

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕКНИДАЗОЛА ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Шовковая О. В., Клименко Л. Ю., Шовковая З. В., Костина Т. А.
Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Производные 5-нитроимидазола представляют собой группу антипротозойных лекарственных средств, широко используемых для лечения инфекционных заболеваний, вызываемых трихомонадами, лямблиями, лейшманиями, амебами, а также в комплексной терапии язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, связанной с *Helicobacter pylori*.

Механизм действия 5-нитроимидазолов на микроорганизмы и простейшие заключается в биохимическом восстановлении 5-нитрогруппы внутриклеточными транспортными протеинами клеток, а восстановленная 5-нитрогруппа взаимодействует с ДНК, ингибируя синтез нуклеиновых кислот, что ведет к гибели микроорганизмов.

Секнидазол – лекарственный препарат из группы 5-нитроимидазолов, характеризующийся длительным периодом полувыведения из организма.

Целью нашей работы является разработка ВЭЖХ-методики количественного определения секнидазола и валидация разработанной методик с использованием предложенных в работе [Klimentko, L. Yu., 2016] подходов к процедуре определения и оценке приемлемости линейности, правильности и сходимости методик количественного определения аналитов в биологических жидкостях, применяемых в судебно-токсикологическом анализе.

Подобраны условия хроматографирования и детектирования секнидазола методом ВЭЖХ:

- прибор – «Милихром А-02»;
- колонка – $\varnothing \times 75$ мм, обращенная фаза ProntoSIL-120-5-C18 AQ, 5 мкм;
- температура – 40°C;
- элюент А – 0,2 моль/л LiClO_4 – 0,005 моль/л HClO_4 ; элюент Б – CH_3CN ;
- поток – 100 мкл/мин;
- градиент – линейный от 5% до 100% CH_3CN за 40 мин, затем 100% CH_3CN в течение 3 мин;
- детектор – УФ-спектрофотометрический при 8 длинах волн.

В предложенных условиях ВЭЖХ-анализа время удерживания для секнидазола составляет 7,53 мин. Предел обнаружения составляет 0,1 мкг/мл.

Проведена валидация разработанной методики с использованием модельных растворов в вариантах метода калибровочного графика и метода стандарта по таким параметрам, как стабильность, специфичность/селективность, линейность, правильность, сходимость и внутрилабораторная прецизионность, исходя из того, что неопределенность количественного определения секнидазола в модельных растворах Δ_{As}^{model} незначима по сравнению с полной неопределенностью результатов анализа $\Delta_{As} = 20\%$. Диапазон применения методики $D = 25 - 175\%$ в нормализованных координатах; количество концентрационных уровней $g = 7$ с постоянным шагом 25%; за 100% принимали концентрацию секнидазола в растворе, обеспечивающую соотношение «сигнал/шум» на уровне 40.

Суммарные результаты валидации позволяют говорить об удовлетворительности валидационных параметров, что дает возможность рекомендовать разработанную методику к дальнейшему применению в судебной токсикологии с целью разработки методик анализа биологических объектов на содержание в них секнидазола.