**МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**ЦЕНТР СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЫ**

**Стандартные операционные процедуры по методу определения концентрации бисопролола в крови методом ГЖХ,**

СОСТАВИТЕЛИ: ЮКФА, Ордабаева С.К. д.фарм.н., профессор, Серикбаева А.Д., к.фарм.н.,доцент, Кулаева С.Ю. - магистрант

Астана, 2016 год

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

|  |  |
| --- | --- |
| 1. Наименование методики | Стандартные операционные процедуры по методу определения концентрации бисопролола в крови методом ГЖХ. |
| 2.Шифр специальности методики | 27.1 |
| 3. Информация об авторе (ах) (составителе (ях)) методики | Составитель: ЮКФА, Ордабаева С.К. – д.фарм.н., профессор, Серикбаева А.Д., к.фарм.н.,доцент, Кулаева С.Ю. - магистрант  Использовнные источники   1. 1. [Анализ острых отравлений некоторыми гипотензив-ными лекарственными веществами методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии](http://mass-spektrometria.ru/analis/) Е.С. Мельников, М.В. Белова, Г.В. Раменская**//** [«Масс-спектрометрия» Т. 13 № 1 (2014)](http://mass-spektrometria.ru/new-edition-13-1/) 2. 2. Царев H.И., Царев В. И., Катраков И.Б. Практическая Газовая хроматография: Учебно-методическое пособие для студентов химического факультета по спецкурсу «Газохроматографические Методы анализа».- Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000. −156 с. 3. 3. Comparison of the analysis of β-blockers by different techniques / E. Pujos et al. // Journal of Chromatography B. 2009. № 877. P. 4007–4014 4. 4. Медико-криминалистические исследования обстоятельств происшествия и оценки медицинской помощи/ В.И. Витер, О.Ю. Антонов, А.Р. Поздеев, Е.Х. Баринов//Медицинская экспертиза и право. – 2012. - № 2. – C.41-42.   5. Царев H.И., Царев В. И., Катраков И.Б. Практическая Газовая хроматография: Учебно-методическое пособие для студентов химического факультета по спецкурсу «Газохроматографические Методы анализа».- Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000. −156 с. |
| 4. Сущность методики | Сущность Определения бисопролола в биологических жидкостях с применением газо-жидкостной хроматографии после проведения дереватизации трихлоруксусной кислотой |
| 4.1 Экспертные задачи, решаемые методикой | Определение в крови концентрации бисопролола |
| 4.2 0бъекты исследования | Объекты биологические жидкости |
| 4.3 Методы исследования | Газовая хроматография |
| 4.4 Краткое поэтапное описание методики | 1.Подготока пробы.  2.Газохроматографическое исследование  3.Оценка результатов. |
| 5. Дата одобрения методики Ученым Советом ЦСМ МЮ РК | Протокол № 1 от 07 «ноября» 2016г. |
| 6. Информация о лице составившим паспорт методики | Составитель: Жуматаева Г.С. |

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

Область применения

Термины и обозначения

Основная часть

Заключение

Список использованных источников

Введение

Бисопролол, высокоселективный |3 ]-адреноблокатор. Он относится к лекарственным средствам, предназначенным для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС).

Препарат мегаболизируется по окислительному пути без последующей конъюгации; наблюдается незначительная метаболизация при "первом прохождении" через печень (па уровне примерно 10-15%*).* Все метаболиты обладают сильной полярностью. Основные метаболиты, обнаруживаемые в плазме крови и моче, не проявляют фармакологической актинности.

Принцип метода: метод основан на определении бисопролола по продуктам гидролиза с последующим газо-хроматографированием.

Данный СОП обеспечивает определение бисопролола в диапазоне концентраций 0,5-5 мкг мл.

Чувствительность 0,5 мкг/мл.

Материал для исследования

Объект исследования - кровь без гнилостных изменений, не консервированная - 0,5 cм. Забор образцов осуществляется согласно «Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы».

Область применения

«Стандартные операционные процедуры по методу определения концентрации бисопролола *а* крови» используется в качестве стандарта персоналом лаборатории, выполняющим данную процедуру, а также для обучения нового персонала.

Термины и обозначения

СОИ — стандартные операционные процедуры.

х,ч. - химически чистый.

СОИ — стандартные операционные процедуры.

х,ч. - химически чистый.

Реактивы

1. Вода дистиллированная

2. Спирт-изопроп иловый

3. 10 М хлороводородная кислота

4. 15%-ного нитрита натрия

5. Бисопролол

Оборудование

Газовый хроматограф

Весы лабораторные аналитические ГОС I 24104 2001

Мерные пипетки вместимостью 1, 5, Юсьг ГОСТ 20292-74Е

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 см3 ГОСТ 1770 74Е

Пениниллнноные флаконы

Процедура

**Количественный анализ:**

1. ***Построение калибровочного графика***

ГОСТ 33 04 >2014

ГОСТ 9805-84 ГОСТ 7730-74 ГОСТ 19906-74 ГФ РК, т.З, стр. 34

Градуировочную характеристику устанавливают методом аосолютнои градуировки. Для построения калибровочного графика используют серию стандартных растворов с содержанием вещества 0,5; 1,0; 2,0: 3,0; 4,0; э,0 м кг/мл.

Градуировочная характеристика выражает зависимость концентрацией исследуемого препарата в биологической жидкости и площадью хроматографического пика.

1. Полученные растворы далее переносят в пенициллиновые флаконы.

1. Добавляют к ним 3 мл ЮМ хлороводородной кислоты,
2. Перемешивают интенсивно в течение 5 мин;
3. Добавляют 0,5 мл спирта пропилового и 0,5 мл нитрита натрия;
4. Подвергают газохроматографическому исследованию.

Градуировку проверяют перед началом измерения и при смене партии реактивов (см. и.10).

***Анализ образца***

Исходный стандартный раствор с концентрацией I мкг/мл, вносят в пенициллиновый флакон

С помощью шприца добавляют 2 мл ЮМ хлороводородной кислоты

0,5 мл 0,4%-но! о спирта пропилового и 0,5 мл 15%-ного нитрита натрия

Перемешивают 5 мин и вводят в хроматографическую систему [2].

**Анализ**

Рассчитывают концентрацию бисопролола в плазме по графику, построенному на основании данных анализа стандартных растворов бисопролола.

Результат измерения содержания компонента в биопробе определяют путем трехкратного замера с учетом среднего квадратичного отклонения.

**Анализ данных**

Некоторые метаболиты бисопролола являются в этом тесте **помехами,** но концентрации этих соединений в плазме обычно низки.

Терапевтическая концентрация бисопролола в плазме крови - 5-10 мг, токсическая с 20-30 мг, летальная с л0 mi - 10, Внутренний оперативный контроль

Внутренний оперативный контроль качества резулыатов контрольного химического анализа осуществляют с целью получения оперативной информации о качестве анализов и принятия при необходимости оперативных мер по его повышению.

***Контроль*** ***сходимости выходных сигналов.***

Контроль сходимости выходных сигналов анализатора осуществляют при анализе градуировочных растворов, а также концентратов каждой пробы. Последовательно дозируют две порции раствора и регистрируют выходные сигналы (высоту или площади пиков) бисопролола., **полученные** при каждом вводе.

Сходимость измерения выходных сигналов ангшизатора (высоту, площади пика) признается удовлетворительной, если выполняется условие.

/Si-Si/< 0,01\*d\*S, где \_ u

Si и -площадь (высота) пика бисопролола на первой и второй

хро м ато грам м ах соо т ветс т ве н і I о;

S - среднее арифметическое значение значений Si и S2

*Оперативный контроль точности* [4,5, 6].

Оперативный контроль точности заключается в периодическом контроле погрешности измерений. Определяется планами контроля.

Образцами для контрол ч являются представительные прооы биосред, к которым делаются добавки в виде раствора. Отбирают 2 прооы и к одной из них делают добавку в виде раствора таким **образом,** что^ы их содержание увеличилось по сравнению с исходным на пО-150 %. Каждую пробу анализируют в точном соответствии с прописью методики и получают результат анализа исходной рабочей пробы X и рабочей пробы с дооавкои Хь Результаты анализа исходной рабочей пробы X и рабочей пробы с

I **+■**

добавкой X, получают в одинаковых условиях.

Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

|ХГХ-С|К <).95, где

С - добавка к пробе в виде раствора с концентрацией, мг/л; „

Ко ад- н орм ати в о п ерат и вног о к о нтро л я п orpe I и ноет и, мг/л

Норматив оперативного контроля погрешности (для Р=0\*95) рассчитывается:

.■ л'ц9; = >/а'.т' -Д’а- ■ где

iVw Д2\*\* характеристики погрешностей для исходной пробы и прооы с добавкой, мг/л.

Дх1 = 0,165 X] иДХ"0,165Х При превышении оперативного контроля погрешности эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и их

устраняют.

Критерий приемлемости для градуировочнои зависимости: коэффициент корреляции считают удовлетворительным, если *R >0,990.* Если R- МСцее 0,990, выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

Заключение.

Данный СОП обеспечивает определение бисопролола в диапазоне концентраций 0,5-5 мкг/мл.

Чувствительность 0,5 мкг/мл.

Список использованных источников

1. Анализ острых отравлений некоторыми гипотензивными лекарственными веществами методом газовой хроматографии /масс-спскгромілрии ЕС. Мельников, М.В. Белова, Г.В. Раменская// <Масс-спектрометрия» 1. 13 №

1(2014)

2. Царев Н.И., Царев В. И., Катраков И.Б. Практическая Газовая

хроматография: Учеб но-методическое пособие для студентов

химического факультета по спецкурсу «Газохроматоірафические методы анализа».- Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000, —156 с.

3. Comparison of the analysis of jj-bloekers by dilfcrent techniques / E. Pujos et al. *n* Journal of Chromatography B. 2009. № 877. P. 4007^0)4

4. Медико-криминалистические исследования обстоятельств происшествия и оценки медицинской помощи В.И, Витер, О.Ю. Антонов, Д-Р, Почдеев, Е.Х. Баринов.' Медицинская экспертиза и право. - 2012, - № 2, - С.41-42.

1. Царев П. И., Царев В. И.. Катраков И.Б. Практическая Газовая

хроматографим: Учебно-мет одическое пособие для студентов

химического факультета г:о спецкурсу «Газохроматографические Методы анализа»,- Барнаул: Изд-во Алг. у и-га, 2000, —156 с.