

Yaxshi xromatografik amaliyotlar



Doktor A. Amsavel

Tarkib

- Kirish
- Solventlar va reagentlar sifati
- Mobil fazani tayyorlash va ishlatish
 - Bufer, filtrlash, gazzizlantirish
 - Saqlash va foydalanish
- Tahlil qilishga tayyorgarlik
 - Namuna tayyorlash va tizimning mosligi
 - USP bo'yicha sozlashga ruxsat beriladi
- Ustunlarni boshqarish
 - Mobil fazani yuvish va o'zgartirish
- Tahlil va integratsiya
- Hujjatlar
- Muammolar va hisobot
- Malaka va kalibrlash

Kirish

- Farmatsevtika QC laboratoriyasidagi materialning xromatografiya tahlili (HPLC, GC & TLC va boshqalar) muqarrar.
- *identifikatsiyalash, tahlilni, tozaligini, tegishli moddalar va qoldiq erituvchilarni aniqlash uchun* ishlatiladi .
- Xromatografiya tahlilining maqsadi yakuniy mahsulot, oraliq, reaksiya monitoringi, jarayonni tekshirish, tozalashni tekshirish, tozalashni tekshirish, barqarorlik sinovi va boshqalar uchundir.
- Xromatografik tahlil GMP ga muvofiq va tartibga soluvchi talablarga javob beradigan tarzda amalga oshirilishi va hujjatlashtirilishi kerak
- **Tahlil va muvofiqlikni amalga oshirishda qiyinchiliklar mavjud**

Malaka va tasdiqlash

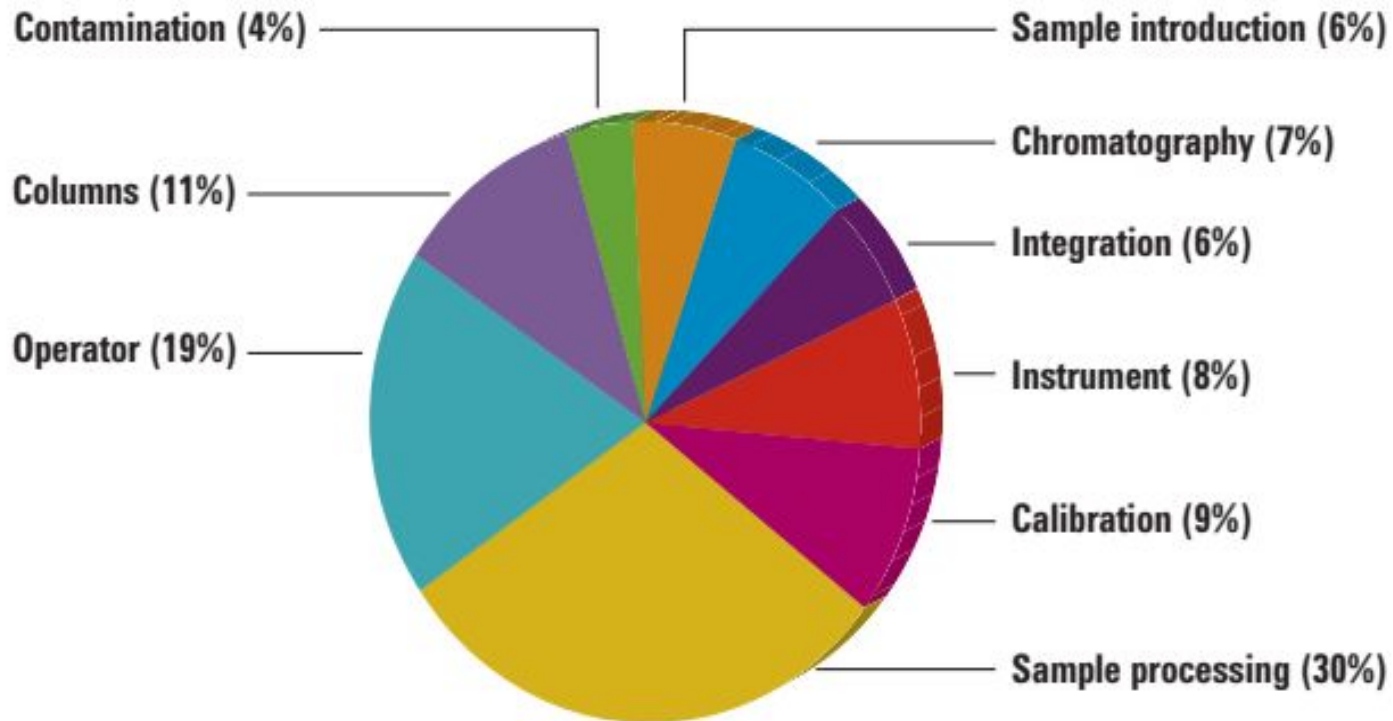
- HPLC va GC asboblari malakali bo'lishi kerak (URS, DQ, IQ, OQ va PQ)
- Amaldagi dasturiy ta'minot 21CFR Part-11 talablariga javob berishi kerak
- Uskuna va dasturiy ta'minot Kompyuter tizimini tekshirish (CSV) talabiga (GAMP-5) muvofiq bo'lishi kerak.
- belgilangan oraliqda mos ravishda kalibrlanishi kerak
- Sinov usuli tasdiqlangan bo'lishi kerak, kompendiya usuli tekshirilishi kerak va yoki qo'llanilishi mumkin bo'lgan usulni uzatish
- Tahlilchi malakali va o'qitilgan bo'lishi kerak
- *Ref: Uskunaning malakasi 1-ilova: Suyuq xromatografiya uskunasining malakasi*



**Xromatografik tahlil qilishda qanday
qiyinchiliklar yuzaga keladi?**

**Qanday xatolar mumkin
tahlil paytida yuzaga keladimi?**

Sources of Error Generated During Chromatographic Analysis



Data taken from Agilent Technologies survey

Muammolar yoki qiyinchiliklar !!!

Muammolarni qanday oldini olish mumkin?

Uni qanday nazorat qilish mumkin?

**Qanday qilib xatolarni bartaraf etish yoki
kamaytirish mumkin?**

- “ **Yaxshi xromatografik amaliyotlar**” ga rioya qiling
- Yaxshi xromatografik amaliyotlar uchun SOP
- Malakali asboblardan foydalaning
- Tasdiqlangan / tasdiqlangan va tegishli test usuli
- Davriy kalibrlash va profilaktika ishlarini bajaring
- To'g'ri sifatli erituvchilar, to'g'ri namuna tayyorlash, tizimning mosligi
- **Tahlilchini tayyorlash va malakasini oshirish**

Keling, HPLC tahlilini muhokama qilaylik

Sampling and sample management

- Sampling plan
- Sampling records
- Transport to laboratory
- Sample management

Sample Preparation

- Sample number and identity
- Batch number
- Sample weight
- Balance used
- Balance log
- Sample preparation records
- Pipettes and glassware used

Analysis

- Instrument ID
- Column ID
- Instrument method
- Data capture method
- Sequence file

Data Interpretation

- Integration method
- Automatic integration
- Manual integration (if allowed)

Individual Result Calculation

- SST results OK
- Calibration standards
- Calculation of individual results

Reportable Result

- Calculation of the reportable result from individual results
- Electronic signatures of tester and reviewer

98.3

- Units
- Batch and lot number
- Specification limits
- Test pass-fail decision

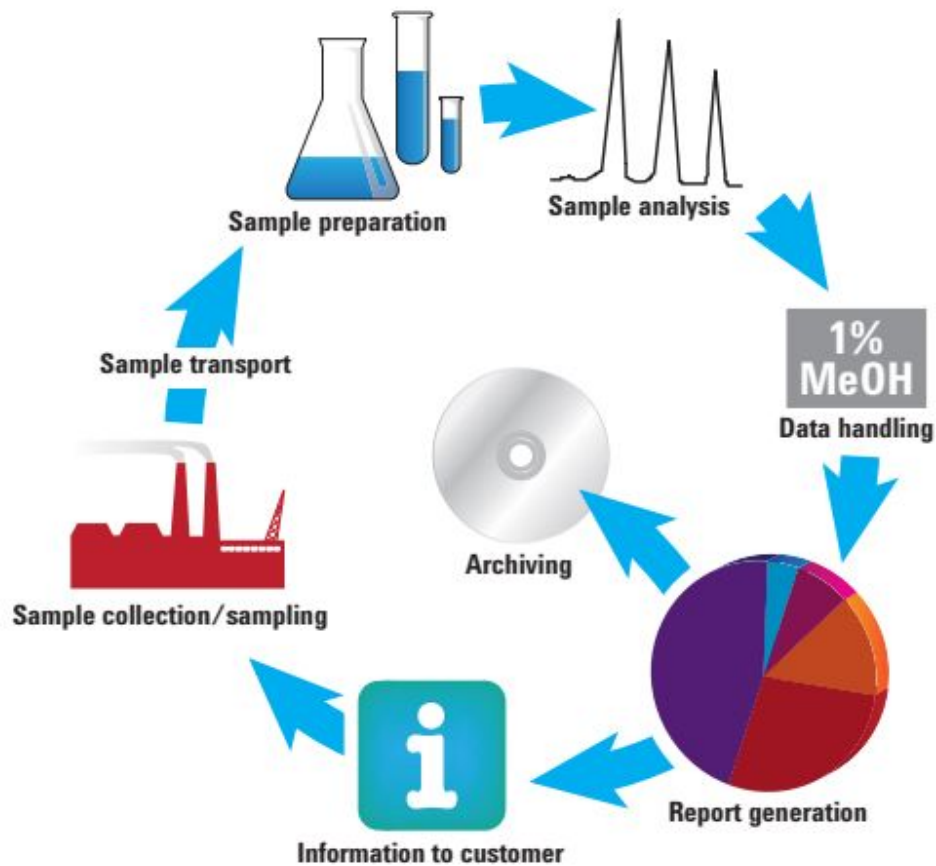
← Data system audit trail entries →

← Identification of all Individuals Involved in the Process →

← Scope of second person review →

← Complete Data (FDA)
Raw Data (EU) →

HPLC tahlil oqimi



HPLC tahlili uchun suv

- HPLC tahlili uchun har doim faqat **Ultra toza / Milli -Q suvidan foydalaning**
- 18 MΩ qarshilikka ega ultra toza HPLC suv
- HPLC tahlili uchun RO suv/ **deionizatsiyalangan suvdan foydalanmang** . Unda **organik va inorganik aralashmalar** bo'ladi
- **yomon boshlang'ich chiziqqa, driftga, arvoch cho'qqisiga** va kamroq aniqlikka olib keladi.

Eslatma

- *Iloji bo'lsa toza suvdan foydalaning yoki to'g'ri saqlang*
- *HPLC sinfidagi suvni shisha idishlarda saqlang.*
- *Plastik idishlar plastmassa tarkibidagi qo'shimchalarni suvga qo'yishi mumkin*

Solventlar va reagentlar

- Barcha reagentlar va erituvchilar yuqori sifatli bo'lishi kerak.
- HPLC toifasidagi reagentlar va erituvchilar **yuqori tozalikka ega, ular past UV nurlanishiga ega bo'ladi**
- **soxta cho'qqilarni, yomon cho'qqilarni, yuqori boshlang'ich chiziqni** va hokazolarni hosil qiluvchi aralashmalar mavjud
- **uchun reagent / kislota eng yuqori toza** bo'lishi kerak .
- Zarur bo'lganda, Farmakopiya /sinov usulida ko'rsatilgan reaktivning **o'ziga xos sifatini** qo'llang
 - *Masalan . Ammoniy asetatning tozaligiga qarab turli navlari*
- TEA va TFA laboratoriya muhitidan ifloslangan bo'lishi kutilmoqda va saqlash vaqtida muzlatgichda saqlanishi kerak.

Erituvchi sifatining ta'siri

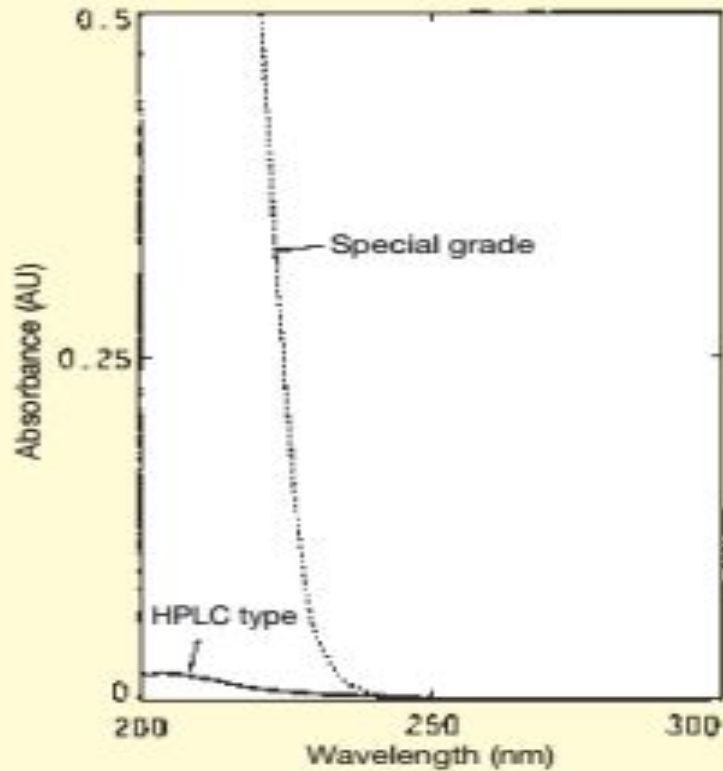


Fig. 1 Absorbance Spectra for Acetonitrile Reagent

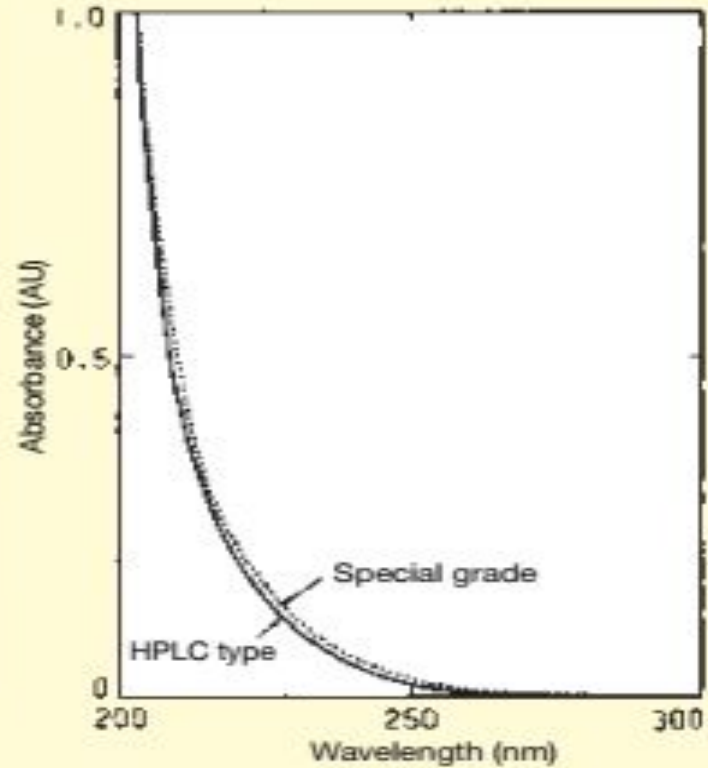


Fig. 2 Absorbance Spectra for Methanol Reagent

Buferlar

- **foydalanish kunida yangi tayyorlangan** bo'lishi kerak .
- **uzoq muddat saqlashdan** ta'sirlanadi va **mikroblarning o'sishiga moyil bo'ladi** ; ikkalasi ham xromatografiyaga yomon ta'sir qiladi.
- Agar bufer eritmalar uzoq vaqt davomida ishlatilsa yoki saqlansa; saqlash va foydalanish muddatini belgilang
- **stabilizatorsiz** reagentlardan foydalaning . Masalan Stabillashtiruvchi vosita sifatida natriy metabisulfit ishlatiladi
- Ushbu **stabilizatorlar ko'pincha optik va xromatografik xatti-harakatlarga ta'sir qilishi** mumkin .
- **Qattiq reagentni qayta-qayta ochish va ishlatishdan** saqlaning , chunki osongina ifloslanishi mumkin
- Talabga qarab, ta'sirni kamaytirish uchun **past o'lchamda xarid qiling** .

Buferdan foydalanish

- **oldini olish uchun bufer eritmalarini tizimda uzoq vaqt qoldirmang**
 - . Bu tizimga ta'sir qiladi.
 - *Nasosga ta'siri* - piston va muhrni shikastlash
 - *Ustunga ta'sir qilish* - ustun bo'shliqlarini yaratish
 - *Oqim chizig'iga ta'siri* - zanglamaydigan po'latdan yasalgan liniyalarning korroziyasi
- **bakteriya o'sishini rivojlanishi** mumkin, masalan, fosfat tamponlari - bu bakteriya va qo'ziqorin o'sishi uchun yaxshi vositadir. Shuning uchun yangi tayyorlangan va saqlashdan saqlanib.
- Barcha eritmalar shaffof, **bir hil va zarrachalardan xoli bo'lishi kerak.**
- Bufer eritmaları **0,45 mikron filtr orqali filtrlanishi kerak**
- *Eslatma: oz miqdorda natriy azid mikroblarning o'sishini inhibe qilish uchun suvli erituvchiga.*

Filtrlash

- Barcha HPLC erituvchilar yoki mobil faza ishlatishdan oldin 0,45 mikron filtr orqali filtrlanishi kerak.
- **Ustun va HPLC tizimining tiqilib qolishiga** olib kelishi mumkin bo'lgan zarrachalarni olib tashlaydi .
- **assimilyatsiya ostida 5 daqiqadan ko'proq** ushlab turmang . juda uchuvchan erituvchilardan foydalanilganda mobil faza o'zgarishi tarkibi
- Filtrlash **qismlarning eskirishini oldini oladi.**
 - Nasos pistonlari, qistirmalari va nazorat klapanlari yaxshi ishlaydi va xizmat muddati maksimal darajada oshiriladi.
 - maksimal darajaga ko'tariladi
- bug'lanish va chang bilan ifloslanishini oldini olish uchun **yopiq suv omborida saqlanishi** kerak.

Mobil fazani o'zgartirish - RP

- Mobil fazali tahlilni boshqa tahlilga o'tkazish silliq xromatografik tahlil uchun muhimdir.
- RP tizimida butunlay organik fazaga o'tishdan oldin butun tizim suv bilan yuvilishi kerak: **ishlatilgan tamponlarni olib tashlash uchun organik (1: 1)** aralashma .
- Organiklar tizimdagi qolgan tamponlar bilan aloqa qilganda kristallanishni oldini oling .
- Masalan **100% asetonitrildan foydalanish bufer eritmasida tuzning cho'kishiga olib keladi.**

Mobil fazani almashtirish.

- **Oddiy fazali tizimni/ustunni teskari fazaga** aylantirish uchun ikkala oddiy fazali erituvchi bilan aralashadigan erituvchi bilan yuving.
- Agar oxirgi teskari fazali erituvchilar buferni o'z ichiga olsa, u holda 100% metanolni yuvishdan 50% suvli metanol yuvishga o'tish tavsiya etiladi.

Masalan:

Oddiy faza: geksan/etil asetat

**Yuvish: IPA (izopropenil asetat), keyin metanol Nihoyat (50:50)
Metanol/suv**

Teskari faza: tamponlangan suvli metanol

Mobil fazani almashtirish.

- Teskari fazali tizimni/ustunni normal fazaga aylantirish uchun shunga o'xshash usulni bajaring, lekin teskari,
- Masalan,
teskari faza: tamponlangan suvli metanolni
yuvish: 50:50 metanol/suv,
nihoyat metanol, keyin IPA
normal fazasi: geksan/etil asetat

Mobil fazaga tayyorgarlik - isokratik

- Izokratik tizimlar uchun turli xil erituvchilarni oldindan aralashtirish kerak
- Tayyorlash bo'yicha maslahatlar: aniqlik uchun erituvchilarni alohida o'lchab, aralashtiring.
Masalan, 1000ml 50:50 nisbatda suv/metanol aralashmasini tayyorlash uchun 500ml milliQ suvni o'lchab, shishaga soling va 500ml metanolni o'tkazing va taxminan 10-15 daqiqa davomida aralashtiring va sonikatsiya qiling .
- Mobil faza va saqlashni himoya qilish
 - Shisha shishadan foydalaning
 - Yuqori sezuvchanlik noorganik tahlil uchun Plastik shishadan foydalaning.
 - Erituvchi moddalar bug'lanishi va chang bo'lmasligi uchun har doim idishni yoping

*Eslatma: Mobil fazali shishani **parafilm bilan yopmang** . Parafilm dan ajraladigan moddalar tahlilni ifloslantirishi mumkin .*

Qiziqarli, to'g'rimi?

Bu to'liq taqdimotning oldindan ko'rishi xolos. Sizga yoqadi degan umiddamiz! Qolgan qismini ko'rish uchun [uni PowerShow.com saytida to'liq ko'rish uchun shu yerni bosing](#). Keyin, agar xohlasangiz, butun taqdimotni bepul yuklab olish uchun PowerShow.com saytiga kirishingiz mumkin.