

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕКНИДАЗОЛА
ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

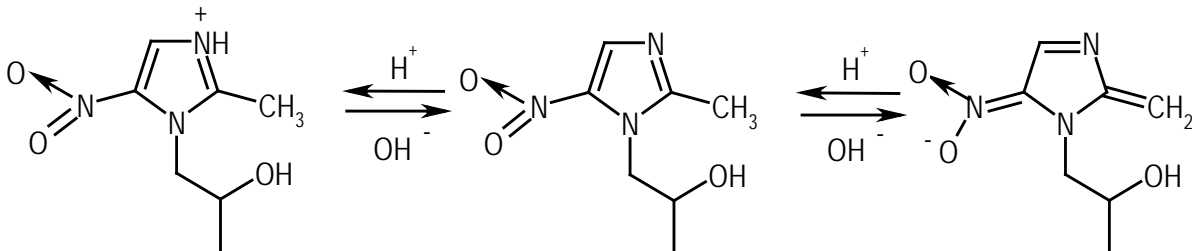
Шовковая О. В., Клименко Л. Ю., Шовковая З. В.

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Секнидазол – 1-(2-метил-5-нитроимидазол-1-ил)пропан-2-ол – относится к группе антипротозойных лекарственных средств и широко применяется для лечения инфекционных заболеваний, вызванных трихомонадами, лямблиями, лейшманиями, амебами и пр. Препарат обладает целым рядом побочных эффектов, проявляющихся классическими симптомами острой интоксикации (головокружение, тошнота, рвота), особенно при взаимодействии с другими лекарственными средствами и в случае приема на фоне алкоголя [Brook I., 2016; Gillis J. S. et al., 1996]. Процедуры анализа секнидазола, пригодные для целей клинической и судебной токсикологии практически не разработаны, чаще всего в литературе описываются методики количественного определения секнидазола в биологических жидкостях, применяемые с целью изучения фармакокинетики либо биоэквивалентности препарата и основанные на использовании метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с различной детекцией [Li X. et al., 2007; Ravi S. K. et al., 1997].

Целью данной работы является разработка ряда УФ-спектрофотометрических методик количественного определения секнидазола и выполнение пошаговой валидации разработанных методик с использованием предложенных в работах [Klimenko, L. Yu. et al., 2016] подходов к процедуре определения и оценке приемлемости линейности, правильности и сходимости в вариантах метода калибровочного графика и метода стандарта для выбора наиболее оптимального варианта для дальнейшего применения.

Исходя из химической структуры секнидазола можно предположить для него следующую схему превращений при изменении pH среды:



Наличие такого рода превращений подтверждается данными УФ-спектрофотометрии. Нами были получены УФ-спектры секнидазола в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты (А), 96% этаноле (В), 0,1 М метанольном растворе калия гидроксид (С), 0,1 М растворе натрия гидроксид (D) и показано, что при увеличении значения pH наблюдается пошаговое смещение максимума поглощения вещества вправо (277 нм → 310 нм → 314 нм → 319 нм).

С использованием полученных данных относительно максимумов поглощения секнидазола в УФ-области спектра разработаны методики его количественного определения с применением соответствующих растворителей.

Разработку методик количественного определения секнидазола проводили параллельно с ее валидацией в соответствии со следующей процедурой:

- применение нормализованных координат (нормализация по раствору сравнения);
- диапазон применения – 25 – 125%, 25 – 150%, 25 – 175%;
- количество концентрационных уровней – $g = 5, 6$ или 7 (в зависимости от выбранного диапазона применения) с постоянным шагом 25%;

- оптическую плотность модельных растворов измеряли в рамках одной последовательности по 3 раза с выниманием кюветы и использовали для расчетов средние значения;
- концентрацию секнидазола в модельном растворе, соответствующую точке 100% в нормализованных координатах, выбирали таким образом, чтобы оптическая плотность спектрофотометрируемого раствора составляла 0,4 – 0,6.

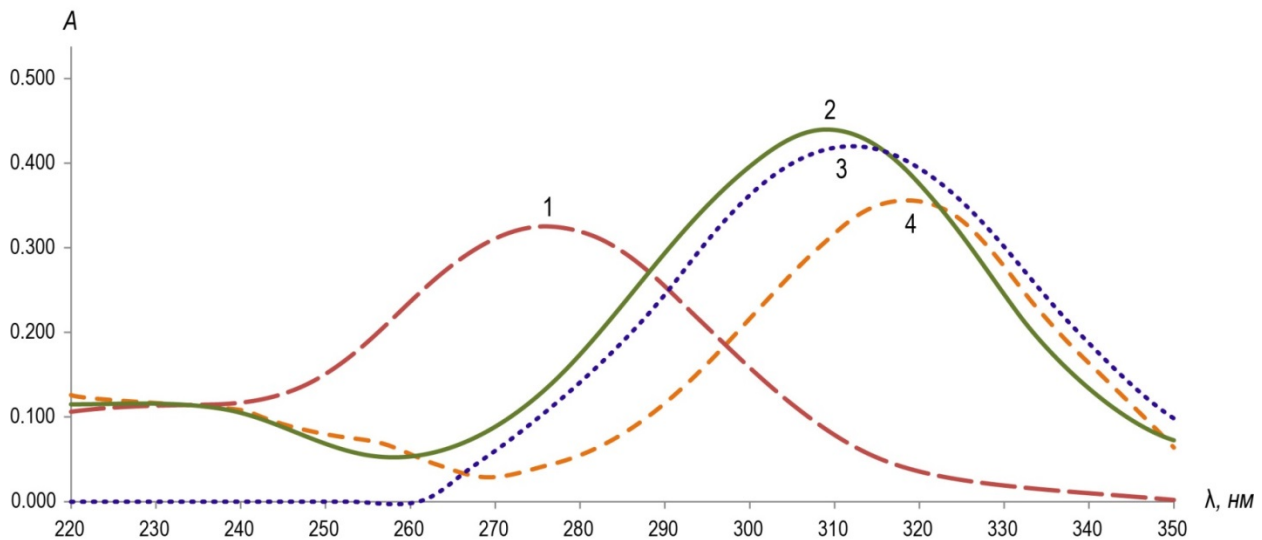


Рис. УФ-спектры секнидазола ($l = 10$ мм; концентрация 10 мкг/мл):

1 – 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной, $\lambda_{\max} = 277$ нм;

2 – 96% этанол, $\lambda_{\max} = 310$ нм;

3 – 0,1 М метанольный раствор калия гидроксида, $\lambda_{\max} = 314$ нм;

4 – 0,1 М раствор натрия гидроксида, $\lambda_{\max} = 319$ нм

Для определения параметров линейной зависимости полученные средние значения оптической плотности модельных растворов нормализовали по раствору сравнения и обрабатывали методом наименьших квадратов.

Для расчета критериев приемлемости получаемых валидационных параметров исходили из широкого спектра возможностей применения разрабатываемых методик и наслоения ошибок преаналитической пробоподготовки объектов к анализу. При этом либо считали вклад аналитической методики в общую ошибку незначимым, либо предполагали равенство ошибок аналитической методики и преаналитической пробоподготовки.

Нормируемые метрологические параметры полученных калибровочных прямых вида $Y = b \cdot X + a$ колеблются в широких диапазонах и лишь для единичных случаев укладываются в рамки наиболее жестких требований. В то же время наиболее либеральные требования выполняются для всех методик с большим запасом.

Определение и оценку приемлемости правильности и сходимости проводили одновременно с проверкой линейности. По полученным данным относительно величин систематической и случайной составляющей можно говорить о том, что все методики характеризуются приемлемой правильностью для всех вариантов нормирования.

В то же время прецизионность методики изменяется в широких пределах и носит такой же характер, как и при проверке линейности методик.

Лучшие показатели линейности, правильности и прецизионности были зафиксированы для методики В (96% этанол) в варианте метода калибровочного графика и для методики D (0,1 М натрия гидроксид) в варианте метода стандарта для диапазона применения 5 – 25 мкг/мл.