

ISSN 2074-1847

**ДОНИШГОҲИ МИЛЛИИ ТОҶИКИСТОН
ТАДЖИКСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

ПАЁМИ
ДОНИШГОҲИ МИЛЛИИ ТОҶИКИСТОН
(маҷаллаи илмӣ)

БАХШИ ИЛМҲОИ ТАБИЙ

1/1(156)

ВЕСТНИК
ТАДЖИКСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА
(научный журнал)

СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

ДУШАНБЕ: «СИНО»
2015

**ДОНИШГОҲИ МИЛЛИИ ТОҶИКИСТОН
ТАДЖИКСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**МАҶАЛЛАИ ИЛМӢ СОЛИ 1990 ТАЪСИС ЁФТААСТ.
НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1990 ГОДУ.**

**Ҳайати таҳририя:
Редакционная коллегия:**

**Имомов М.С. - гл. редактор, доктор филологических наук, профессор
Сафаров Б.А. – зам. гл. редактора, кандидат юридических наук, доцент
Абдулазизов В. – зам.гл.редактора, кандидат филологических наук, доцент**

**Аъзои ҳайати таҳририя:
Члены редколлегии:**

**Бобоев Т.Б. - доктор физико-математических наук, профессор
Георгиянц В.А. - доктор фармацевтических наук, профессор
Котвицкая А.А. - доктор фармацевтических наук, профессор
Раджабов Н.Р. - доктор физико-математических наук, профессор
Саидов Н.Б. - кандидат фармацевтических наук, профессор
Суяров К.Дж. - кандидат химических наук, доцент
Таджибеков М. - доктор геолого-минералогических наук, профессор
Тихонов А.И. – доктор фармацевтических наук, профессор
Устоев М.Б. - доктор биологических наук, профессор
Шерматов Н. – доктор технических наук, профессор**

Маҷалла бо забонҳои тоҷикӣ, русӣ ва англисӣ нашр мешавад.
Журнал печатается на таджикском, русском и английском языках.

**Паёми Донишгоҳи миллии Тоҷикистон, 2015
Вестник Таджикского национального университета, 2015**

комбинации АФИ в креме является: клотримазол 0,8%, метронидазол 0,5%, бетаметазона дипропионат 0,065, мочевины 10%.

Ключевые слова: микробиологические исследования, антимикробная активность, фармацевтическая разработка, противогрибковые препараты.

JUSTIFICATION OF THE CONCENTRATIONS THE ACTIVE SUBSTANCE IN THE CREAM BY METHOD IN VITRO

The article offers the results of microbiological research into selection of the optimal concentrations of substance for soft antifungal drug. The optimal concentrations is 0.8% clotrimazole, 0.5% metronidazole, 0.065% betamethasone dipropionate and 10% urea.

Key words: microbiological investigations, antimicrobial activity, pharmaceutical development, antifungal drug.

Сведения об авторах: *Бирюкова Светлана Васильевна* – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической микробиологии Харьковской медицинской академии последипломного образования. Харьков, Украина

Власенко Ирина Алексеевна - кандидат фармацевтических наук, доцент, кафедры фармацевтической технологии и биофармации Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л.Шупика, Киев, Украина. Телефон: (+380) 691-24-92. E-mail: vlasenko_iryna@mail.ru

Арам Дуллах – магистр фармации, аспирант кафедры фармацевтической технологии и биофармации Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л.Шупика, Киев, Украина

Давтян Лена Левоновна – доктор фармацевтических наук, профессор заведующая кафедрой фармацевтической технологии и биофармации Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л.Шупика, Киев, Украина

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАМАДОЛА В КРОВИ

Л.Ю. Клименко, Э.Ю. Ахмедов, Н.А. Прохоренко

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

Введение. В настоящее время необходимость валидации аналитических методик становится насущной и широко обсуждаемой проблемой судебной токсикологии [1 – 3].

Имеющиеся в наличии международные рекомендации по проведению валидации биоаналитических методик [4 – 7] рассчитаны, во-первых, на использование исключительно хроматографических методов анализа, во-вторых, на работу методом калибровочного графика, что подразумевает выполнение большого количества рутинных анализов в практической работе. В практике судебно-токсикологического анализа более распространенными являются разовые экспертизы, и в этой ситуации более оправданным является применение метода стандарта или метода добавок.

Авторами [8 – 13] предложены подходы к валидации методик количественного определения для целей судебно-токсикологического анализа как к инструменту разработки оптимальной методики в рамках поставленной цели – предложены собственно процедуры выполнения эксперимента и критерии приемлемости полученных результатов в варианте метода калибровочного графика (МКГ) и метода стандарта (МС).

Для определения трамадола гидрохлорида авторами разработана экстракционно-фотометрическая методика, в основу которой положена реакция образования ионного ассоциата трамадола с метиловым оранжевым при pH = 4,6 [14], и предложена методика выделения указанного аналита из крови путем настаивания с 0,1 моль/л раствором кислоты хлористоводородной и последующей экстракции хлороформом в щелочной среде (pH = 11) [15] – эффективность изолирования трамадола из крови с использованием данной процедуры оценена с помощью вышеуказанной экстракционно-фотометрической методики и составляет ~30%.

Целью данной работы является:

- разработка набора методик количественного определения трамадола в крови с использованием различных процедур пробоподготовки на базе предложенной ранее [14]

экстракционно-фотометрической методики;

- выбор оптимальной процедуры пробоподготовки, обеспечивающей эффективное извлечение трамадола из крови и низкое содержание соэкстрактивных веществ в получаемых извлечениях при минимальной величине неопределенности методики;

- проведение валидации предложенных методик в соответствии с [8 – 13] и сравнение возможностей использования для экстракционно-фотометрического определения трамадола в крови МКГ и МС.

Материалы и методы. В эксперименте использовали трамадола гидрохлорид фармакопейной чистоты. Порядок приготовления стандартных, рабочих и модельных растворов, а также калибровочных и модельных образцов представлен на схеме 1.

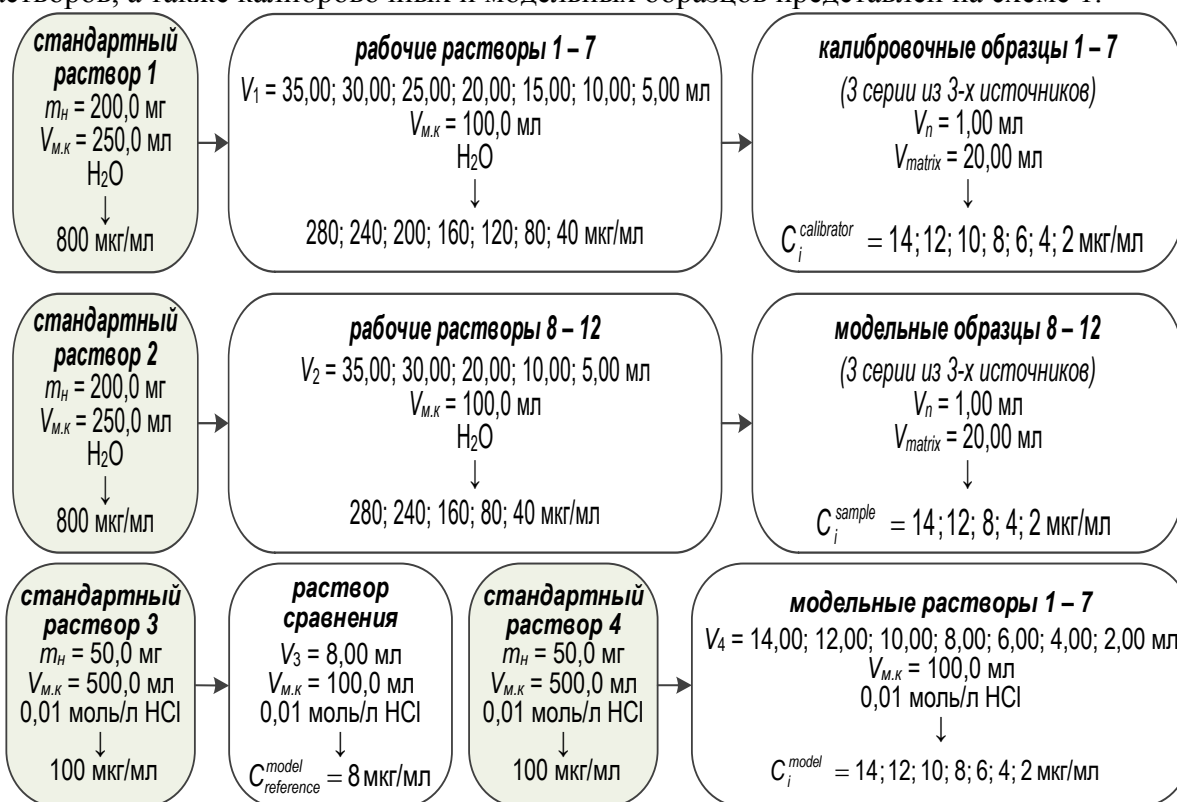


Схема 1. Процедура приготовления растворов и образцов для валидации экстракционно-спектрофотометрических методик определения трамадола в крови

Дизайн эксперимента представлен на схеме 2.

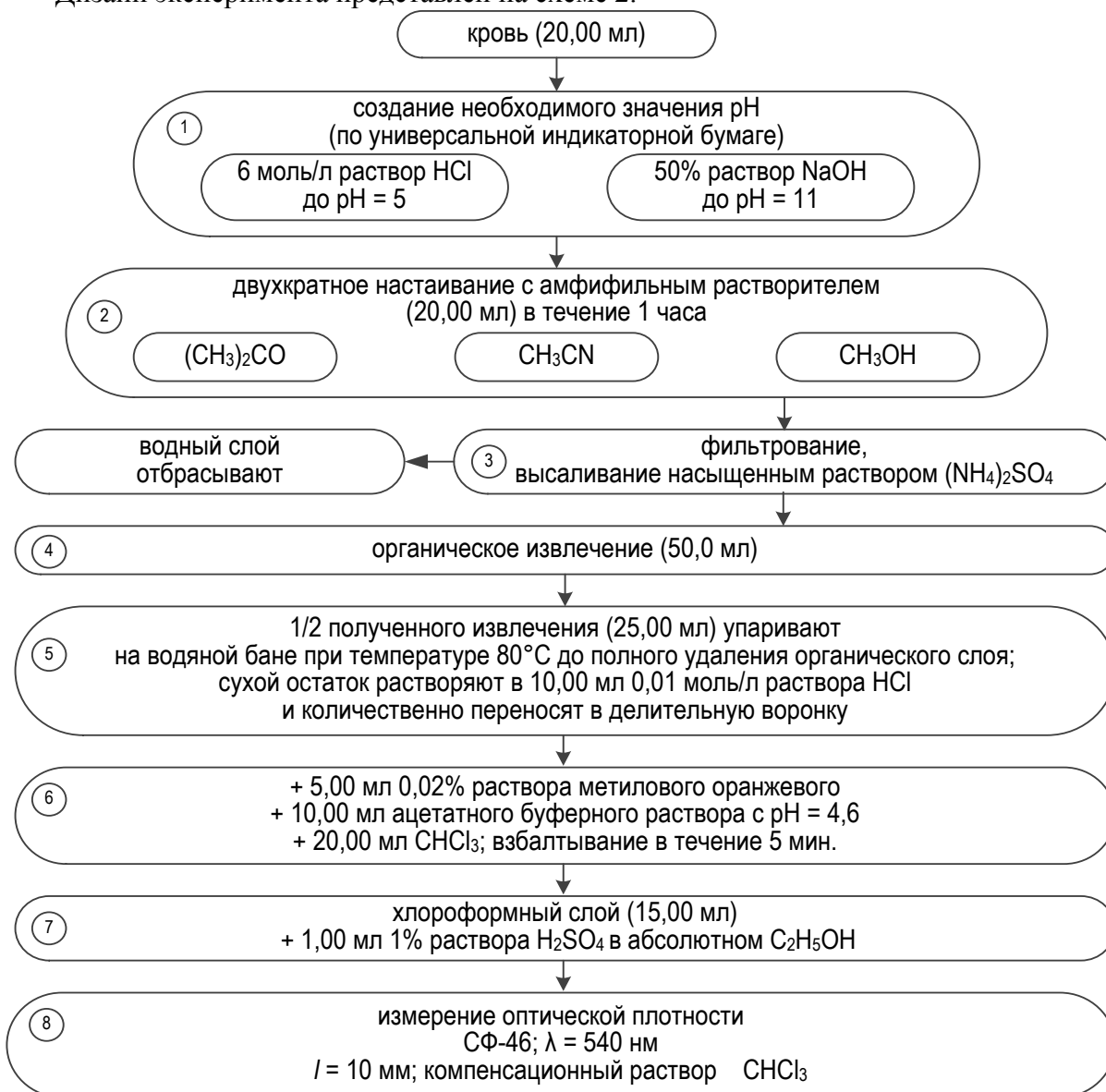


Схема 2. Основные этапы методик экстракционно-фотометрического определения трамадола в крови

Для каждой из разработанных методик анализировали калибровочные и модельные образцы (см. схему 1), а также blank-образцы, приготовленные следующим образом: 1) 5 образцов (20,00 мл) крови, полученной от различных источников, в которые введено по 1,00 мл воды дистиллированной; 2) 3 образца (20,00 мл) воды дистиллированной.

Оптическую плотность растворов измеряли по 3 раза с рандомизацией положения кюветы.

Результаты и их обсуждение. На первом этапе исследований нами предложено модифицировать описанную [14] экстракционно-фотометрическую методику определения трамадола гидрохлорида – изменения отражены в табл. 1.

Таблица 1. Предложенные изменения в процедуре экстракционно-фотометрического определения трамадола

№ п/п	Параметр	процедура определения согласно [14]	Предложенная процедура определения
1	растворитель для приготовления	H ₂ O	0,01 раствор HCl

	анализируемого раствора		
2	объем анализируемого раствора	1 мл	10,00 мл
3	объем ацетатного буферного раствора с рН = 4,6	5 мл	10,00 мл
4	объем раствора метилового оранжевого	2 мл	5,00 мл
5	концентрация раствора метилового оранжевого	0,1%	0,02%
6	объем хлороформа	15 мл	20,00 мл
7	объем хлороформной фазы, взятый для анализа	10 мл	15,00 мл
8	объем 1% раствора кислоты серной в абсолютном этаноле	2 мл	1,00 мл

Т.е. предложено изменить объемы используемых реагентов таким образом, чтобы стало возможным отмеривать их количества с большей точностью, что должно существенным образом уменьшить суммарную неопределенность методики анализа. Измерение оптической плотности конечного анализируемого раствора проводили не с помощью фотоэлектроколориметра КФК-2 – как в предложенной ранее методике [14], а с использованием спектрофотометра СФ-46 – также с целью уменьшения суммарной неопределенности методики анализа.

В свою очередь изолирование трамадола из крови предложено проводить с помощью амфифильных растворителей в условиях насыщения водной фазы электролитом – подход, пользующийся широкой популярностью в современном судебно-токсикологическом анализе [3, 16, 17]. В работе использованы такие амфифильные растворители, как метанол, ацетон и ацетонитрил; в качестве электролита для насыщения водной фазы использовали аммония сульфат.

Изолирование проводили в щелочной среде (рН = 11) – как в предложенной ранее методике [15] – и слабокислой – рН = 5. Выполнение изолирования аналитов из биологических объектов в слабокислой среде в ряде случаев приводит к уменьшению процессов соэкстракции компонентов биологической матрицы [3, 16, 17]. Необходимо отметить, что использование амфифильных растворителей и насыщенного раствора аммония сульфата позволяет сохранять эффективность изолирования веществ основного характера в слабокислой среде на том же уровне, что и в щелочной – это обусловлено смещением реального значения рН в щелочную сторону для смесей насыщенных растворов электролитов с амфифильными растворителями [18].

Таким образом, итогом данного этапа работы стала разработка ряда методик определения трамадола в крови с использованием экстракционной спектрофотометрии, отличающихся процедурами пробоподготовки (см. схему 2).

Для выбора оптимальных методик определения трамадола в крови проводили их валидацию по таким параметрам как специфичность, степень извлечения, линейность, правильность, сходимость и внутрилабораторная прецизионность в соответствии с предложенными нами подходами в варианте метода калибровочного графика [8 – 12] и метода стандарта [13].

Процедура валидации предусматривает использование нормализованных координат. Для нормализации полученных экспериментальных данных использовали раствор сравнения с концентрацией аналита, соответствующей его концентрации в конечном анализируемом растворе при условии нулевых потерь для точки 100% в нормализованных координатах. Для нормализации значений оптических плотностей калибровочных и модельных образцов оптическая плотность раствора сравнения корректируется с учетом степени извлечения, значимость и величина которой показаны на предварительном этапе валидации.

Диапазон применения методик $D = 25 - 175\%$; количество концентрационных уровней $g = 7$ с постоянным шагом 25%; за 100% принимали среднюю летальную концентрацию трамадола в крови [3] – 8 мкг/мл.

Валидацию методик на первом этапе проводили с использованием модельных растворов (схема 3), исходя из того, что неопределенность количественного определения

аналита в модельных растворах Δ_{As}^{model} равна неопределенности процедуры пробоподготовки анализируемых образцов [10 – 13]; суммарные результаты валидации приведены в табл. 2.

Таким образом, модифицированная методика количественного определения трамадола гидрохлорида методом экстракционной фотометрии характеризуется удовлетворительной линейностью, правильностью и сходимостью, что дает возможность рекомендовать ее к дальнейшему применению в судебной токсикологии с целью разработки методик анализа биологических объектов на содержание в них трамадола.

Необходимо отметить возможность выполнения анализа как методом калибровочного графика, так и методом стандарта.

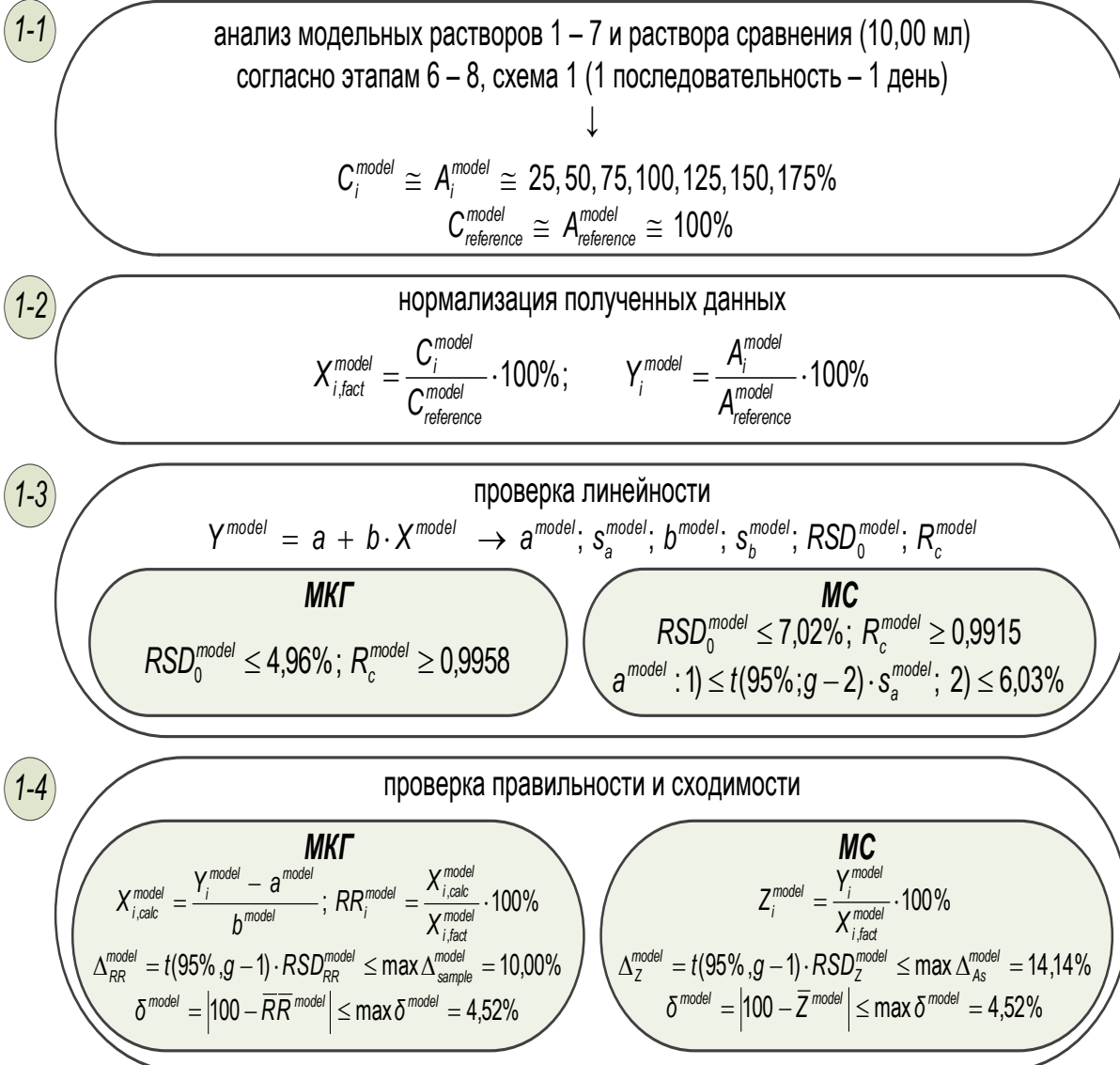


Схема 3. Этапы валидации экстракционно-фотометрических методик определения трамадола с использованием модельных растворов

На втором этапе проводили валидацию методик с использованием калибровочных и модельных образцов (схема 4). Суммарные результаты валидации приведены в табл. 3 – 4 и позволяют говорить о приемлемых показателях специфичности, степени извлечения, линейности, правильности, сходимости и внутрилабораторной прецизионности всей серии разработанных экстракционно-фотометрических методик количественного определения трамадола в крови.

Таблица 2. Сравнительные результаты валидации экстракционно-фотометрических методик количественного определения трамадола гидрохлорида, полученные с использованием модельных растворов

Характеристика	МКГ		МС	
	значение	критерий приемлемости	значение	критерий приемлемости
<i>1) линейность</i>				
b^{model}	0,989	–	0,989	–
s_b^{model}	0,010	–	0,010	–
a^{model}	-0,229	–	-0,229	$a^{model} \leq 2,015 \cdot s_a^{model}$ $a^{model} \leq 6,03\%$
s_a^{model}	1,150	–	1,150	
RSD_0^{model}	1,361	$\leq 4,96\%$	1,361	$\leq 7,02\%$
R_c^{model}	0,9997	$\geq 0,9958$	0,9997	$\geq 0,9915$
<i>2) правильность и сходимость</i>				
$\overline{RR}^{model} (\overline{Z}^{model})$	99,91	–	98,84	–
$RSD_{RR}^{model} (RSD_Z^{model})$	0,09	–	1,16	–
Δ^{model}	1,33	$\leq 4,52\%$	1,32	$\leq 4,52\%$
$\Delta_{RR}^{model} (\Delta_Z^{model})$	2,58	$\leq 10,00\%$	2,56	$\leq 14,14\%$

Результаты изучения специфичности показывают, что во всех случаях проведение изолирования трамадола из крови при pH = 5 обеспечивает более низкий вклад компонентов биологической матрицы в поглощение основного опыта, чем в случае использования щелочного значения pH; в то же время, по результатам изучения степени извлечения, в данных условиях отмечается небольшое снижение эффективности выделения трамадола из крови – на 3 – 5%. Наибольшей эффективностью извлечения характеризуются методики с использованием ацетонитрила.

Воспроизводимость значений степени извлечения и оптической плотности blank-образцов соответствует критериям приемлемости для всех вариантов методик.

Значения оптических плотностей, полученные для blank-образцов 2, свидетельствуют о корректном выборе процедуры пробоподготовки для всех рассмотренных случаев.

С учетом данных относительно A_{blank} и R исследования линейности, правильности и прецизионности проводились только для серии методик с использованием слабокислой среды для выделения трамадола из крови.

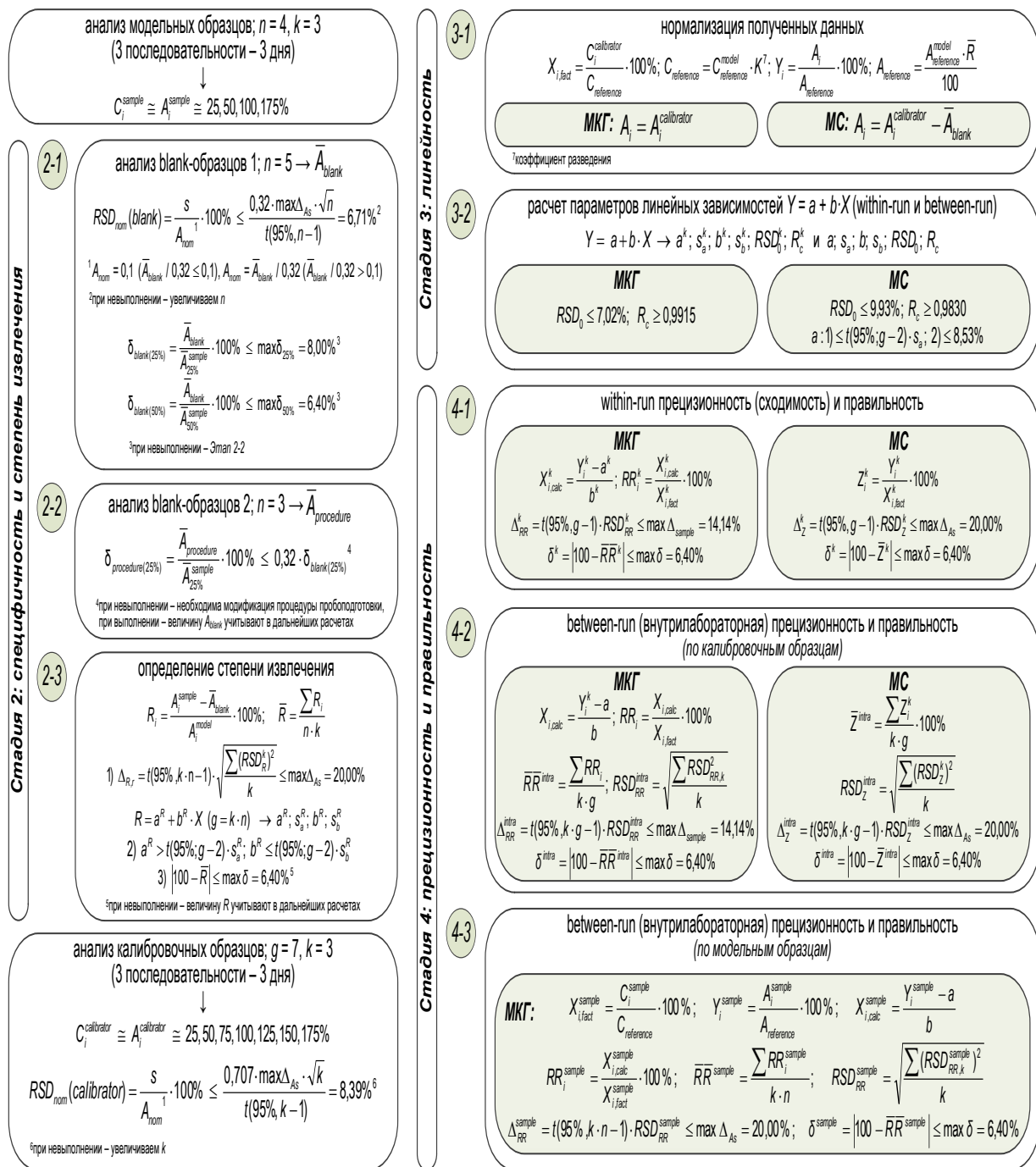


Схема 4. Этапы валидации экстракционно-фотометрических методик определения трамадола в крови с использованием модельных и калибровочных образцов

Таблица 3. Результаты определения специфичности и степени извлечения экстракционно-фотометрических методик количественного определения трамадола в крови

Характеристика	(CH ₃) ₂ CO		CH ₃ CN		CH ₃ OH		критерий приемлемости
	pH = 5	pH = 11	pH = 5	pH = 11	pH = 5	pH = 11	
\bar{A}_{blank}	0,028	0,041	0,022	0,029	0,030	0,044	–
$RSD_{nom}(blank)$	5,18	4,05	5,08	5,92	3,71	4,20	$\leq 6,71\%$
$\delta_{blank(25\%)}$	17,78	23,52	13,65	16,84	19,62	25,14	$\leq 8,00\%$
$\delta_{blank(50\%)}$	10,18	13,49	7,77	9,65	11,18	14,33	$\leq 6,40\%$
$A_{procedure}$	0,007	0,007	0,006	0,007	0,007	0,007	–

	$\delta_{procedure(25\%)}$	4,29	3,84	3,58	3,84	4,64	3,84	$\leq 0,32 \cdot d_{blank}$
степень извлечения	\bar{R}	83,15	88,79	87,00	93,75	80,11	88,82	–
	$\Delta_{R,r}$	7,85	15,81	9,06	8,00	9,75	11,73	$\leq 20,00\%$
	b^R	0,02	0,08	0,00	0,01	0,03	0,06	$b^R \leq 1,812 \cdot s_b^R$
	s_b^R	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	
	a^R	81,72	81,59	87,08	92,49	77,70	83,55	$a^R > 1,812 \cdot s_a^R$
	s_a^R	2,11	2,80	2,26	2,37	2,04	2,21	
	$ 100 - \bar{R} $	16,85	11,21	13,00	6,25	19,89	11,18	$\leq 6,40\%$

Таблица 4. Результаты определения линейности, правильности и прецизионности экстракционно-фотометрических методик количественного определения трамадола в крови (pH = 5)

Характеристика		МКГ			МС			критерий приемлемости
		(CH ₃) ₂ CO	CH ₃ CN	CH ₃ OH	(CH ₃) ₂ CO	CH ₃ CN	CH ₃ OH	
линейность	max d^k	3,657	5,014	5,189	-4,153	-3,911	-5,783	МКГ: – МС: $\leq 8,53\%$
	a	2,780	2,516	2,734	–	–	–	
	max RSD_0^k	4,090	3,570	3,715	4,090	3,572	3,716	МКГ: $\leq 7,02\%$ МС: $\leq 9,93\%$
	RSD_0	2,499	2,267	2,296	–	–	–	
	min R_c^k	0,9976	0,9980	0,9980	0,9976	0,9980	0,9980	МКГ: $\geq 0,9915$ МС: $\geq 0,9830$
R_c	0,9991	0,9992	0,9993	–	–	–		
правильность	max d^k	1,00	0,80	0,81	2,20	3,72	3,08	$\leq 6,40\%$
	$\bar{R}\bar{R}^{intra}(\bar{Z}^{intra})$	100,46	100,59	100,53	98,06	97,15	97,81	–
	d^{intra}	0,46	0,59	0,53	1,94	2,85	2,19	$\leq 6,40\%$
	$\bar{R}\bar{R}^{sample}$	102,55	103,26	103,12	–	–	–	–
	d^{sample}	2,55	3,26	3,12	–	–	–	$\leq 6,40\%$
прецизионность	max Δ_{RR}^k	13,29	8,96	9,02	–	–	–	$\leq 14,14\%$
	max Δ_Z^k	–	–	–	11,00	10,42	9,37	$\leq 20,00\%$
	Δ_{RR}^{intra}	8,16	8,11	8,05	–	–	–	$\leq 14,14\%$
	Δ_Z^{intra}	–	–	–	7,57	6,85	7,47	$\leq 20,00\%$
	Δ_{RR}^{sample}	11,76	12,63	12,50	–	–	–	$\leq 20,00\%$

В целом, все изученные методики характеризуются удовлетворительными параметрами линейности, правильности и прецизионности как в варианте МКГ, так и МС.

В случае анализа МС во всех случаях отмечается увеличение систематической ошибки методик и ухудшение сходимости результатов анализа, в то же время показатели внутрилабораторной прецизионности значительно лучше, чем в случае МКГ.

Выводы. Таким образом, нами разработана серия экстракционно-фотометрических методик количественного определения трамадола в крови с использованием амфифильных растворителей (ацетона, ацетонитрила, метанола) для выделения аналита из матрицы в условиях насыщения водной фазы аммония сульфатом. Оптимальным является использование ацетонитрила в слабокислой среде (pH = 5) – вклад компонентов матрицы в поглощение анализируемого образца не превышает 13,65%, эффективность извлечения составляет ~87%. Проведена валидация разработанных методик и показана возможность использования для определения как МКГ, так и МС – выполнение анализа МС характеризуется худшей правильностью, что компенсируется высокой прецизионностью и значительной экономией времени проведения эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bioanalytical method development – determination of drugs in biological fluids / Pranay Wal, Brijesh Kumar Dr. Anil Bhandari, A. K. Rai, Ankita Wal // *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. – 2010. – V. 2 (10). – P. 333 – 347.
2. Tiwari, G. Bioanalytical method validation: an updated review / G. Tiwari, R. Tiwari // *Pharm. Methods*. – 2010. – V. 1 (1). – P. 25 – 38.
3. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4th ed. / edited by A. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop. – London: Pharmaceutical Press, 2011. – 2609 p.
4. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation / U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). – Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2001. – 22 p.
5. Guideline on bioanalytical method validation / European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). – London, 2009. – 22 p.
6. Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens / United Nations Office on Drugs and Crime, Laboratory and Scientific Section. – New York: United Nations, 2009. – 70 p.
7. Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology / Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX). – 2013. – 52 p.
8. 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.
9. Validation of UV-spectrophotometric methods of quantitative determination in forensic and toxicological analysis: recovery / L. Yu. Klimenko, S. M. Trut, G. P. Petyunin, I. M. Ivanchuk // *Фармация Казахстана*. – 2013. – №12. – С. 42 – 48.
10. Критерии приемлемости линейной зависимости при проведении валидации УФ-спектрофотометрических методик количественного определения в судебно-токсикологическом анализе / Л. Ю. Клименко, Г. П. Петюнин, С. Н. Трут, В. П. Мороз // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. – 2014. – №2 (15). – С. 15 – 22.
11. Determination of accuracy when validating UV-spectrophotometric methods of quantitative determination in forensic and toxicological analysis / L. Yu. Klimenko, S.M. Trut, G.P. Petyunin, T.A. Kostina // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2014. – №2 (29). – С. 55 – 67.
12. Klimenko, L.Yu. Approaches to determination of precision for UV-spectrophotometric methods of quantitative determination in forensic and toxicological analysis / L.Yu. Klimenko, S.M. Trut, O.Ye. Mykytenko // *Фармация Казахстана*. – 2014. – №3. – С. 43 – 50.
13. Клименко, Л.Ю. Разработка подходов к определению линейности, правильности и прецизионности УФ-спектрофотометрических методик количественного определения методом стандарта в судебно-токсикологическом анализе / Л.Ю. Клименко // *Фармация Казахстана*. – 2014. – №4. – С. 31 – 35.
14. Болотов, В.В. Экстракційно-фотометричне визначення трамалу / В.В. Болотов, Е.Ю. Ахмедов // *Вісн. фармації*. – 1998. – №2 (18). – С. 116 – 117.
15. Ахмедов, Е.Ю. Хіміко-токсикологічне дослідження трамалу: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Е. Ю. Ахмедов. – Х., 2003. – 19 с.
16. Маміна, О. О. Розробка та удосконалення методів аналізу органічних лікарських речовин загального дослідження при проведенні судово-медичних експертиз: дис. ... д-ра фарм. наук / О.О. Маміна. – Х., 2008. – 294 с.
17. Герасимов, Д.А. Химико-токсикологическое исследование нимесулида и близких по структуре соединений: дис. ... канд. фарм. наук / Д.А. Герасимов. – Курск, 2014. – 326 с.
18. Смотров, М.П. Топологическая трансформация фазовых диаграмм тройных систем, соль-бинарный растворитель с всаливанием-высаливанием / М.П. Смотров. – Саратов, 2012. – 281 с.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАМАДОЛА В КРОВИ

Разработана серия экстракционно-фотометрических методик количественного определения трамадола в крови с использованием амфифильных растворителей для выделения аналита из матрицы в условиях насыщения водной фазы аммония сульфатом – оптимальным является использование ацетонитрила в слабокислой среде (вклад компонентов матрицы в поглощение анализируемого образца не превышает 13,65%, эффективность извлечения составляет ~87%). Проведена валидация разработанных методик и показана возможность использования для определения как метода калибровочного графика, так и метода стандарта.

Ключевые слова: валидация, биоаналитические методики, экстракционная фотометрия, трамадол, метод калибровочного графика, метод стандарта.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF EXTRACTION-PHOTOMETRIC DETERMINATION METHODS OF TRAMADOL IN BLOOD

The set of extraction-photometric methods of tramadol quantitative determination in blood using amphiphilic solvents for analyte isolation from the matrix under the conditions of water phase saturation with ammonium sulphate has been developed – application of acetonitrile in the weak-acid medium is optimal (the contribution of matrix components into the absorbance of the sample to be analysed does not exceed 13.65%, extraction efficiency is ~87%). Validation of the developed methods has been carried out and possibility of application for determination both of the method of calibration curve and method of standard has been shown.

Key words: validation, bioanalytical methods, extraction photometry, tramadol, method of calibration curve, method of standard.

Сведения об авторах: *Клименко Лина Юрьевна* - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической химии, Национального фармацевтического университета. Телефон: +38 (050) 401-37-62. E-mail: lynnne2@ukr.net

Ахмедов Эльшан Юнис-оглы - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической химии Национального фармацевтического университета

Прохоренко Наталья Алексеевна - судебно-медицинский эксперт-токсиколог, Харьковское областное бюро судебно-медицинской экспертизы

РАЗРАБОТКА СОСТАВА ПЕНОМОЮЩЕГО СРЕДСТВА ДЛЯ ДЕТЕЙ

Е. В. Жук, Л. С. Петровская, И. И. Баранова, М.В. Никитина
Национальный фармацевтический университет, Украина, г. Харьков

Нами разрабатывается современный детский шампунь для детей в возрасте от 3 до 7 лет [1,2]. В отличие от кожи головы взрослого человека, кожа ребенка не имеет специальной естественной защитной пленки. Кожа ребенка в два раза тонше, чем у взрослого, легко подвергается негативным воздействиям патогенных микроорганизмов и влиянию окружающей среды [1,2].

Необходимо отметить, что пеномоющие средства для взрослых способны нарушать функционирование защитных систем детской кожи [2]. Детский шампунь должен иметь удовлетворительные очищающие свойства и быть безвредным - не раздражать кожу головы, не вызывать аллергических реакций и пр. [3-5].

В ранее опубликованных работах, на основании проведенных исследований, был выбран ряд современных и безопасных детергентов анионного, амфотерного и неионогенного характеров: динатрия лауретсульфосукцинат 28% («Euronaat LS 3»), кокамидопропилбетаин («Cocamidopropyl Betain»), кокоглюкозид и глицерил олеат («Lamesoft PO 65»), ПЭГ-7 глицерил кокоат («Neopal LIS 80») [6,7]. В качестве регулятора рН использовали молочную кислоту (до значения рН 5,5). На основе этих веществ были приготовлены пеномоющие основы с различными концентрациями детергентов и выбрана рациональная основа, соответствующая физико-химическим показателям, согласно принятой нормативной документации Украины [8,9,10]. С целью повышения потребительских и физико-химических (вязкость основы шампуня, стабильность пены) свойств разработанной пеномоющей основы, дополнительно были введены модификаторы вязкости. Они дают возможность не только регулировать вязкость продукта, но и улучшить реологические свойства и стабильность готового продукта [11,12].

В современных детских шампунях можно встретить комбинацию модификаторов вязкости (электролиты) и гелеобразователей (чаще всего природного или полусинтетического происхождения). Этот комплекс обладает положительными технологическими свойствами, а именно: растворяется в воде, в ароматических углеводородах, спирте; образует устойчивую вязкую субстанцию в продукте; стабильно удерживает воду; способно к образованию прозрачной и прочной пленки; нераствориме в органических растворителях, маслах и жирах; не имеет выраженного запаха и вкуса; не токсичне; хорошо совместим со многими химическими веществами [4,8].