

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ СЕЛЕНУ В КОМБІНОВАНОМУ ПОЛІВІТАМІННОМУ ЛІКАРСЬКОМУ ЗАСОБІ «ЕСМІН» МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОМЕТРІЇ З ГІДРИДНОЮ ПРИСТАВКОЮ

Ключові слова: атомно-абсорбційна спектроскопія, гідрид селену, валідація

Роль мікроелементів у життєдіяльності організму важко переоцінити. Тому більшою популярністю користуються комбіновані лікарські засоби, до складу яких окрім вітамінів входять мікроелементи, одним з яких є селен. Він відповідальний за регулювання захисних функцій та є антиоксидантом. Вміст селену в одиниці лікарського засобу є дуже низьким – на рівні 50 мкг у таблетці чи капсулі. Тому для контролю якості лікарських засобів з селеном використовують високоселективний та чутливий метод – атомно-абсорбційну спектроскопію (ААС), а саме – її комбінацію з переводом елемента, що визначається, у форму гідриду з подальшим розкладом в атомізаторі до атомів селену, поглинання атомного пару якого використовується для розрахунку вмісту цього мікроелементу. Цей метод використовують усі провідні фармакопії світу для визначення елементів у лікарських засобах [1–3].

Таким чином, метою даного дослідження було впровадження та валідація ААС-методики кількісного визначення селену в лікарському засобі «ЕСМІН», капсули.

Експериментальна частина

Об'єкти дослідження, застосовані реагенти та обладнання

Об'єкт дослідження – лікарський засіб «ЕСМІН» (капсули, дослідний зразок).

У роботі було використано реактиви і розчинники: ДСЗ селен – розчин з концентрацією селену (IV) 0,1 мг/мл; 1,5 % розчин хлористоводневої кислоти, 20 % розчин азотної кислоти, вода деіонізована.

Аналітичне обладнання: ААС-спектрометр «Perkin-Elmer AAnalyst 400» з гідридною приставкою MHS-15, ваги електронні «Precisa XT 220A», мірний посуд класу А.

Умови ААС-визначення: газова суміш – ацетилен : повітря (2,5 л/хв : 8,0 л/хв); джерело випромінювання – лампа з порожнистим Se-катодом під напругою 18 мА; довжина хвилі випромінювання – 196,0 нм; об'єм розчину – 10 мл; продувка – 50 сек; час реакції – 20 сек; післяреакційна затримка – 1 хв.

Валідація-методика визначення селену

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

Випробуваний розчин готували шляхом розчинення 250 мг вмісту капсул в 5 мл 20 % розчину азотної кислоти, доведенням до кипіння на водяній бані, доведенням об'єму розчину до 50 мл за допомогою води. Далі розчин розводять 1,5 % розчином хлористоводневої кислоти до концентрації селену 0,0005 мкг/мл.

Калібрувальні розчини готують із розчину ДСЗ селену за допомогою 1,5 % розчину хлористоводневої кислоти до концентрації селену в діапазоні 0,0002–0,001 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 селену.

Специфічність. Атомно-абсорбційний аналіз є дуже селективним, оскільки резонансні лінії елементів практично не перекриваються, а з використанням попередньої реакційної селективної модифікації проби, що відбувається в гідридній приставці, не ставить під сумнів селективність методики.

Таблиця 1

Визначення валідаційних критеріїв «правильність» та «збіжність»

№ 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	0,0005		0,5102		
1	0,0003	60,00	0,3087	60,50	100,83
2	0,00035	70,00	0,3577	70,10	100,14
3	0,0004	80,00	0,4071	79,80	99,75
4	0,00045	90,00	0,4612	90,40	100,44
5	0,0005	100,00	0,5102	100,00	100,00
6	0,00055	110,00	0,5620	110,16	100,14
7	0,0006	120,00	0,6091	119,39	99,49
8	0,00065	130,00	0,6658	130,50	100,38
9	0,0007	140,00	0,7041	138,00	98,57
Середнє $Z =$				99,97	
Стандартне відхилення $SD_z =$				0,66	
Довірчий інтервал $\Delta\% = t(95\%; f) \times SD_z =$				1,22	$< \max \Delta_{AS} = 6,40$
Перевірка незначущості систематичної похибки					
Систематична похибка $\delta[Z-100]=$				0,03	$< \max \delta = 2,048$
					$< \max \Delta_{AS} = 6,40$

Дані табл. 1 відповідають критеріям «правильність» та «збіжність» згідно з вимогами ДФУ.

Лінійність. На підставі оптичної густини калібрувальних розчинів було побудовано калібрувальну пряму, яку зображено на рис. 2.

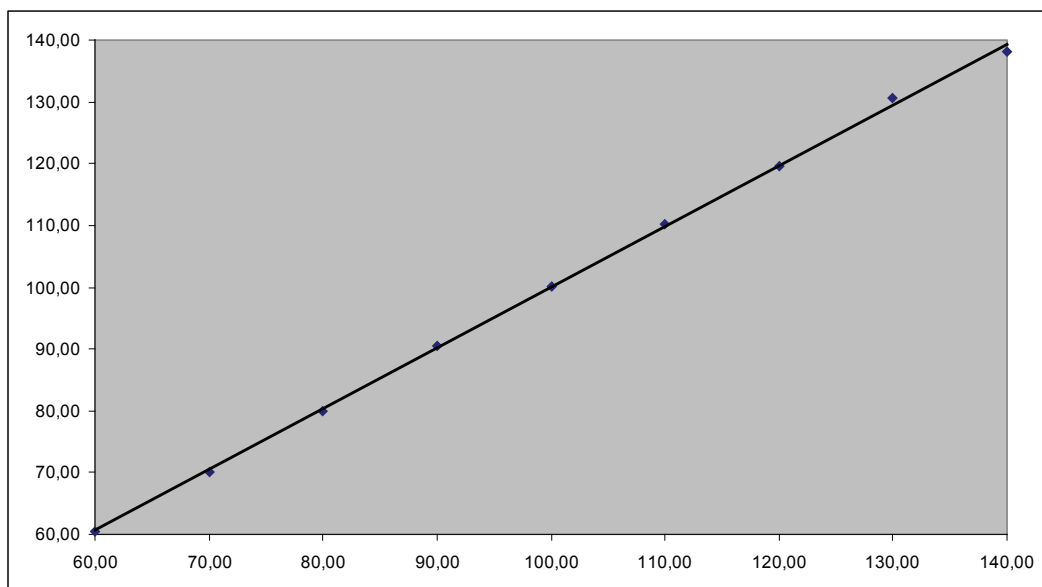


Рис. 2. Калібрувальна пряма залежності оптичної густини калібрувальних розчинів від концентрації в них селену

Т а б л и ц я 2

Визначення валідаційних критеріїв «лінійність»

Критичний параметр	Отриманий результат	Максимальне значення
Число ступенів свободи (f)	7	
Коефіцієнт Стьюдента ($t_{(0,95,f)}$)	2,36	
Кут нахилу ($b \pm S_b$)	$0,98 \pm 0,009$	
Вільний член ($a \pm S_a$)	$1,51 \pm 0,9$	<1,74
Залишкове стандартне відхилення (RSD_0)	0,66	<3,40
Коефіцієнт кореляції ($r_{(xy)}$)	0,99971	>0,99118
Ліміт визначення	3,09	
Ліміт кількісного визначення	9,36	

Дані з табл. 2 відповідають виконанню критерію «лінійність» згідно з вимогами ДФУ.

Внутрішньолабораторна точність. На підставі визначення селену в зразках у три різні дні різними хіміками встановлено відсутність впливу випадкових факторів при відтворюванні методики в лабораторії: критерій прийнятності $\Delta Z_{\text{intra}} = 3.95 < \max \Delta_{As} = 6.40$.

Стабільність розчинів визначали протягом трьох годин. У визначений термін встановлено стабільність розчинів та їх придатність для проведення ААС вимірювання: критерій прийнятності $1,28 < \delta_{As} = 6,40$.

В и с н о в к и

1. Впроваджено та валідовано методику кількісного визначення селену методом атомно-абсорбційної спектроскопії з використанням гідридної приставки в комбінованому полівітамінному препараті «Есмін».

2. Розроблена методика відповідає валідаційним вимогам згідно з 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-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 58-67. – Доповнення 1. – 2004. – С. 2-4. – Доповнення 2. – 2008. – С. 85-100.

5. Гризодуб А.І. // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42-50.

6. Гризодуб А.І., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Поддружников Ю.В. // Фармаком. – 2004. – № 3 – С. 3-17.

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

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕЛЕНА В КОМБИНИРОВАННОМ ПОЛИВИТАМИННОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ «ЭСМИН» МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ С ГИДРИДНОЙ ПРИСТАВКОЙ

Ключевые слова: атомно-абсорбционная спектроскопия, гидрид селена, валидация

Внедрена и валидирована методика количественного определения селена методом атомно-абсорбционной спектроскопии с применением гидридной приставки в комбинированном поливитаминном препарате «Эсмин». Разработанная методика соответствует валидационным требованиям согласно Государственной Фармакопее Украины.

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

VALIDATION OF PROCEDURE DETERMINATION OF SELENIUM IN THE COMPLEX MULTIVITAMIN MEDICINE “ESMIN” BY AAS WITH HYDRIDE SUPPLEMENT

Key words: atomic absorption spectrometry, selenium hydride, validation

SUMMARY

It is introduced and validated a definition procedure of selenium by a atomic absorption method with hydride supplement in the complex multivitamin medicine “Esmin”. The developed procedure meets requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.