

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ КАЗЕННОЕ  
ПРЕДПРИЯТИЕ  
«ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ  
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН»



МЕТОДИКА

ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ БИСОПРОЛОЛА В КРОВИ  
МЕТОДОМ ГЖХ

(шифр специальности – 27.1)

## ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика определения концентрации бисопролола в крови методом ГЖХ
2. Шифр специальности методики	27.1(17)
3. Информация о разработчике методики	Ордабаева С.К. – д.фарм.н., профессор ЮКФА, Серикбаева А.Д. - к.фарм.н., доцент ЮКФА, Кулаева С.Ю. – магистрант ЮКФА
4. Сущность методики	Сущность определения бисопролола в биологических жидкостях с применением газо-жидкостной хроматографии после проведения дериватизации трихлоруксусной кислотой
4.1. Объекты исследования	Объекты биологические жидкости
4.2. Методы исследования	Газовая хроматография
4.3. Краткое поэтапное описание методики	1. Подготовка пробы 2. Газохроматографическое исследование 3. Оценка результатов
5. Дата одобрения методики Ученым Советом Центра судебной медицины МЮ РК	Протокол № 1 от 07.11.2016г.
6. Информация о составителях паспорта методики	Жуматаева Г.С. - судебно-медицинский эксперт высшей категории РГКП «Центр судебной медицины МЮ РК»

**СОДЕРЖАНИЕ**

<b>1. Введение</b>	<b>5</b>
<b>2. Область применения</b>	<b>5</b>
<b>3. Термины и обозначения</b>	<b>5</b>
<b>4. Основная часть</b>	<b>5</b>
<b>5. Заключение</b>	<b>7</b>
<b>6. Список использованных источников</b>	<b>8</b>

## 1. Введение

Бисопролол, высокоселективный  $\beta_1$ -адреноблокатор. Он относится к лекарственным средствам, предназначенным для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС).

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

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 см<sup>3</sup>. Забор образцов осуществляется согласно «Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы».

### 2. Область применения

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

### 3. Термины и обозначения

СОП - стандартные операционные процедуры.

х.ч. - химически чистый.

### Реактивы

1. Вода дистилированная

ГОСТ 33045-2014

2. Спирт-изопропиловый

ГОСТ 9805-84

3. 10 М хлороводородная кислота

ГОСТ 7730-74

4. 15%-ного нитрита натрия

ГОСТ 19906-74

5. Бисопролол

ГФ РК, т.3, стр. 340

### Оборудование

Газовый хроматограф

ГОСТ 24104—2001

Весы лабораторные аналитические

ГОСТ 20292-74Е

Мерные пипетки вместимостью 1, 5, 10 см<sup>3</sup>

ГОСТ 1770—74Е

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 см<sup>3</sup>

Пенициллиновые флаконы

### 4. Процедура

#### Количественный анализ:

##### 4.1. Построение калибровочного графика

Градуировочную характеристику устанавливают методом абсолютной градуировки. Для построения калибровочного графика используют серию стандартных растворов с содержанием вещества 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкг/мл.

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

1. Полученные растворы далее переносят в пенициллиновые флаконы;
2. Добавляют к ним 3 мл 10М хлороводородной кислоты;
3. Перемешивают интенсивно в течение 5 мин;
4. Добавляют 0,5 мл спирта пропилового и 0,5 мл нитрита натрия;
5. Подвергают газохроматографическому исследованию.

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

#### 1.2. Анализ образца

1. Исходный стандартный раствор с концентрацией 1 мкг/мл, вносят в пенициллиновый флакон
2. С помощью шприца добавляют 2 мл 10 М хлороводородной кислоты
3. 0,5 мл 0,4%-ного спирта пропилового и 0,5 мл 15%-ного нитрита натрия
4. Перемешивают 5 мин и вводят в хроматографическую систему [2].

#### 8. 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.

#### 9. 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 30 мг.

#### 10. Внутренний оперативный контроль

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

##### 1. 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 анализатора (высоту, площади пика) признается удовлетворительной, если выполняется условие:

$$|S_1 - S_2| \leq 0,01 * d * S, \text{ где}$$

$S_1$  и  $S_2$  - площадь (высота) пика бисопролола на первой и второй хроматограммах соответственно;

$S$  - среднее арифметическое значение значений  $S_1$  и  $S_2$ .

## 2. Оперативный контроль точности [4,5, 6].

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

Образцами для контроля являются представительные пробы биосред, к которым делаются добавки в виде раствора. Отбирают 2 пробы и к одной из них делают добавку в виде раствора таким образом, чтобы их содержание увеличилось по сравнению с исходным на 50-150 %. Каждую пробу анализируют в точном соответствии с прописью методики и получают результат анализа исходной рабочей пробы  $X$  и рабочей пробы с добавкой  $X_1$ . Результаты анализа исходной рабочей пробы  $X$  и рабочей пробы с добавкой  $X_1$  получают в одинаковых условиях.

Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

$$|X_1 - X - C| \leq K_{0.95}, \text{ где}$$

$C$  - добавка к пробе в виде раствора с концентрацией, мг/л;

$K_{0.95}$  - норматив оперативного контроля погрешности, мг/л

Норматив оперативного контроля погрешности (для  $P=0,95$ ) рассчитывается:

$$K_{0.95} = \sqrt{\Delta^2 x^1 - \Delta^2 x}, \text{ где}$$

$\Delta^2 x^1$  и  $\Delta^2 x$  - характеристики погрешностей для исходной пробы и пробы с добавкой, мг/л.

$$\Delta x^1 = 0,165 X_1 \text{ и } \Delta x = 0,165 X$$

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 градуировочной зависимости: коэффициент корреляции считают удовлетворительным, если  $R^2 \geq 0,990$ . Если  $R^2$  менее 0,990, выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

## 5. Заключение.

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

Чувствительность 0,5 мкг/мл.

**6. Список использованных источников**

1. Анализ острых отравлений некоторыми гипотензивными лекарственными веществами методом газовой хроматографии /масс-спектрометрии Е.С. Мельников, М.В. Белова, Г.В. Раменская// «Масс-спектрометрия» Т. 13 № 1 (2014)
2. Царев Н.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. Comparison of the analysis of  $\beta$ -blockers by different techniques / E. Pujos et al. // Journal of Chromatography B. 2009. № 877. P. 4007–4014
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. - С.41-42.
5. Царев Н.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.