

Экстракционно-хроматографическое определение метопролола в плазме крови

Жебендяев А.И., Ёришук В.М.

Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск
zhea21@mail.ru

Целью настоящей работы является разработка и валидация методики количественного определения метопролола в плазме крови, пригодной для проведения биоэквивалентных испытаний лекарственных средств, содержащих метопролол в лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств УО «ВГМУ».

В экстракционные пробирки помещали по 1,0 мл размороженной плазмы крови, 1 мл 0,05М раствора натрия гидроксида, 0,200 мл рабочего раствора внутреннего стандарта (раствор биспролола в воде, 400 нг/мл) и 3 мл экстракционной смеси (гептан – хлористый метилен – дихлорэтан – и-пропанол (24:10:2:1)).

Содержимое пробирок перемешивали на шейкере 7 минут и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. Органическую фазу (верхний слой) переносили в полипропиленовые пробирки и упаривали досуха в токе воздуха при температуре 35-40°C. Сухой остаток растворяли в 0,100 мл подвижной фазы и 20 мкл полученного раствора хроматографировали на хроматографе Waters.

Разделение осуществляли на колонке Zorbax Eclipse XDB-C18 4,6×150mm, 5 мкм в градиентном режиме, в качестве подвижных фаз использовали 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде и ацетонитрил. Детектирование осуществляли с помощью флуориметрического детектора (длина волны возбуждения/эмиссии: 225/310 нм). Содержание метопролола рассчитывали по градуировочному графику.

Линейный диапазон определяемых содержаний метопролола по разработанной методике составляет 10,1-322,5 нг/мл. Результаты определения метопролола в модельных образцах плазмы в разные дни (n=8; P=0,95) представлены в таблице:

Введено метопролола, нг/мл	C, С	Найдено метопролола, \bar{C} , нг/мл	Открываемость, R, %	RSD, %	t _{эксп}	t _{крит} (n=8, P=0,95)
10,1		10,5	104,2	5,95	2,0	2,3
161,2		160,4	99,5	2,81	0,6	2,3
322,5		323,0	100,2	2,42	0,2	2,3

Исследуемые образцы плазмы выдерживают не более двух циклов заморозки-разморозки. После пробоподготовки растворы устойчивы не менее 18 часов при хранении проб в автосамплере. После разморозки образцы плазмы стабильны не менее 1 часа. При хранении в жидком азоте образцы плазмы устойчивы не менее 1 месяца.

Таким образом, разработанная нами методика валидирована в соответствии с рекомендациями ГФ РБ и позволяет обеспечить надежное количественное определение лекарственного вещества в плазме крови человека.