the critical operational parameters for every measurement procedure. The basic idea of the ruggedness test is not to study one alteration at a time, but to introduce several changes at once, in a manner that the effects of individual changes can be ascertained.

The RUGGTEST software for use on IBM-compatible computers is described for the design, comparison and evaluation of pharmaceutical quality-control procedures. RUGGTEST program can be used to examine any situation involving two to eleven variables. Example given relate to data from qualitative analytical model. The software packet can be expanded for various analytical procedures.

(Department of General and Inorganic Chemistry and Department of Analytatics and Control of Medicine, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1, 41000 Zagreb, Republic of Croatia)

UVOD

Analitička mjerenja na gotovo identičnim tvarima, u gotovo identičnim uvjetima mjerenja, općenito, ne daju identične rezultate. Razmatranje opadanja pouzdanosti, posebice je važno kada se radi o postupcima osjetljivima na malene promjene u izvedbi mjerenja. Nije neobično da se u jednom laboratoriju rezultati mjerenja uzorka dobro podudaraju, ali čim se analitički postupak primijeni u drugom laboratoriju, dakle u drugim radno-tehničkim

* Dio IV. vidjeti u Farm. Glas., 47 (1991) 279.

uvjetima, pouzdanost (preciznost) i obnovljivost (reproducibilnost) se gube. Najbolja zaštita da se to ne događa je provođenje tzv. *ispitivanja otpornosti*** postupka mjerernja.

ISPITIVANJE OTPORNOSTI ANALITIČKOG POSTUPKA

Provedbu ispitivanja otpornosti utemeljili su W. J. Youden i E. H. Steiner (1), a zasniva se na neovisnim, malenim, namjernim promjenama upravo onih parametara analitičkog postupka koji mogu zamjetljivo utjecati na rezultat mjerenja. Pri tome se ne uvodi samo jedna, već istodobno nekoliko promjena u laboratorijskoj provedbi postupka. Promjene parametara trebaju biti toliko male da se mogu smatrati uobičajenim u provođenju analitičkog postupka u različitim laboratorijima. Ako je analitički postupak »otporan« na malene (ujedno i neizbježne) promjene ispitivanih parametara, onda one ne bi smjele utjecati na rezultate mjerenja u realnim uvjetima. Većina tih malenih promjena vrijednosti parametara pokazivat će zanemarive učinke, međutim, ako se otkrije ijedan »kritični« parametar neophodno je na to ukazati u izvedbi mjerenja. Dakako, samo onaj analitički postupak koji se pokaže »otpornim« može se bez teškoća primjenjivati u suradnim ili međulaboratorijskim ispitivanjima uzoraka tvari (2).

Glavni cilj ispitivanja »otpornosti« je identifikacija onih parametara u provedbi nekog postupka koji se moraju pažljivo nadzirati, odnosno otkrivanje onih okolnosti pod kojima je potrebno posebno brižljivo izvoditi postupak analize.

Utjecaj svakog pojedinog parametra prosuđuje se na temelju svih rezultata ispitivanja, pri čemu je nužno provesti minimalan broj ispitivanja, koji ovisi o broju ispitivanih parametara za eksperimentalne uvjete (1).

MATEMATIČKI APARAT

Analitička mjerenja provode se prema unaprijed planiranoj shemi (matrici). Postupak se teorijski zasniva na analizi n eksperimentalnih rezultata mjerenja dobivenih namjernim promjenama vrijednosti m eksperimentalnih varijabli. Varijable pri tome mogu imati samo dvije vrijednosti: *normalnu*, odnosno uobičajenu, pravilnu ili propisanu i *alternativnu* ili preinačenu.

Za n kombinacija ovih varijabli prikazanih u redovima postavljene matrice, dobije se n eksperimentalnih rezultata koji se mogu prikazati vektorski:

$$\mathbf{R} = [r(1) \dots r(i) \dots r(n)] \quad (1)$$

gdje je član vektora $r(i)$ rezultat i -tog eksperimenta pod utjecajem vrijednosti varijabli koje su uzete prema i -tom retku matrice \mathbf{S} :

** engl. ruggedness test.

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} s(1,1) & \dots & s(1,j) & \dots & s(1,m) \\ \dots & & & & \\ s(i,1) & \dots & s(i,j) & \dots & s(i,m) \\ \dots & & & & \\ s(n,1) & \dots & s(n,j) & \dots & s(n,m) \end{pmatrix} \quad (2)$$

Svaki član $s(i,j)$ matrice \mathbf{S} može, kako je naprijed objašnjeno, poprimiti dvije vrijednosti (normalnu i alternativnu).

Sa m varijabli moguće je napraviti 2^m kombinacijâ normalnih i alternativnih vrijednosti, ukoliko se varira samo jedna varijabla. To bi zahtijevalo za veći broj varijabli mnogo eksperimenata, tj. $n = 2^m$. »Finim« slaganjem varijabli da se izdvoji manji broj eksperimenata. Tako su nastale matrice $\mathbf{S}_{m \times n}$: 8×7 , 8×6 , 4×3 i 12×11 , od kojih se u literaturi najčešće rabi matrica $\mathbf{S}_{8 \times 7}$.

Za analizu rezultata eksperimenata pogodnije je rabiti matricu u kojoj su varijablama pridružene vrijednosti »jedan« s predznakom +, tj. +1, kada se radi o normalnim vrijednostima varijabli, odnosno -, tj. -1, kada se radi o alternativnim vrijednostima varijabli. Tada, primjerice, matrica $\mathbf{S}_{8 \times 7}$ glasi:

$$\mathbf{S}_{8 \times 7} = \begin{pmatrix} +1 & +1 & +1 & +1 & +1 & +1 & +1 \\ +1 & +1 & -1 & +1 & -1 & -1 & -1 \\ +1 & -1 & +1 & -1 & +1 & -1 & -1 \\ +1 & -1 & -1 & -1 & -1 & +1 & +1 \\ -1 & +1 & +1 & -1 & -1 & +1 & -1 \\ -1 & +1 & -1 & -1 & +1 & -1 & +1 \\ -1 & -1 & +1 & +1 & -1 & -1 & +1 \\ -1 & -1 & -1 & +1 & +1 & +1 & -1 \end{pmatrix} \quad (7)$$

Kako se vidi iz priloženih matrica u svakoj koloni od n eksperimenata nalazi se $n/2$ normalnih i $n/2$ alternativnih vrijednosti varijable, pa se »utjecaj« vrijednosti varijabli na eksperimentalne rezultate $r(i,j)$ može prikazati kao prosječna razlika $V(j)$ za svaku j -tu varijablu:

$$V(j) = \frac{2}{n} \sum_{i=1}^n r(i) \cdot s(i,j) \quad (8)$$

i kao standardno odstupanje SD za m varijabli

$$SD = \sqrt{\frac{2}{m} \sum_{j=1}^m V(j)^2} \quad (9)$$

$V(j)$ – vrijednost je zapravo član vektora koji nastaje množenjem vektora \mathbf{R} (jednadžba 1) s matricom \mathbf{S} (npr. jednadžba 7)

$$\left(\frac{2}{n}\right) \mathbf{R} \cdot \mathbf{S} = \mathbf{V} = [V(1) \dots V(j) \dots V(m)] \quad (10)$$

Svaka $V(j)$ -vrijednost može se usporediti sa standardnim odstupanjem SD, pa ako je

$$|V(j)| \geq \sqrt{2} \cdot SD \quad (P < 0.05) \quad (11)$$

onda se može prihvatiti hipoteza da j -ta varijabla signifikantno utječe na rezultate eksperimenata.

KOMPJUTORSKI PROGRAM

Za obradbu podataka izrađen je program RUGGTEST. Kompijutorska oprema prilagođena je radu na IBM-PC. Program je pisan u QBASIC 4.0 jeziku, a sadrži sljedeće podprograme:

DATOTEKA

- ulaz podataka iz stanovite datoteke

MENI

- automatsko biranje matrice
RUGGTEST 4×3
RUGGTEST 8×6
RUGGTEST 8×7
- programi za izračunavanje $V(j)$ i SD vrijednosti
- rangiranje $V(j)$ – vrijednosti
- ispis rezultata obradbe podataka i analize

Programom RUGGTEST je predviđeno da se obradba podataka i analiza može provesti ako je broj eksperimenata i varijabli u skladu s matricama 8×7, 8×6 ili 4×3, no program se može proširiti i na matricu 12×11 kao i na koju drugu predloženu matricu.

Ulazni podaci moraju, osim osnovnih podataka (redni broj zapisa i naziv eksperimenta), sadržavati:

- veličinu matrice $n \times m$,
- n – eksperimentalnih rezultata i
- m – naziva varijabli.

PRIMJER PRIMJENE

Kao model za vrednovanje algoritma RUGGTEST izabran je mikroanalitički postupak dokazivanja nikal(II)-iona s ditiooksamidom (3). Prosudba granice dokazivanja bila je utvrđena metodologijom kako je to opisano (4).

Plan mjerenja

Ispitivan je utjecaj varijabla sa svojim normalnim i alternativnim vrijednostima kao što je navedeno u Tablici 1.

Tablica 1. Varijable za ispitivanje otpornosti postupka dokazivanja Ni(II)-iona s ditiooksamidom

Varijable	Nominalna vrijednost	Alternativna vrijednost
Volumen otopine analita [mL]	A: 0.030	a: 0,040
Promjer zrna smole [mm]	B: 0,5–0,63	b: 0,8–1,0
Broj zrna smole	C: 5	c: 20
Koncentracija NH ₄ OH [mol L ⁻¹]	D: 1	d: 3
Vrijeme sorpcije analita [min]	E: 5	e: 20
Koncentracija ditiooksamida [%]	F: 0,1	f: 0,5
Vrijeme razvijanja boje [min]	G: 5	g: 20

U osam skupina pokusa ispitivanja otpornosti ovoga modela (kvalitativna analiza, Tablica 1), a sukladno planu mjerenja (jednadžbe 5 i 7), određene su stanovite granice dokazivanja Ni(II)-iona (3). Dobivene vrijednosti su prema planu mjerenja unesene u Tablicu 2.

Tablica 2. Podaci za ispitivanje otpornosti

Pokus	Varijable							Mjerena vrijednost [ng]
	A	B	C	D	E	F	G	
1	+	+	+	+	+	+	+	2,3
2	+	+	-	+	-	-	-	1,5
3	+	-	+	-	+	-	-	3,0
4	+	-	-	-	-	+	+	3,0
5	-	+	+	-	-	+	-	1,5
6	-	+	-	+	+	-	+	3,9
7	-	-	+	+	-	-	+	3,1
8	-	-	-	+	+	+	-	3,1

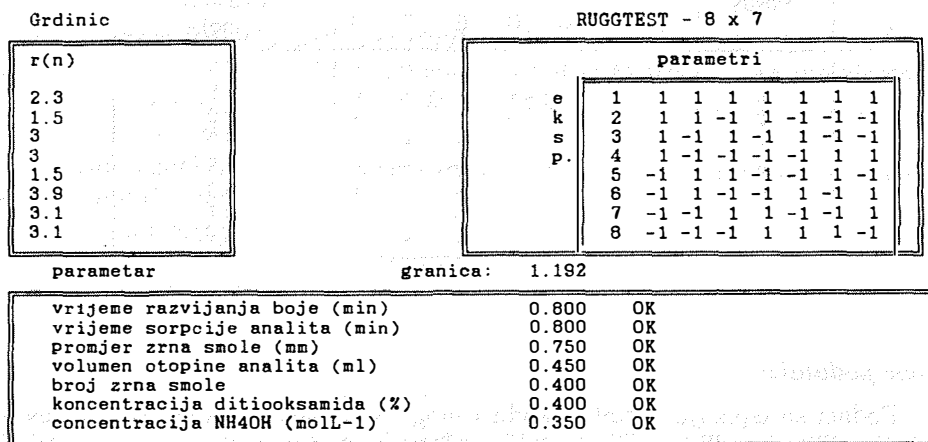
Unos podataka

Podaci se ispisuju u ASCII-kodu i mogu se upisivati sa svakim odgovarajućim editorom. Tako su, primjerice, ulazni podaci za ispitivanje otpornosti postupka dokazivanja nikla s ditiooksamidom (DTO) upisani u datoteku RUGGDAT.R87 kao:

2 redni broj zapisa u datoteci
 Grdinić naziv zapisa
 8 7 n i m vrijednosti
 2.3 eksperimentalni rezultati $r(i)$; $i=1,8$
 1.5
 3.0
 3.0
 1.5
 3.9
 3.1
 3.1
 volumen otopine analita [mL] naziv varijabli ($m=7$)
 promjer zrna smole [mm]
 broj zrna smole
 koncentracija NH_4OH [mol L^{-1}]
 vrijeme sorpcije analita [min]
 koncentracija ditiooksamida [%]
 vrijeme razvijanja boje [min]

Ispis obrađenih podataka

Programom RUGGTEST predviđeno je da se na temelju podataka n i m u datoteci automatski uključi u račun odgovarajuća matrica $S_{n \times m}$ i izračunaju $V(j)$ vrijednosti, kao i standardno odstupanje (SD). Na slici 1 prikazan je ispis dobiven na temelju ulaznih podataka.



Slika 1. Izlazni podaci uporabom programa RUGGTEST

Kao rezultat analize na ekranu se pojavljuje:

1. ispis eksperimentalnih $r(i)$ rezultata,
2. matrica, $S_{n \times m}$,
3. podatak za graničnu $\sqrt{2} \times SD$ vrijednost, i
4. rangirane $V(j)$ vrijednosti za varijable uz komentar je li pojedina $V(j)$ vrijednost ukazuje na signifikantan utjecaj j -te varijable na eksperimentalne rezultate. Naime, ako promjena od normalne na alternativnu vrijednost kod varijable u eksperimentu nema značajan utjecaj javlja se znak OK, dok se u drugim primjerima javlja tekst »signifikantna razlika«.

Rangiranjem $V(j)$ vrijednosti može se dopunski proučiti utjecaj varijable na rezultate eksperimenta. Naime, veća $V(j)$ vrijednost znači i veći utjecaj varijable na eksperimentalno dobiven rezultat.

Kao što je ispitana otpornost kvalitativnog analitičkog postupka, moguće je ispitati otpornost svakog drugog kvalitativnog ili kvantitativnog postupka u kojem se završnim mjerenjem može doći do stanovite vrijednosti fizičke veličine.

Kompijutorski program moguće je nabaviti kod prvog autora.

ZAKLJUČAK

Izrađena je nova programska potpora namijenjena ispitivanju utjecaja malih ali realnih promjena parametara analitičkih postupaka. Korisnička programska potpora može se primijeniti za tvorbu većeg broja podataka u uskoj svezi s ispitivanjem otpornosti farmakopejskih i drugih postupaka u kontroli kakvoće lijekova.

Program je primijenjen na stvaran analitički postupak. Utvrđeno je da mikroanalitički postupak dokazivanja nikla s ditiooksamidom nije podložan malim promjenama eksperimentalnih uvjeta, a postupkom se može dokazati najmanje 1,5 – 3,9 ng Ni(II)-iona.

Obradba podataka je krajnje jednostavna, a rezultati obradbe se dobivaju brzo i iskazuju tablično.

(Zavod za opću i anorgansku kemiju i Zavod za analitiku i kontrolu lijekova, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, A. Kovačića 1, 41000 Zagreb, Republika Hrvatska).

Literatura – References

- (1) *W. J. Youden, E. H. Steiner*, Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemistry, AOAC, Arlington, 1975.
- (2) *B. V. Fisher*, Anal. Proc. (London), **21** (1984) 443.
- (3) *V. Grdinić, S. Luterotti, L. Stefanini-Orešić* Analytical Profile of the Resin Spot Test, CRC Press, Boca Raton, 1990, s. 209.
- (4) *V. Grdinić, G. Špoljarić*, Farm. Glas. **36** (1980) 41.