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

[1]Шкарлат Г. Л., [1]Журавель И. А., [2]Клименко Л. Ю., [1]Шовковая З. В.

[1]Кафедра токсикологической химии

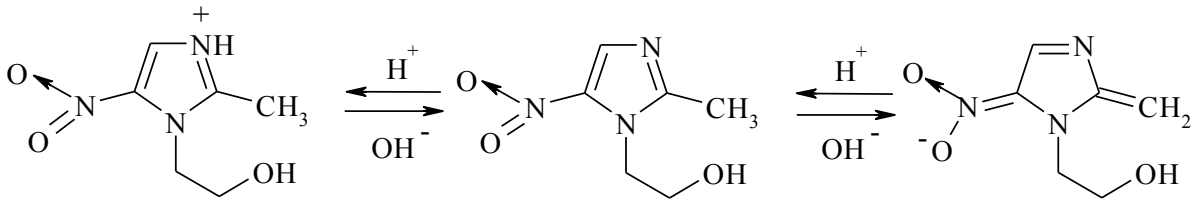
[2]Кафедра аналитической химии

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

lynnne2@ukr.net

Цель. Разработка УФ-спектрофотометрических методик количественного определения метронидазола и валидация разработанных методик с использованием подходов к процедуре определения и оценке приемлемости линейности, правильности и сходимости методик количественного определения аналитов в биологических жидкостях, применяемых в химико-токсикологическом анализе.

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



Наличие таких превращений подтверждают УФ-спектры метронидазола, полученные нами в различных растворителях с различными значениями pH, – при увеличении значения pH наблюдается поэтапное смещение максимума поглощения вправо: 277 нм → 310 нм → 314 нм → 319 нм.

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

Разработку методик количественного определения метронидазола, планируемых к применению в химико-токсикологическом анализе для анализа содержания препарата в биологических объектах, проводили в соответствии с предложенной 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%.

Валидацию методик проводили по параметрам «линейность», «правильность» и «сходимость» в рамках двух предложенных подходов.

Для определения параметров линейной зависимости и оценки их приемлемости полученные средние значения оптической плотности модельных растворов нормализовали по раствору сравнения и обрабатывали методом наименьших квадратов. Метрологические параметры полученных калибровочных прямых вида $Y = b \cdot X + a$ свидетельствуют о выполнении требований к линейности методик, планируемых к применению в судебной токсикологии, для всех вариантов диапазона применения методики и для обоих подходов к оценке их приемлемости.

Определение и оценку приемлемости правильности и сходимости проводили одновременно с проверкой линейности в соответствии с предложенными процедурами:

проверку правильности и сходимости методики по модельным растворам проводят путем расчета их концентрации X_{calc}^{model} с использованием соответствующей линейной зависимости;

полученные значения X_{calc}^{model} используют для расчета δ^{model} и Δ_{sample}^{model};

для оценки величин δ^{model} и Δ_{sample}^{model} используют такие критерии приемлемости – $\delta^{mode} \leq 2.05\%$; $\Delta_{sample}^{model} \leq 4.52\%$.

Показатели правильности и сходимости разработанных методик находятся в рамках критериев приемлемости.

Необходимо отметить, что наилучшие показатели линейности, правильности и сходимости зафиксированы для методики с использованием в качестве растворителя этанола, наихудшие – 0.1 моль/л метанольного раствора калия гидроксида, что, по-видимому, объясняется существованием в этаноле наиболее устойчивой формы метронидазола и его пограничным состоянием в 0.1 моль/л метанольном растворе калия гидроксида.

Выводы. Предложенные методики количественного определения метронидазола методом УФ-спектрофотометрии характеризуются удовлетворительной правильностью и сходимостью для всех вариантов диапазона применения методики и для обоих подходов к оценке их приемлемости, что дает возможность рекомендовать их к дальнейшему применению в химико-токсикологическом анализе с целью разработки методик анализа биологических объектов на содержание в них метронидазола.