

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ ОДНОЧАСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МОЛІБДЕНУ ТА ВАНАДІЮ В КОМБІНОВАНОМУ ПОЛЕЛЕМЕНТНОМУ ЛІКАРСЬКОМУ ЗАСОБІ «ЕСМІН» МЕТОДОМ АЕС З ІПП

Ключові слова: атомно-емісійна спектроскопія, індукційно-пов'язана плазма, валідація

Роль мікроелементів в життєдіяльності організму важко переоцінити. Тому більшою популярністю користуються комбіновані лікарські засоби, до складу яких крім вітамінів входять мікроелементи, такі як молібден та ванадій. Молібден відповідальний за обмінні процеси в організмі. Найважливішою функцією цього мікроелементу є виведення сечової кислоти. Добова норма потрапляння молібдену в організм становить від 75 до 250 мкг, передозування призводить до так званої «молібденової подагри». Тому важливо мати методику визначення молібдену на такому низькому рівні. Роль ванадію в організмі точно не встановлено, вважають, що він відповідальний за обмін жирів та вуглеводів. Добова доза становить 20–30 мкг. З двох використовуваних фармакопейних методів для визначення елементів – атомно-абсорбційної (ААС) та атомно-емісійної спектроскопії (АЕС) [1–3] – доцільним є використання більш чутливого емісійного методу. Використання сучасного методу формування іонної пари – індукційно-пов'язаної плазми (ІПП) – дає змогу проводити одночасне визначення багатьох елементів. Комбінацію АЕС-ІПП провідні фармакопей тепер не використовують, але існують посилання, в яких розглядається така можливість.

Таким чином, метою даного дослідження було впровадження та валідація актуальної АЕС-ІПП-методики одночасного кількісного визначення молібдену та ванадію в лікарському засобі «ЕСМІН» (капсули).

Експериментальна частина

Об'єкти дослідження, застосовані реагенти та обладнання

Об'єктом дослідження був лікарський засіб «ЕСМІН», капсули, дослідний зразок.

У роботі було використано реактиви і розчинники: ДСЗ розчинів молібдену та ванадію з концентраціями Мо (VI) та V (V) 1 мг/мл; 1,0 % та 20 % розчини азотної кислоти, воду деіонізовану.

Аналітичне обладнання: АЕС спектрометр «Perkin-Elmer OPTIMA 2000 DV ICP-OES» з іонізацією в індукційно пов'язаній плазмі, ваги електронні «Precisa XT 220А», мірний посуд класу А.

Умови визначення АЕС: час затримки – 15 с, швидкість подачі зразку – 1,5 мл/хв, джерело випромінювання – лазер, довжина хвилі – 202,03 нм для молібдену та 270,09 нм – для ванадію.

Валідація методики визначення молібдену

Валідаційні критерії [4]. Невизначеність пробопідготовки, специфічність, лінійність, збіжність, правильність, стабільність, внутрішньолaboratorна точність. Процедура проведення валідації докладно викладено у [5, 6].

Випробувані розчини готували шляхом розчинення вмісту капсул у мінімальній кількості 20 % розчину азотної кислоти, кип'ятінням на водяній бані, доведенням об'єму розчинів до концентрацій молібдену та ванадію 0,5 мкг/мл за допомогою 1,0 % розчину азотної кислоти.

Калібрувальні розчини готували із ДСЗ розчинів молібдену та ванадію за допомогою 1,0 % розчину азотної кислоти до концентрації елементів у діапазоні 0,3–0,7 мкг/мл.

Результати дослідження та їх обговорення

Невизначеність пробопідготовки. Виходячи з методики приготування розчинів невизначеність пробопідготовки становить $0,44 < \delta_{As} = 2,048$. Повна прогнозована невизначеність методики становить $1,28 < \delta_{As} = 6,40$. Отримані дані свідчать про відсутність впливу пробопідготовки на результати визначення молібдену та ванадію.

Специфічність методики підтверджується селективністю комбінації атомно-емісійного методу та способу іонізації – індукційно-пов'язана плазма.

Правильність, збіжність. У таблицях 1 та 2 наведено визначення валідаційних критеріїв «правильність» та «збіжність» для молібдену та ванадію відповідно.

Т а б л и ц я 1

Визначення валідаційних критеріїв молібдену

№ розчину	Концентрація калібрувального розчину, мкг/мл	Концентрація в нормалізованих координатах, X_i , %	Середнє значення поглинання	Поглинання в нормалізованих координатах, Y_i , %	$Z_i = \frac{Y_i}{X_i} \times 100\%$
Стандартний розчин	0,4960		0,2551		
1	0,2976	60,00	0,1543	60,50	100,83
2	0,3472	70,00	0,1788	70,10	100,14
3	0,3968	80,00	0,2036	79,80	99,75
4	0,4464	90,00	0,2306	90,40	100,44
5	0,4960	100,00	0,2551	100,00	100,00
6	0,5456	110,00	0,2810	110,16	100,14
7	0,5952	120,00	0,3046	119,39	99,49
8	0,6448	130,00	0,3339	130,89	100,69
9	0,6944	140,00	0,3530	138,39	98,85
Середнє $Z =$				100,04	
Стандартне відхилення $SD_Z =$				0,62	
Довірчий інтервал $= \Delta\% = t(95\%; f) \times SD_Z$				1,14	$< \max \Delta_{As} = 3,20$
Перевірка незначущості систематичної похибки					
Систематична похибка $\delta[Z-100]=$				0,04	$< \max \delta = 1,024$ $< \max \Delta_{As} = 3,20$

Т а б л и ц я 2

Визначення валідаційних критеріїв ванадію

№ розчину	Концентрація калібрувального розчину, мкг/мл	Концентрація в нормалізованих координатах, X_i , %	Середнє значення поглинання	Поглинання в нормалізованих координатах, Y_i , %	$Z_i = \frac{Y_i}{X_i} \times 100\%$
Стандартний розчин	0,44		0,2555		
1	0,264	60,00	0,1545	60,47	100,78
2	0,308	70,00	0,1792	70,14	100,20
3	0,352	80,00	0,2001	78,32	97,90
4	0,396	90,00	0,2304	90,18	100,20
5	0,44	100,00	0,2555	100,00	100,00
6	0,484	110,00	0,2821	110,41	100,37
7	0,528	120,00	0,3054	119,53	99,61
8	0,572	130,00	0,3342	130,80	100,62
9	0,616	140,00	0,3530	138,18	98,70
Середнє $Z =$				99,82	
Стандартне відхилення $SD_Z =$				0,95	
Довірчий інтервал $= \Delta\% = t(95\%; f) \times SD_Z$				1,76	$< \max \Delta_{As} = 3,20$
Перевірка незначущості систематичної похибки					
Систематична похибка $\delta[Z-100]=$				0,18	$< \max \delta = 1,024$ $< \max \Delta_{As} = 3,20$

Із таблиць 1 та 2 можна судити про відповідність критеріїв «правильність» та «збіжність» вимогам ДФУ для методик визначення молібдену та ванадію.

Лінійність. На підставі оптичної густини калібрувальних розчинів були побудовані калібрувальні прямі, які відображено на рисунках 2 та 3 для молібдену та ванадію відповідно.

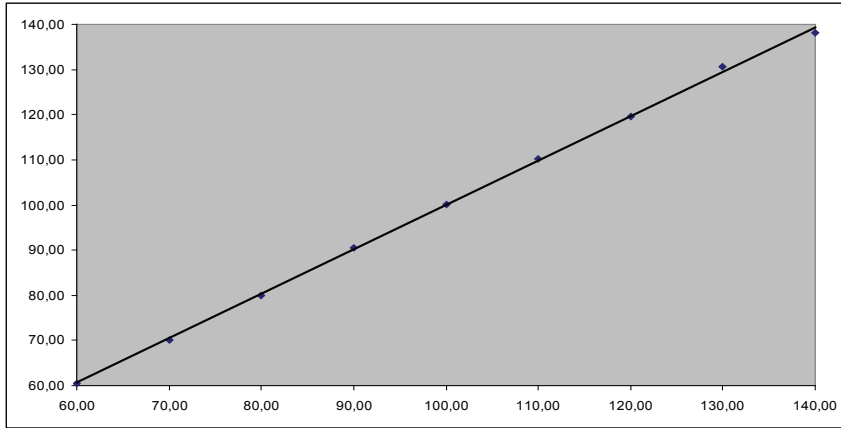


Рис. 1. Калібрувальна пряма залежності оптичної густини калібрувальних розчинів від концентрації молібдену в них

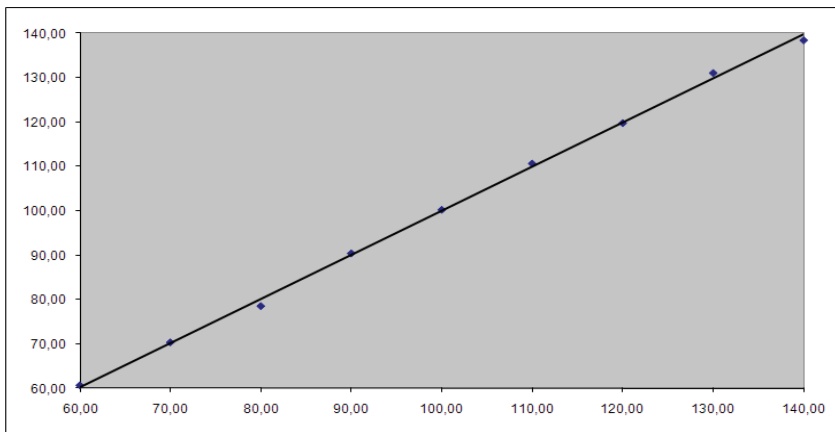


Рис. 2. Калібрувальна пряма залежності оптичної густини калібрувальних розчинів від концентрації ванадію в них

У таблицях 3 та 4 наведено визначення валідаційних критеріїв «лінійність» для молібдену та ванадію.
Т а б л и ц я 3

Визначення валідаційних критеріїв молібдену

Критичний параметр	Отриманий результат	Максимальне значення
Число ступенів свободи (f)	7	
Коефіцієнт Стьюдента ($t_{(0,95,0)}$)	2,36	
Кут нахилу ($b \pm S_b$)	$0,97 \pm 0,01$	
Вільний член ($a \pm S_a$)	$1,14 \pm 0,9$	<1,75
Залишкове стандартне відхилення (RSD_0)	0,62	<2,56
Коефіцієнт кореляції ($r_{(x)}$)	0,99972	>0,99118
Ліміт визначення	3,10	
Ліміт кількісного визначення	9,37	

Т а б л и ц я 4

Визначення валідаційних критеріїв ванадію

Критичний параметр	Отриманий результат	Максимальне значення
Число ступенів свободи (f)	7	
Коефіцієнт Стьюдента ($t_{(0,95,0)}$)	2,36	
Кут нахилу ($b \pm S_b$)	$0,99 \pm 0,01$	
Вільний член ($a \pm S_a$)	$0,53 \pm 1,3$	<2,47

Залишкове стандартне відхилення (RSD ₀)	0,95	<2,56
Коефіцієнт кореляції (r _(x))	0,99943	>0,99118
Ліміт визначення	4,33	
Ліміт кількісного визначення	13,13	

Із таблиць 3 та 4 можна судити про відповідність критерію «лінійність» вимогам ДФУ.

Внутрішньолабораторна точність. На підставі визначення молібдену та ванадію в зразках у три різні дні різними хіміками встановлено відсутність впливу випадкових факторів при відтворюванні методики в лабораторії: критерій прийнятності $\Delta Z_{\text{intra}} = 1.45 < \max \Delta_{\text{As}} = 3.20$.

Стабільність розчинів визначали протягом трьох годин. У визначений термін встановлено стабільність розчинів та їх придатність для проведення АЕС вимірювання: критерій прийнятності $1,28 < \delta_{\text{As}} = 3,20$.

В и с н о в к и

1. Впроваджено та валідовано методику одночасного кількісного визначення молібдену та ванадію методом атомно-емісійної спектроскопії з індукційно-пов'язаною плазмою в комбінованому полівітамінному препараті «Есмін».

2. Розроблена методика відповідає валідаційним вимогам за ДФУ.

1. USP-NF, actual edition, <851>.
2. European Pharmacopoeia, actual edition, 2.2.23.
3. British Pharmacopoeia, Appendix II D.

4. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 58-67. – Доповнення 1. – 2004. – С. 2-4. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85-100.

5. Гризодуб А.И. Валідація спектрофотометричних методик кількісного аналізу лікарських засобів в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. – 2002. – № 3 – С. 42–50.

6. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпрудников Ю.В. Стандартизованная процедура валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарта // Фармаком. – 2004. – № 3 – С. 3–17.

Надійшла до редакції 11.07.2011.

Р.В.Федоритенко, С.А.Шкляев, А.А.Цуркан, Е.П.Колядич

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ ОДНОВРЕМЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛИБДЕНА И ВАНАДИЯ В КОМБИНИРОВАННОМ ПОЛИЭЛЕМЕНТНОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ «ЭСМИН» МЕТОДОМ АЭС С ИСП

Ключевые слова: атомно-эмиссионная спектроскопия, индукционно-связанная плазма, валідація

Внедрена и валідована методика одночасного кількісного визначення молібдену та ванадію методом атомно-емісійної спектроскопії з індукційно-пов'язаною плазмою в комбінованому полівітамінному препараті «Есмін». Розроблена методика відповідає валідаційним вимогам Государственной Фармакопеи Украины.

R.V.Fedoritenko, S.A.Shklyayev, A.A.Tshurkan, E.P.Koliadich

VALIDATION OF PROCEDURE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF MOLYBDENUM AND VANADIUM IN THE COMPLEX MULTIVITAMIN MEDICINE “ESMIN” BY AAS WITH ICP

Key words: atomic emission spectrometry, inductively coupled plasma, validation

SUMMARY

It is introduced and validated a definition procedure for simultaneous determination of molybdenum and vanadium by a atomic emission method with inductively coupled plasma in the complex multivitamin medicine “Esmine”. The developed procedure meets requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.