

КЛМ



Том 8 № 4 2013

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ КЛІНІЧНОЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ МЕДИЦИНИ

*Всеукраїнський науково-медичний журнал
Виходить 4 рази на рік*

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

В.К.Івченко (Луганськ)

ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА

І.О.Комаревцева (Луганськ)

НАУКОВИЙ РЕДАКТОР

Ю.І.Налапко (Луганськ)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

Н.М.Білько (Київ)

О.П.Волосовець (Київ)

О.П.Гудзенко (Луганськ)

Н.К.Казимирко (Луганськ)

Г.Д. Каці (Луганськ)

С.А.Кащенко (Луганськ)

О.М.Клімочкіна (Луганськ)

В.І.Коломієць (Луганськ)

В.М.Комаревцев (Луганськ)

Р.Крегг (Лондон, Велика Британія)

І.М.Кузнецова (Санкт-Петербург, Росія)

І.В.Лоскутова (Луганськ)

В.Д.Лук'янчук (Луганськ)

О.М.Магомедов (Київ)

Л.О.Мальцева (Дніпропетровськ)

В.Й.Мамчур (Дніпропетровськ)

М.Мейз (Сан-Франциско, США)

О.Д.Немятих (Луганськ)

О.А.Орлова (Луганськ)

М.С.Пономаренко (Київ)

Ю.Г.Пустовий (Луганськ)

О.С.Решетнікова (Луганськ)

Л.В.Савченкова (Луганськ)

С.М.Смірнов (Луганськ)

І.І.Тернинко (Луганськ)

В.М.Толочко (Київ)

С.М.Федченко (Луганськ)

Ю.А.Хунов (Луганськ)

В.А.Шаповалова (Харків)

В.В.Шаповалов (Харків)

І.П.Шлапак (Київ)

ЛІТЕРАТУРНІ РЕДАКТОРИ

В.С.Косенко (Луганськ)

К.К.Налапко (Луганськ)

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

М.А.Волошин (Запоріжжя)

В.Г.Ковешніков (Луганськ)

Л.В.Новицька-Усенко (Дніпропетровськ)

В.І.Черній (Донецьк)

Журнал заснований ДЗ «Луганський державний медичний університет» в жовтні 2006 р.

Журнал зареєстрований Державним комітетом телебачення та радіомовлення України 24.01.2006, свідоцтво КВ № 10905.

Журнал зареєстрований Вищою атестаційною комісією України як фаховий, в якому можуть публікуватися результати дисертаційних досліджень, за напрямками: **Медичні науки, біологічні науки, фармацевтичні науки** (Постанова Президії ВАК України 1-05/8 від 11.10.2007 р. та №1-05/3 від 08.07.2009 р.).

Журнал включено до бази даних реферованих журналів Всеросійського інституту наукової і технічної інформації Російської академії наук. Статті проходять процедуру внутрішнього та зовнішнього рецензування.

Адреса редакції: «Український журнал клінічної та лабораторної медицини», ДЗ «Луганський державний медичний університет», кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1. Луганськ, 91045, Україна. Телефон / факс: 0642-532036. E-mail: nalapko@ukr.net

Рекомендовано до друку Вченою Радою ДЗ «Луганський державний медичний університет» (протокол №8 від 05.09.2013). Підписано до друку 12.09.2013. Рік випуску восьмий. Формат 60x84,8. Папір офсетний. Замовлення №99. Тираж 500 прим.

Видавець та виготовлювач: ДЗ «Луганський державний медичний університет», кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1. Луганськ, 91045, Україна. Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру України видавців, виготівників та розповсюджувачів видавничої продукції ДК №609 від 21.09.2001 р., видане Державним комітетом інформаційної політики, телебачення та радіомовлення України.

ЗМІСТ

ПРОБЛЕМНІ СТАТТІ			
Д.О.Порох, К.В.Федорова. Сутність професійно-етичних якостей та комунікативних навичок у вдосконаленні вивчення іноземних мов у майбутніх медиків	5	С.И.Лях, П.Н.Замятин, В.П.Невзоров, О.Ф.Невзорова. Морфофункциональные изменения расслаивающей аневризмы аорты до и после наложения анастомозов и эндопротезирования	55
В.А.Вишневский. Психолого-педагогический анализ практического занятия	9	Н.М.Храновська, О.В.Скачкова, Н.М.Свергун, Н.В.Юнкін, М.В.Іномістова, С.В.Павлик, Е.В.Шайда, Г.І.Климнюк. Вплив статусу плідності ДНК пухлини на перебіг захворювання у дітей з нейробластомою	61
С.В.Витрищак, С.В.Жук, А.К.Клименко. Неблагоприятные экологические факторы города Луганска и Луганской области как фактор риска для здоровья детей и подростков	12	И.А.Багиров. Прогностические факторы в мультицентровом исследовании лечения острого лимфобластного лейкоза у детей в Азербайджане	65
		С.В.Андреева. Клональные аномалии хромосом в клетках костного мозга при остром миелобластном лейкозе у детей и подростков	69
		Л.М.Іванова, Т.В.Мироненко. Роль перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в патогенезі синдрому подразненого кишечника у сполученні з гіпертонічною хворобою	76
		В.А.Азизов, К.Ф.Маммедярова, Л.Г.Эфендиева, Л.Г.Амрахова. Влияние отвара «Метабол» в комбинации с atorvastатином на липидный спектр крови	79
		О.М.Ковальова, О.В.Гончарь, А.Т.Хмара. Інтерлейкін 33 та ремоделювання загальних сонних артерій у хворих на гіпертонічну хворобу з ожирінням	84
		Г.С.Тартинська. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук у насінні, траві та стручках стручкових талобану польового (<i>Thlaspi arvense</i> L.)	89
		А.Ю.Бутко. Дослідження впливу густих екстрактів рослин роду <i>Inula</i> на гематологічні показники крові шурів із трафаретними ранами	92
		Н.Т.Гулиева. Морфофункциональные особенности структурных изменений эпинеуральных микрососудов седалищных нервов белой крысы при экспериментальной эндотоксемии	95
		Г.О.Шлесенкова. Неврологічний статус та нервово-психічний розвиток дітей раннього віку, позбавлених батьківського піклування	99
		І.М.Подольський, С.Ю.Штриголь, І.С.Гриценко. Вплив перспективного антидепресанта з ноотропними властивостями 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону на фази пам'яті	104
ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ			
В.П.Пишак, М.И.Кривчанская, О.А.Громик. Никотинзависимый оксидативный стресс и роль мелатонина	17		
А.Ю.Щербаков, В.Ю.Щербаков, Е.А.Новикова, И.А.Тихая, Д.Н.Шаповал. Перинатальные осложнения у беременных с эндокринной патологией	20		
ЛЕКЦІЇ			
В.М.Совенко, Н.Н.Храновская, А.В.Ганул, В.Э.Орел, О.В.Скачкова. Перспективы применения иммунотерапевтических подходов в лечении больных раком легкого	24		
А.А.Рощупкин. Некоторые критерии фармакологической геропротекции	32		
Т.Г.Хмыз. Компрессионно-дистракционные методы лечения в травматологии и при реконструкции нижней челюсти	36		
ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ			
Р.Р.Шахмурадов, А.М.Сафаров. Лабораторная оценка эффективности применения фитопрепаратов в комплексном лечении осложненных съёмного протезирования	42		
А.М.Мамедов, Ф.Ю.Мамедов. Лечение заболеваний пародонта	48		

А.В.Гулиева. Определение линейных и объемных параметров сердца у доношенных новорожденных в неонатальном периоде при гипоксическом ишемическом поражении ЦНС	108	О.М.Березький, В.А.Дацко, Г.М.Мельник, Т.В.Дацко, Л.І.Косило, В.Д.Николюк. Створення гібридної інтелектуальної системи морфометричної діагностики для верифікації внутрішньопроктового раку молочної залози за цитологічного дослідження	162
Ю.М.Кобець. Аналіз фармацевтичного ринку України на прикладі препаратів-протастопротекторів	113	У.Г.Рустамли. Совместное применение антигемостатического лечения и лазерной терапии при непроходимости маточных труб	166
В.И.Корниенко, Б.А.Самура, Н.И.Романенко. Влияние бенфурама на функцию почек в условиях острого экспериментального нефрита	117	А.О.Волков. Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 в крови у родильниц после кесарева сечения при тотальной внутривенной анестезии	171
Н.М.Середюк, О.Р.Лучко. Терапевтична ефективність мельдонію дигідрату та канефрону Н у лікуванні хворих на артеріальну гіпертензію з хронічним пієлонефритом	122	С.Д.Ахмедова. Цитокиновый статус у больных с дерматомикозами	175
Р.Т.Гусейн-заде. Роль группы крови в формировании мочекаменной болезни на примере населения Гахского района	126	О.В.Макаренко, О.В.Кривов'яз, С.О.Кривов'яз. Аналіз структури супутньої патології у хворих на глаукому	179
Т.С.Коваленко, З.М.Третякевич. Стан серцево-судинної системи за даними холтеровського моніторингу у дітей раннього віку, хворих на гострий обструктивний бронхіт	130	І.П.Бухтіярова, С.М.Дроговоз, О.М.Іщенко. Вплив ралейкіну на показники глікозного гомеостазу щурів за умов порушеної толерантності до вуглеводів	183
О.І.Данилюк. Застосування L-аргініну з метою профілактики гепатоцелюлярної токсичності аміодарону у хворих з фібриляцією передсердь	134	Р.Р.Гоюшова. Роль перекисного окислення ліпидів в формуванні ендотеліальної дисфункції при діабетической нефропатии	187
Р.Дж.Керимова, Г.Ш.Гараев. Изменение некоторых показателей белкового обмена в условиях хронической интоксикации в зависимости от длительности ишемии печени	139	Л.Ю.Клименко, С.Н.Трут, Г.П.Петюнин, И.М.Иванчук. Модификация и валидация УФ-спектрофотометрической методики количественного определения доксиламина в крови: специфичность/селективность	191
О.Б.Тіщенко. Оцінка біохімічних зсувів у сироватці крові хворих на хронічний некалькульозний холецистит, коморбідний із цукровим діабетом 2 типу	145	А.Б.Рустамова. Гигантские язвы желудка, их оперативное и консервативное лечение	200
І.Р.Тимофійчук. Особливості стану проокисно-антиоксидантної системи в полях гіпокампу та вміст метаболітів оксиду азоту в плазмі крові щурів різних вікових груп	150	Н.Н.Шпаченко, Салем Абдаллах Аль Шобаки, С.Е.Золотухин, И.А.Данькина. Эффективность оперативного лечения переломов костей голени в зависимости от времени выполнения операций и тяжести состояния пострадавших с политравмой	204
Г.М.Байрамова. Частота встречаемости пороков сердца плода у беременных с сахарным диабетом при ультразвуковом исследовании	155	Р.В.Сабадош. Гострий варикотромбофлебіт нижніх кінцівок з поширенням тромботичного процесу через гирло великої підшкірної вени в глибoku венозну систему	210
Г.А.Мамедбейли, К.С.Акперов. Комбинированное лечение рака тела матки начальных стадий с применением видеохирургии	159	В.В.Шаповалов, І.К.Сосін, О.В.Шувера. Розробка соціально орієнтованої схеми фармакокорекції алкогольного абстинентного синдрому в структурі алкогольної залежності (F10.2)	215

Я.П.Лиса, О.Я.Беспалова. Дослідження процесу ліофілізації та шляхів його оптимізації	219
О.В.Бурцева. Кількісне визначення фенольних сполук <i>Avena sativa</i> L.	225
С.М.Запорожська. Дослідження смакових характеристик оромукозних пастилок	229

КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК	
А.К.Курбанов, Ф.Р.Гаджиева. Возможности сохранения репродуктивной функции у женщин с шеечной беременностью: случай инструментального удаления шеечной беременности при двойне, индуцированной в программе ЭКО	232

Модифікація і валідація УФ-спектрофотометричної методики количественного визначення доксиламіна в крові: специфічність/селективність

Л.Ю.Клименко, С.Н.Трут, Г.П.Петюнин, И.М.Иванчук

Национальный фармацевтический университет, Харьковская медицинская академия последипломного образования
Харьков, Украина

Робота посвящена апробації пропозитованих раніше авторами підходів до визначення специфічності/селективності в ході проведення валідації УФ-спектрофотометричних методик кількісного визначення в судібно-токсикологічному аналізі на прикладі кількісного визначення доксиламіна в крові. Для проведення валідації застосовували нормалізовані координати; аналітичний діапазон методики становив 25-175%. Результатом роботи стала розробка оптимального поетапного алгоритму підтвердження специфічності/селективності УФ-спектрофотометричних методик кількісного визначення аналітів в біологічних рідких середовищах.

Для характеристики воспроизводимости значений оптических плотностей предложено использовать относительное стандартное отклонение в процентах к определенному номинальному значению ($0,1$ либо $A_{blank}/0,32$) оптической плотности $s_{nom,r}$. Предложен критерий приемлемости воспроизводимости значений $A_{blank} - s_{nom,r}$ должно быть незначимо по сравнению с $\max \Delta_{As}$. Оптимальное количество blank-проб для получения надежного среднего значения A_{blank} составляет 5.

УФ-спектрофотометрическая методика количественного определения доксиламина в крови без предварительной ТСХ-очистки за счет влияния компонентов blank-пробы отягощена значимой систематической ошибкой; для методики с предварительной ТСХ-очисткой δ_{blank} незначима по сравнению с $\max \Delta_{As}$. При этом для обоих случаев $\delta_{procedure}$ является незначимой по сравнению с δ_{blank} , что свидетельствует об адекватности предложенной процедуры пробоподготовки.

Ключевые слова: валідація, специфічність, УФ-спектрофотометрія, доксиламін, біоаналітичні методики.

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущих работах нами были проанализированы [5] описанные в международных руководящих и рекомендательных документах подходы к определению специфичности/селективности при проведении валідації методик для судібно-токсикологічного аналізу, сформулированы [6] теоретические подходы к определению специфичности/селективности при проведении валідації УФ-спектрофотометрических методик количественного определения аналітів в біологічних рідких середовищах, предложены и обоснованы [6] критерии приемлемости для данного валідаційного параметра.

Целью данной работы является модифікація описанной [4] УФ-спектрофотометрической методики количественного определения доксиламина в крови, апробація пропозитованных [6] подходов к определению специфичности/селективности на примере данной методики и формирование на основании полученных результатов поетапного алгоритму підтвердження специфічності/селективності УФ-спектрофотометрических методик количественного определения в судібно-токсикологічному аналізі.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Валідуєму методика: 20,00 мл крові заливають 10,00 мл 10% водного розчину кислоти трихлоруксусної, перемішують і заливають на 1 год при постійному перемішуванні. Смісь центрифугують (в теченні 5 хв. при 5000 об./хв.), сливають надосадочну рідину, доводять її об'єм до 30 мл водою очищеною, перевіряють рН (повинно рівнятися 2) і тричі екстракують хлороформом порціями по 10,00 мл.

Полученные хлороформные извлечения отделяют и в дальнейшем не исследуют. Водный слой подщелачивают 50% раствором натрия гидроксида до $pH=11$ и трижды экстрагируют хлороформом порциями по 10,00 мл (при образовании стойких эмульсий применяют центрифугирование (в течение 5 мин. при 5000 об./мин.). «Щелочные» хлороформные извлечения объединяют и фильтруют через бумажный фильтр («красная лента») с 1 г натрия сульфата безводного в мерную колбу емкостью 50,0 мл, доводят объем хлороформом до метки. Далее проводят исследование в двух вариантах:

1) 2/5 части полученного хлороформного извлечения (20,00 мл) упаривают на водяной бане при температуре $80^{\circ}C$ до полного удаления органического слоя. Сухой остаток растворяют в 10,00 мл ($\times 0,5$ по отношению к взятому на анализ объему крови) 0,1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной.

2) 2/5 части полученного хлороформного извлечения (20,00 мл) упаривают на водяной бане при температуре $80^{\circ}C$ до полного удаления органического слоя; сухой остаток растворяют в $\sim 0,5$ мл хлороформа и количественно наносят на линию старта хроматографической пластины «Sorbfil» ПТСХ-ПВ (пластины предварительно обрабатывают 0,1 моль/л раствором калия гидроксида в метаноле, а затем высушивают при $110^{\circ}C$ в течение 30 мин.) полосой шириной 2 см. Рядом наносят 10 мкл стандартного хлороформного раствора доксиламина сукцината (концентрация 1 мг/мл) в точку («свидетель»). Пластины дважды элюируют в хлороформе. После высушивания пластину элюируют с использованием подвижной фазы хлороформ — метанол (90:10), высушивают, проявляют полосу «свидетеля» реактивом Драгендорфа и наблюдают пятно коричневого цвета в зоне $R_f=0,5-0,7$. С помощью скальпеля напротив пятна «свидетеля» с пластины тщательно образом снимают сорбент с площади $3\text{ см} \times 1\text{ см}$ в стеклянный флакон. Во флакон добавляют 10,00 мл 0,1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и встряхивают в течение 5 мин., после чего фильтруют в мерную колбу емкостью 10,0 мл ($\times 0,5$ по отношению к взятому на анализ объему крови) и доводят объем раствора через фильтр («красная лента») растворителем до метки.

Рабочие растворы: 400,0 мг доксиламина сукцината вносили в мерную колбу емкостью 100,0 мл, растворяли в воде очищенной и довели объем раствора этим же растворителем до метки (стандартный раствор 1, концентрация 4000 мкг/мл). В три мерные колбы емкостью

100,0 мл вносили из бюретки 32,50; 10,00 и 5,00 мл стандартного раствора доксиламина сукцината 1 соответственно и довели объемы растворов водой очищенной до метки (рабочие растворы 1, 2 и 3 соответственно, концентрация 1300, 400 и 200 мкг/мл соответственно).

Растворы сравнения: 100,0 мг доксиламина сукцината вносили в мерную колбу емкостью 500,0 мл, растворяли в 0,1 моль/л растворе кислоты хлористоводородной и довели объем раствора этим же растворителем до метки (стандартный раствор 2, концентрация 200 мкг/мл). В три мерные колбы емкостью 100,0 мл вносили из бюретки 26,00; 8,00 и 4,00 мл стандартного раствора доксиламина сукцината 2 соответственно и довели объемы растворов 0,1 моль/л раствором кислоты хлористоводородной до метки (растворы сравнения 1, 2 и 3 соответственно, концентрация 52, 16 и 8 мкг/мл соответственно).

Анализируемые образцы: 1-3) 3 серии по 3 образца (20,00 мл) модельной крови (матрица), полученной от различных источников, в которые введено по 1,00 мл рабочих растворов 1-3 соответственно; 4) 10 образцов (20,00 мл) модельной крови, полученной от различных источников, в которые введено по 1,00 мл воды очищенной (blank-пробы); 5-7) 3 серии по 3 образца (20,00 мл) воды очищенной, в которые введено по 1,00 мл рабочих растворов 1-3 соответственно; 8) 10 образцов (20,00 мл) воды очищенной.

Анализируемые растворы: полученные по приведенной методике растворы для анализируемых образцов. Образцы 1-8 анализировали по первому варианту методики, образцы 2-4 и 8 анализировали по второму варианту методики.

Измеряли оптическую плотность анализируемых растворов 1-3 и 5-7 по 3 раза с выниманием кюветы при длине волны 262 нм на спектрофотометре СФ-46 в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве компенсационного раствора использовали 0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной.

Для анализируемых растворов 4 и 8 снимали УФ-спектры поглощения на спектрофотометре СФ-46 в диапазоне длин волн 220-350 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве компенсационного раствора использовали 0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной.

Растворы сравнения, анализируемые растворы 5-7 и 0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной анализировали методом ВЭЖХ на хроматографе «Милихром А-02» (ЗАО «Эко-Нова», Новосибирск); условия хроматографирования [7]: колонка $\varnothing 2 \times 75$ мм; обращенная фаза ProntoSIL-120-5-C18-AQ («Bischoff Analysentechnik und Geräte GmbH», Герма-

ния); эффективность не менее 5000 теоретических тарелок; элюент А — [4 моль/л LiClO₄ — 0,1 моль/л HClO₄] — H₂O (5:95); элюент Б — ацетонитрил «для ВЭЖХ»; элюирование — линейный градиент от 5% до 100% ацетонитрила за 40 мин., потом 100% ацетонитрил в течение 3 мин.; скорость потока — 100 мкл/мин.; температура колонки — 40°С; детектор — УФ-спектрофотометр (λ=262 нм).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее [4] была разработана методика изолирования доксиламина из крови с использованием в качестве осадителя белков и форменных элементов 10% водного раствора кислоты трихлоруксусной. В представленной работе данная методика модифицирована нами путем увеличения объемов крови и используемых реагентов, а также замены диэтилового эфира на хлороформ.

Для проведения валидации УФ-спектрофотометрической методики количественного определения доксиламина в крови применяли нормализованные координаты [1, 6]; аналитический диапазон методики составляет 25-175% [6]; за 100% принимали летальную концентрацию доксиламина в крови [8] — 25 мг/л (что соответствует 36 мг/л доксиламина сукцината).

На основании предложенных в работе [6] подходов нами сформирован поэтапный алгоритм выполнения эксперимента для определения специфичности/селективности УФ-спектрофотометрической методики количественного определения доксиламина в крови. Его основные этапы приведены на схемах 1, 2 и проиллюстрированы полученными экспериментальными данными.

На приведенных схемах 1 и 2 жирным шрифтом выделены измерения и расчеты, рекомендуемые нами в дальнейшем к обязательному выполнению при проведении валидации УФ-спектрофотометрических методик количественного определения аналитов в биологических жидкостях, все остальные измерения и расчеты носят вспомогательный характер и выполнены с целью формирования оптимальной схемы выполнения эксперимента по проверке специфичности/селективности.

Чтобы охарактеризовать воспроизводимость значений оптических плотностей, полученных в ходе выполнения эксперимента, на схемах 1 и 2 указаны относительные стандартные отклонения в процентах к номинальному значению оптической плотности $s_{nom,r}$. В качестве номинального значения использована мини-

мально допустимая оптическая плотность A_{min} , для определения которой исходили из таких условий: с одной стороны, оптическая плотность blank-пробы должна быть незначима по сравнению со значением оптической плотности анализируемого раствора в точке ~25%, в соответствии с [2]:

$$A_{blank} \leq 0,32 \cdot A_{sample(\sim 25\%)}$$

отсюда:

$$A_{sample(\sim 25\%)} \geq A_{blank} / 0,32,$$

$$A_{nom} = A_{min} = A_{blank} / 0,32;$$

с другой стороны, для определения A_{min} необходимо учитывать наличие кюветной разницы A_{dif} [3], вносящей систематическую погрешность δ_{dif} , которая должна быть незначима по сравнению с максимально допустимой систематической погрешностью, в соответствии с [2]:

$$\begin{aligned} \delta_{dif} &\leq 0,32 \cdot \max \delta = 0,32 \cdot 0,32 \cdot \max \Delta_{As} = \\ &= 0,1 \cdot \max \Delta_{As} = 0,1 \cdot 20 = 2,0\%; \end{aligned}$$

$$A_{dif} / A_{min} \leq \delta_{dif}$$

Так как в соответствии с [3] $A_{dif} \leq 0,002$, то $0,02 \cdot A_{min} \geq 0,002$, следовательно $A_{min} \geq 0,1$.

Таким образом, для расчета $s_{nom,r}$ использовали либо $A_{nom} = 0,1$ (для случаев, когда $A_{blank} / 0,32 \leq 0,1$), либо $A_{nom} = A_{blank} / 0,32$ (для случаев, когда $A_{blank} / 0,32 > 0,1$).

Для оценки приемлемости воспроизводимости значений A_{blank} предложен следующий критерий — $s_{nom,r}$ должно быть незначимо по сравнению с максимально допустимой неопределенностью анализа Δ_{As} , в соответствии с [2]:

$$s_{nom,r} \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As}$$

вклад ошибки определения среднего значения A_{blank} в суммарную неопределенность анализа должен быть незначим.

Согласно полученным результатам УФ-спектрофотометрическая методика количественного определения доксиламина в крови без предварительной ТСХ-очистки за счет влияния компонентов blank-пробы отягощена значимой систематической ошибкой, которая превышает не только величину $\max \delta$, но и максимально допустимую неопределенность анализа Δ_{As} , поэтому данную методику анализа можно использовать лишь при условии корректировки значений оптических плотностей анализируемых растворов A_{sample} на среднее значение A_{blank} ранее полученное для образцов донорской или трупной крови. При этом $\delta_{procedure}$ является незначимой по сравнению с δ_{blank} , что свидетельствует об адекватности предложенной процедуры пробоподготовки.

**Алгоритм выполнения эксперимента по проверке специфичности/селективности
для УФ-спектрофотометрических методик количественного определения аналитов
в биологических жидкостях без предварительной ТСХ-очистки**

Стадия 1. Оценка δ_{blank} — систематической ошибки, вносимой компонентами blank-пробы в определение анализируемого вещества	
1	<p>Измерение оптической плотности анализируемых растворов 4</p> <p>$A_{262\text{ нм}}$: 0,051; 0,077; 0,064; 0,045; 0,062; 0,063; 0,058; 0,047; 0,071; 0,059</p> <p>A_{blank} = 0,064 ($n=3$; $s_{nom,r}$ = 6,93%) A_{blank} = 0,060* ($n=5$; $s_{nom,r}$ = 6,61%) A_{blank} = 0,060 ($n=7$; $s_{nom,r}$ = 5,46%) A_{blank} = 0,060 ($n=10$; $s_{nom,r}$ = 5,39%) *использовано для расчетов</p> <p>A_{max}: 0,058; 0,077; 0,064; 0,052; 0,062; 0,063; 0,063; 0,054; 0,071; 0,063</p> <p>$A_{blank\ max}$ = 0,066 ($n=3$; $s_{nom,r}$ = 5,18%) $A_{blank\ max}$ = 0,063* ($n=5$; $s_{nom,r}$ = 4,94%) $A_{blank\ max}$ = 0,063 ($n=7$; $s_{nom,r}$ = 4,03%) $A_{blank\ max}$ = 0,063 ($n=10$; $s_{nom,r}$ = 3,93%) *использовано для расчетов</p>
2	<p>Измерение оптической плотности анализируемых растворов 1-3</p> <p>$A_{262\text{ нм}}$: 0,222; 0,195; 0,205</p> <p>$A_{sample(-25\%)}$ = 0,207 ($s_{nom,r}$ = 7,28%)</p> <p>$A_{262\text{ нм}}$: 0,368; 0,347; 0,352</p> <p>$A_{sample(-50\%)}$ = 0,356 ($s_{nom,r}$ = 5,85%)</p> <p>$A_{262\text{ нм}}$: 1,021; 1,008; 1,015</p> <p>$A_{sample(-175\%)}$ = 1,015 ($s_{nom,r}$ = 3,65%)</p>
3	<p>$\delta_{blank} = \frac{A_{blank}}{A_{sample}} \cdot 100\% \leq$ $\leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As} = \max \delta$ [6]</p> <p>$\delta_{blank(-25\%)}$ = 28,84% > 0,32*25% [6] = 8% $\delta_{blank\ max(-25\%)}$ = 30,19% > 0,32*25% = 8% $\delta_{blank(-50\%)}$ = 16,81% > 0,32*20% [6] = 6,4% $\delta_{blank\ max(-50\%)}$ = 17,60% > 0,32*20% = 6,4% $\delta_{blank(-175\%)}$ = 5,89% < 0,32*20% = 6,4% $\delta_{blank\ max(-175\%)}$ = 6,17% < 0,32*20% = 6,4%</p>
Вывод: δ_{blank} превышает максимально допустимую систематическую погрешность δ необходимо оценить $\delta_{procedure}$ [6]	
Стадия 2. Оценка $\delta_{procedure}$ — систематической ошибки, вносимой процедурой пробоподготовки в определение анализируемого вещества	
1	<p>Измерение оптической плотности анализируемых растворов 8</p> <p>$A_{262\text{ нм}}$: 0,018; 0,020; 0,019; 0,018; 0,019; 0,017; 0,020; 0,019; 0,019; 0,018</p> <p>$A_{procedure}$ = 0,019 ($n=3$; $s_{nom,r}$ = 0,53%) $A_{procedure}$ = 0,019 ($n=5$; $s_{nom,r}$ = 0,45%) $A_{procedure}$ = 0,019 ($n=7$; $s_{nom,r}$ = 0,59%) $A_{procedure}$ = 0,019 ($n=10$; $s_{nom,r}$ = 0,51%)</p> <p>A_{max}: 0,019; 0,021; 0,019; 0,020; 0,020; 0,021; 0,020; 0,021; 0,019; 0,019</p> <p>$A_{procedure\ max}$ = 0,020 ($n=3$; $s_{nom,r}$ = 0,62%) $A_{procedure\ max}$ = 0,020 ($n=5$; $s_{nom,r}$ = 0,45%) $A_{procedure\ max}$ = 0,020 ($n=7$; $s_{nom,r}$ = 0,44%) $A_{procedure\ max}$ = 0,020 ($n=10$; $s_{nom,r}$ = 0,47%)</p>
2	<p>$\delta_{procedure} = \frac{A_{procedure}}{A_{sample}} \cdot 100\% \leq$ $\leq 0,32 \cdot \delta_{blank}$ [6]</p> <p>$\delta_{procedure(-25\%)}$ = 9,16% < 0,32*28,84% $\delta_{procedure\ max(-25\%)}$ = 9,49% < 0,32*30,19% $\delta_{procedure(-50\%)}$ = 5,34% < 0,32*16,81% $\delta_{procedure\ max(-50\%)}$ = 5,53% < 0,32*17,60% $\delta_{procedure(-175\%)}$ = 1,87% < 0,32*5,89% $\delta_{procedure\ max(-175\%)}$ = 1,94% < 0,32*6,17%</p>
Вывод: $\delta_{procedure}$ незначима по сравнению с δ_{blank} необходимо корректировать значения A_{sample} на среднее значение A_{blank}	
Стадия 3. Оценка $\delta_{storage}$ — систематической ошибки, вносимой продуктами разложения целевого аналита, образующимися в процессе хранения, в определение анализируемого вещества	
1	<p>Анализ растворителя (0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной) методом ВЭЖХ</p> <p>$S_{Solvent}$ = 0,000069</p>
2	<p>Анализ растворов сравнения методом ВЭЖХ</p> <p>$S_{\Sigma reference(-25\%)}$ = 0,001381 $S_{\Sigma reference(-50\%)}$ = 0,002692 $S_{\Sigma reference(-175\%)}$ = 0,008599</p> <p>$S_{\Sigma analyte(-25\%)}$ = 0,001303 $S_{\Sigma analyte(-50\%)}$ = 0,002605 $S_{\Sigma analyte(-175\%)}$ = 0,008470</p>

3	$\delta_{\text{storage/analyte}} = \frac{S_{\text{reference}} - S_{\text{solvent}} - S_{\text{analyte}}}{S_{\text{reference}} - S_{\text{solvent}}} \cdot 100\%$	$\delta_{\text{storage/analyte}(-25\%)} = 0,69\%$ $\delta_{\text{storage/analyte}(-50\%)} = 0,69\%$ $\delta_{\text{storage/analyte}(-175\%)} = 0,70\%*$ *использовано для расчетов
4	$\delta_{\text{storage}} = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) \cdot \delta_{\text{storage/analyte}}}{A_{\text{sample}}}$	$\delta_{\text{storage}(-25\%)} = 0,50\%$ $\delta_{\text{storage max}(-25\%)} = 0,49\%$ $\delta_{\text{storage}(-50\%)} = 0,58\%$ $\delta_{\text{storage max}(-50\%)} = 0,58\%$ $\delta_{\text{storage}(-175\%)} = 0,66\%$ $\delta_{\text{storage max}(-175\%)} = 0,66\%$

Вывод: вклад продуктов разложения целевого аналита, образующихся в процессе хранения, в оптическую плотность аналита $\delta_{\text{storage/analyte}}$ не зависит от концентрации аналита в растворе; δ_{storage} стремится к $\delta_{\text{storage/analyte}}$ с увеличением концентрации аналита в растворе

Стадия 4. Оценка $\delta_{\text{degradation}}$ — систематической ошибки, вносимой продуктами разложения целевого аналита, образующимися в процессе пробоподготовки, в определение анализируемого вещества

1 Измерение оптической плотности анализируемых растворов 5-7		
	$A_{262 \text{ нм}}$: 0,220; 0,227; 0,225	$A_{\text{sample procedure}(-25\%)} = 0,224$ ($s_{\text{ном.г}} = 1,92\%$)
	$A_{262 \text{ нм}}$: 0,427; 0,431; 0,424	$A_{\text{sample procedure}(-50\%)} = 0,427$ ($s_{\text{ном.г}} = 1,87\%$)
	$A_{262 \text{ нм}}$: 1,326; 1,328; 1,334	$A_{\text{sample procedure}(-175\%)} = 1,330$ ($s_{\text{ном.г}} = 2,29\%$)
2	$\delta_{\text{procedure/sample procedure}} = \frac{A_{\text{procedure}}}{A_{\text{sample procedure}}} \cdot 100\%$	$\delta_{\text{procedure/sample procedure}(-25\%)} = 8,48\%$ $\delta_{\text{procedure/sample procedure max}(-25\%)} = 8,78\%$ $\delta_{\text{procedure/sample procedure}(-50\%)} = 4,45\%$ $\delta_{\text{procedure/sample procedure max}(-50\%)} = 4,60\%$ $\delta_{\text{procedure/sample procedure}(-175\%)} = 1,43\%$ $\delta_{\text{procedure/sample procedure max}(-175\%)} = 1,48\%$
3 Исследование анализируемых растворов 5 – 7 методом ВЭЖХ		
	$S_{\text{sample procedure}(-25\%)} = 0,001439$	$S_{\text{analyte}(-25\%)} = 0,001187$
	$S_{\text{sample procedure}(-50\%)} = 0,002717$	$S_{\text{analyte}(-50\%)} = 0,002396$
	$S_{\text{sample procedure}(-175\%)} = 0,008418$	$S_{\text{analyte}(-175\%)} = 0,007793$
4	$\delta_{\text{storage/sample procedure}} = \frac{S_{\text{analyte}} \cdot \delta_{\text{storage/analyte}}}{S_{\text{sample procedure}} - S_{\text{solvent}}}$	$\delta_{\text{storage/sample procedure}(-25\%)} = 0,61\%$ $\delta_{\text{storage/sample procedure}(-50\%)} = 0,64\%$ $\delta_{\text{storage/sample procedure}(-175\%)} = 0,66\%$
5	$\delta_{\text{noise/sample procedure}} = \delta_{\text{procedure/sample procedure}} + \delta_{\text{storage/sample procedure}} + \delta_{\text{degradation/sample procedure}} = \frac{S_{\text{sample procedure}} - S_{\text{solvent}} - S_{\text{analyte}}}{S_{\text{sample procedure}} - S_{\text{solvent}}} \cdot 100\%$	
	$\delta_{\text{noise/sample procedure}(-25\%)} = 13,36\%$ $\delta_{\text{noise/sample procedure}(-50\%)} = 9,52\%$ $\delta_{\text{noise/sample procedure}(-175\%)} = 6,66\%$	$\delta_{\text{degradation/sample procedure}(-25\%)} = 4,27\%$ $\delta_{\text{degradation/sample procedure max}(-25\%)} = 3,97\%$ $\delta_{\text{degradation/sample procedure}(-50\%)} = 4,43\%$ $\delta_{\text{degradation/sample procedure max}(-50\%)} = 4,28\%$ $\delta_{\text{degradation/sample procedure}(-175\%)} = 4,57\%$ $\delta_{\text{degradation/sample procedure max}(-175\%)} = 4,52\%$
6	$\delta_{\text{degradation/analyte}} = \frac{A_{\text{sample procedure}} \cdot \delta_{\text{degradation/sample procedure}}}{A_{\text{sample procedure}} - A_{\text{procedure}}}$	$\delta_{\text{degradation/analyte}(-25\%)} = 4,66\%$ $\delta_{\text{degradation/analyte max}(-25\%)} = 4,35\%$ $\delta_{\text{degradation/analyte}(-50\%)} = 4,64\%$ $\delta_{\text{degradation/analyte max}(-50\%)} = 4,48\%$ $\delta_{\text{degradation/analyte}(-175\%)} = 4,64\%$ $\delta_{\text{degradation/analyte max}(-175\%)} = 4,59\%$
7	$\delta_{\text{degradation}} = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) \cdot \delta_{\text{degradation/analyte}}}{A_{\text{sample}}}$	$\delta_{\text{degradation}(-25\%)} = 3,32\%$ $\delta_{\text{degradation max}(-25\%)} = 3,04\%$ $\delta_{\text{degradation}(-50\%)} = 3,86\%$ $\delta_{\text{degradation max}(-50\%)} = 3,70\%$ $\delta_{\text{degradation}(-175\%)} = 4,37\%$ $\delta_{\text{degradation max}(-175\%)} = 4,31\%$

Вывод: вклад продуктов разложения целевого аналита, образующихся в процессе пробоподготовки, в оптическую плотность аналита $\delta_{\text{degradation/analyte}}$ не зависит от концентрации аналита в растворе; $\delta_{\text{degradation}}$ стремится к $\delta_{\text{degradation/analyte}}$ с увеличением концентрации аналита в растворе

Стадія 5. Оцінка $\delta_{\text{impurities}}$ — систематическої помилки, вносимої продуктами розкладання целевого аналіта в визначення аналізованого речовини		
1	$\delta_{\text{impurities/analyte}} = \delta_{\text{storage/analyte}} + \delta_{\text{degradation/analyte}} \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As} = \max \delta$	$\delta_{\text{impurities/analyte}(-25\%)} = 5,35\% < 0,32 * 25\% = 8\%$ $\delta_{\text{impurities/analyte max}(-25\%)} = 5,04\% < 0,32 * 25\% = 8\%$ $\delta_{\text{impurities/analyte}(-50\%)} = 5,33\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$ $\delta_{\text{impurities/analyte max}(-50\%)} = 5,17\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$ $\delta_{\text{impurities/analyte}(-175\%)} = 5,34\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$ $\delta_{\text{impurities/analyte max}(-175\%)} = 5,30\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$
2	$\delta_{\text{impurities}} = \delta_{\text{storage}} + \delta_{\text{degradation}} \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As} = \max \delta [6]$	$\delta_{\text{impurities}(-25\%)} = 3,82\% < 0,32 * 25\% = 8\%$ $\delta_{\text{impurities max}(-25\%)} = 3,53\% < 0,32 * 25\% = 8\%$ $\delta_{\text{impurities}(-50\%)} = 4,44\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$ $\delta_{\text{impurities max}(-50\%)} = 4,27\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$ $\delta_{\text{impurities}(-175\%)} = 5,03\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$ $\delta_{\text{impurities max}(-175\%)} = 4,97\% < 0,32 * 20\% = 6,4\%$
Висновок: вклад продуктів розкладання целевого аналіта в оптичну щільність аналіта $\delta_{\text{impurities/analyte}}$ не залежить від концентрації аналіта в розчині; $\delta_{\text{impurities}}$ намагається к $\delta_{\text{impurities/analyte}}$ з збільшенням концентрації аналіта в розчині; $\delta_{\text{impurities}}$ не перевищує $\max \delta$		
Висновок: методика відповідає вимогам по параметру «специфічність/селективність»		

Использованная для количественного определения доксиламина в крови процедура пробоподготовки является одной из общепринятых в судебно-токсикологическом анализе, а A_{min} задается исходя из полученного значения A_{blank} (от 0,1 и выше), поэтому сформулированные выше выводы относительно влияния компонентов blank-пробы могут быть распространены на всю совокупность УФ-спектрофотометрических методик количественного определения аналитов в крови с использованием данной процедуры пробоподготовки.

С целью определения количества blank-проб для получения надежного среднего значения A_{blank} анализировали 10 образцов крови, полученных от различных источников, и последовательно усредняли полученные 3, 5, 7 и 10 значений A_{blank} , не ранжируя их. Полученные данные свидетельствуют о том, что оптимальным является проведение анализа 5 blank-проб — дальнейшее увеличение их количества не приводит ни к изменению среднего значения A_{blank} , ни к значимому улучшению воспроизводимости полученных результатов.

С другой стороны, с учетом полученных данных о воспроизводимости A_{blank} для корректировки значений оптических плотностей анализируемых растворов можно накапливать значения A_{blank} в лаборатории (за счет образцов, поступивших на анализ и не содержащих веществ экзогенной природы), динамически усреднять их и использовать при последующей валидации новых методик и в работе с анализируемыми образцами.

Для «холостых» и blank-проб (анализируемые образцы 8 и 4 соответственно) на схемах указаны значения оптических плотностей, полученные при аналитической длине волны ($\lambda=262$ нм), и максимальные зафиксированные значения в диапазоне длин волн 220-350 нм. Средние значения величин $A_{\text{procedure}}$ и $A_{\text{procedure max}}$ (0,019 и 0,020), A_{blank} и $A_{\text{blank max}}$ (0,060 и 0,063) незначительно отличаются друг от друга, поэтому можно предложить лабораториям два альтернативных варианта — накапливать и усреднять значения A_{blank} по длинам волн (сохраняя их в виде оцифрованных УФ-спектров blank-проб) либо фиксировать и использовать в дальнейшей работе только максимальные значения $A_{\text{blank max}}$.

Полученные данные о величинах $\delta_{\text{degradation}}$ и δ_{storage} свидетельствуют, что систематическая погрешность, вносимая продуктами распада доксиламина, не превышает максимально допустимую систематическую погрешность. Количество продуктов разложения прямо пропорционально количеству доксиламина в пробе, т.е. вклад продуктов разложения в оптическую плотность аналита $\delta_{\text{impurities/analyte}}$ не зависит от концентрации аналита в растворе. В подобных случаях вклад продуктов разложения в оптическую плотность анализируемого образца $\delta_{\text{impurities}}$ минимален вблизи нижней точки аналитического диапазона методики и с ростом концентрации аналита стремится к $\delta_{\text{impurities/analyte}}$, поэтому систематическую погрешность, вносимую продуктами распада аналита, можно оценивать по величине $\delta_{\text{impurities/analyte}}$, не определяя $\delta_{\text{impurities}}$, что позволяет сократить объем выполняемых расчетов.

Алгоритм выполнения эксперимента по проверке специфичности/селективности для УФ-спектрофотометрических методик количественного определения аналитов в биологических жидкостях с предварительной ТСХ-очисткой

<i>Стадия 1. Оценка δ_{blank}</i>		
1	Измерение оптической плотности анализируемых растворов 4	
	$A_{262\text{ нм}}$: 0,010; 0,010; 0,011; 0,012; 0,010; 0,012; 0,011; 0,010; 0,011; 0,011	$A_{blank} = 0,010$ ($n=3; s_{nom,r} = 0,58\%$) $A_{blank} = 0,011^*$ ($n=5; s_{nom,r} = 0,89\%$) $A_{blank} = 0,011$ ($n=7; s_{nom,r} = 0,90\%$) $A_{blank} = 0,011$ ($n=10; s_{nom,r} = 0,79\%$) *использовано для расчетов
	A_{max} : 0,012; 0,011; 0,011; 0,012; 0,010; 0,013; 0,011; 0,011; 0,011; 0,011	$A_{blank\ max} = 0,011$ ($n=3; s_{nom,r} = 0,58\%$) $A_{blank\ max} = 0,011$ ($n=5; s_{nom,r} = 0,84\%$) $A_{blank\ max} = 0,011$ ($n=7; s_{nom,r} = 0,98\%$) $A_{blank\ max} = 0,011$ ($n=10; s_{nom,r} = 0,82\%$)
2	Измерение оптической плотности анализируемых растворов 2 и 3	
	$A_{262\text{ нм}}$: 0,159; 0,147; 0,151	$A_{sample(-25\%)} = 0,152$ ($s_{nom,r} = 6,08\%$)
	$A_{262\text{ нм}}$: 0,297; 0,295; 0,287	$A_{sample(-50\%)} = 0,293$ ($s_{nom,r} = 5,18\%$)
3	$\delta_{blank} = \frac{A_{blank}}{A_{sample}} \cdot 100\% \leq 0,32 \max \Delta_{As} = \max \delta$ [6]	$\delta_{blank(-25\%)} = 6,97\% < 0,32 \cdot 25\% = 8\%$ $\delta_{blank\ max(-25\%)} = 7,36\% < 0,32 \cdot 25\% = 8\%$ $\delta_{blank(-50\%)} = 3,62\% < 0,32 \cdot 20\% = 6,4\%$ $\delta_{blank\ max(-50\%)} = 3,82\% < 0,32 \cdot 20\% = 6,4\%$
Вывод: δ_{blank} не превышает $\max \delta$		
<i>Стадия 2. Оценка $\delta_{procedure}$</i>		
1	Измерение оптической плотности анализируемых растворов 8	
	$A_{262\text{ нм}}$: 0,003; 0,002; 0,002 ; 0,002; 0,003; 0,003; 0,002; 0,002; 0,002; 0,003	$A_{procedure} = 0,002$ ($n=3; s_{nom,r} = 0,58\%$) $A_{procedure} = 0,002$ ($n=5; s_{nom,r} = 0,55\%$) $A_{procedure} = 0,002$ ($n=7; s_{nom,r} = 0,53\%$) $A_{procedure} = 0,002$ ($n=10; s_{nom,r} = 0,52\%$)
	A_{max} : 0,003; 0,003; 0,002 ; 0,003; 0,004; 0,004; 0,002; 0,003; 0,003; 0,003	$A_{procedure\ max} = 0,003$ ($n=3; s_{nom,r} = 0,58\%$) $A_{procedure\ max} = 0,003$ ($n=5; s_{nom,r} = 0,71\%$) $A_{procedure\ max} = 0,003$ ($n=7; s_{nom,r} = 0,82\%$) $A_{procedure\ max} = 0,003$ ($n=10; s_{nom,r} = 0,67\%$)
2	$\delta_{procedure} = \frac{A_{procedure}}{A_{sample}} \cdot 100\% \leq 0,32 \cdot \delta_{blank}$ [6]	$\delta_{procedure(-25\%)} = 1,53\% < 0,32 \cdot 6,82\%$ $\delta_{procedure\ max(-25\%)} = 1,75\% < 0,32 \cdot 7,21\%$ $\delta_{procedure(-50\%)} = 0,80\% < 0,32 \cdot 3,69\%$ $\delta_{procedure\ max(-50\%)} = 0,91\% < 0,32 \cdot 3,90\%$
Вывод: $\delta_{procedure}$ незначима по сравнению с δ_{blank}		
Заключение: методика соответствует требованиям по параметру «специфичность/селективность»		

Для УФ-спектрофотометрической методики количественного определения доксиламина в крови с предварительной ТСХ-очисткой δ_{blank} незначима по сравнению с максимальной неопределенностью анализа; $\delta_{procedure}$, в свою очередь, незначима по сравнению с δ_{blank} , что свидетельствует о корректности условий проведения ТСХ-очистки и предложенной процедуры пробоподготовки.

Таким образом, грамотно подобранные условия проведения ТСХ-очистки позво-

ляют свести к минимуму систематическую ошибку, вносимую компонентами blank-пробы, сделать ее незначимой по сравнению с Δ_{As} , что дает определенные преимущества использованию УФ-спектрофотометрических методик с предварительной ТСХ-очисткой. Тем не менее УФ-спектрофотометрические методики без предварительной ТСХ-очистки не теряют своей значимости за счет относительной простоты выполнения процедуры анализа.

ВЫВОДЫ

Нами модифіцирована УФ-спектрофотометрическая методика количественного определения доксиламина в крови путем замены на стадии пробоподготовки диэтилового эфира на хлороформ, проведено определение ее специфичности/селективности с использованием предложенных ранее подходов и на основании полученных результатов разработан оптимальный поэтапный алгоритм подтверждения специфичности/селективности УФ-спектрофотометрических методик количественного определения для судебно-токсикологического анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И.Гризодуб // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. В 3 т. Т. 3 / Под ред. чл.-кор. НАН Украины В.П.Георгиевского. — Харьков: НТМТ, 2011. — 520 с.
2. Гризодуб А.И. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ / А.И.Гризодуб, Д.А.Леонтьев, М.Г.Левин // Физиологично активні речовини. — 2001. — №1 (31). — С. 32-44.
3. Гризодуб А.И. Применение спектрофотометрии в видимой и УФ-областях спектра в контроле качества лекарственных средств / А.И.Гризодуб // Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. В 3 т. Т. 1 / Под ред. чл.-кор. НАН Украины В.П.Георгиевского. — Харьков: НТМТ, 2011. — 464 с.
4. Дослідження ізолювання донормілу із крові / І.М.Іванчук, В.В.Бологов, Л.Ю.Клименко, О.В.Гуменюк // Актуал. пробл. транспорт. медицини: навколиш. середовище; проф. здоров'я; патологія. — 2010. — №3 (21), дод. — С. 67-70.
5. Клименко Л.Ю. Анализ подходов к определению специфичности/селективности при проведении валидации аналитических методик в судебно-токсикологическом анализе / Л.Ю.Клименко, Г.П.Петюнин // Укр. мед. альманах. — 2013. — Т. 16, №1. — С. 47-49.
6. Клименко Л.Ю. Подходы к определению специфичности/селективности при валидации УФ-спектрофотометрических методик количественного определения в судебно-токсикологическом анализе / Л.Ю.Клименко, Г.П.Петюнин, Т.А.Костина // Фармация Казахстана. — 2013. — №8. — С. 53-56.
7. Перспективы применения высокоэффективной жидкостной хроматографии в скрининговом анализе / Г.И.Барам, В.В.Бологов, Б.Н.Изотов и соавт. // Журнал хроматографічного товариства. — 2004. — Т. 4, №1. — С. 11-20.
8. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4th ed. / Edit. by A.C.Moffat, M.D.Osselton, B.Widdop. — London: The Pharm. Press, 2011. — 2609 p.

Л.Ю.Клименко, С.М.Трут, Г.П.Петюнин, І.М.Іванчук. Модифікація і валидація УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення доксиламіну в крові: специфічність/селективність. Харків, Україна.

Ключові слова: валидація, специфічність, УФ-спектрофотометрія, доксиламін, біоаналітичні методики.

Роботу присвячено апробації запропонованих раніше авторами підходів до визначення специфичності/селективності під час проведення валидації УФ-спектрофотометричних методик кількісного визначення в судово-токсикологічному аналізі на прикладі кількісного визначення доксиламіну в крові. Для проведення валидації застосовували нормалізовані координати; аналітичний діапазон методики складав 25-175%. Результатом роботи стала розробка оптимального поэтапного алгоритму підтвердження специфичності/селективності УФ-спектрофотометричних методик кількісного визначення аналітів в біологічних рідинах.

Для характеристики відтворюваності значень оптичної густини запропоновано використовувати відносно стандартне відхилення у відсотках до певного номінального значення (0,1 або $A_{blank}/0,32$) оптичної густини $s_{nom,r}$. Запропоновано критерій прийнятності відтворюваності значень A_{blank} — $s_{nom,r}$ повинне бути незначущим у порівнянні з $\max \Delta_{As}$. Оптимальна кількість blank-проб для отримання надійного середнього значення A_{blank} складає 5.

УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення доксиламіну в крові без попередньої ТПХ-очистки за рахунок впливу компонентів blank-проби обтяжено значущою систематичною похибкою; для методики з попередньою ТПХ-очисткою δ_{blank} незначуща в порівнянні з $\max \Delta_{As}$. При цьому для обох випадків $\delta_{procedure}$ є незначущою в порівнянні з δ_{blank} , що свідчить про адекватність запропонованої процедури прободготовки.

L.Yu.Klimenko, S.M.Trut, G.P.Petyunin, I.M.Ivanchuk. Modification and validation of UV-spectrophotometric method of doxylamine quantitative determination in blood: specificity/selectivity. Kharkiv, Ukraine.

Key words: validation, specificity, UV-spectrophotometry, doxylamine, bioanalytical methods.

The paper is devoted to testing the approaches to determination of specificity/selectivity when carrying out the validation of UV-spectrophotometric methods of quantitative determination in forensic and toxicological analysis offered by authors previously by the example of doxylamine quantitative determination in blood. The normalized coordinates have been applied

for carrying out the validation; the analytical range of the method is 25-175%. The result of the investigations is the development of the optimal step-by-step algorithm of confirmation of specificity/selectivity of UV-spectrophotometric methods of analytes quantitative determination in biological fluids.

To describe the reproducibility of absorbance values, relative standard deviation in percents to certain nominal value (0,1 or $A_{blank}/0,32$) of absorbance $s_{nom,r}$ has been suggested for application. The acceptability criterion for reproducibility of A_{blank} values has been offered — $s_{nom,r}$ should be insignificant against

$\max \Delta_{As}$. The optimal quantity of blank-samples for obtaining the valid mean value of A_{blank} is 5.

UV-spectrophotometric method of doxylamine quantitative determination in blood without preliminary TLC-purification is burdened with significant systematic error due to influence of components of blank-sample; for method with preliminary TLC-purification δ_{blank} is insignificant against $\max \Delta_{As}$. In the same time, for both cases $\delta_{procedure}$ is insignificant against δ_{blank} that is the evidence of adequacy of the offered procedure of sample preparation.

Надійшла до редакції 30.08.2013 р.