

© А.Ю. Савченко<sup>1,2</sup>, И.И. Картамышев<sup>1</sup>, П.А. Жильцов<sup>3</sup>, Н.С. Дубовик<sup>1</sup>, 2024

## Разработка и валидация методики количественного определения метопролола сукцината в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением масс-спектров

<sup>1</sup>ООО «Фармацевтический научный центр «ИнноФармаТех», 117279, г. Москва, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ"», 115409, г. Москва, Российская Федерация;

<sup>3</sup>Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ"», 249039, г. Обнинск, Калужская область, Российская Федерация

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Метопролол – кардиоселективный блокатор  $\beta$ -адренорецепторов. Лекарственные препараты, в состав которых входит метопролол, обладают гипотензивным, антиангинальным, антиаритмическим действием. Умеренно опасен при поступлении внутрь, обладает общетоксическим действием. Метопролол производится в двух формах: в виде солей винной и янтарной кислот, ориентировочный безопасный уровень воздействия которых составляет  $0,3 \text{ мг/м}^3$ . Для обеспечения безопасности работников необходимо проводить санитарно-гигиенический контроль воздуха. Методы количественного анализа метопролола в воздухе рабочей зоны, представленные в актуальной научной литературе, позволяют проводить контроль только для солей метопролола в форме тартрата.

**Цель исследования** – разработка и валидация аналитической методики количественного определения метопролола сукцината в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением масс-спектров (ВЭЖХ-МС).

**Материал и методы.** Для анализа использовались стандартные образцы метопролола сукцината и образцы проб воздуха, отобранные на всех этапах жизненного цикла производства лекарственного средства метопролол. Хроматографическое разделение и детектирование проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity G6125B (Agilent Technologies, США), оснащенном термостатом колонок и образцов, дегазатором, насосом, автосамплером и масс-селективным детектором G6125B. Использовали колонку Waters Xbridge<sup>®</sup> C18 3,5 мкм;  $2,1 \times 30 \text{ мм}$  (Waters, Ирландия). Обработку первичных данных проводили при помощи программного обеспечения Open Lab CDS ChemStation Edition (Rev. C.01.07 SR3) (Agilent Technologies, США).

**Результаты.** Разработана и валидирована методика количественного определения метопролола сукцината в пробах воздуха методом ВЭЖХ-МС. При проведении валидации разработанной методики установлено, что валидационные характеристики (специфичность, линейность, точность и прецизионность, правильность, воспроизводимость) находятся в пределах критериев приемлемости. Аналитический диапазон методики составил  $0,1\text{--}10,0 \text{ мкг/мл}$  и позволяет применять разработанную методику для контроля среднесменных ПДК в воздухе рабочей зоны.

**Ограничения исследования.** Результаты исследования воздуха рабочей зоны применимы только к производству лекарственного средства метопролол в форме таблеток, исследование воздуха при синтезе и фасовке активной фармацевтической субстанции не проводилось.

**Заключение.** Проведён анализ проб воздуха с производства лекарственного средства метопролол и доказана безопасность условий труда.

**Ключевые слова:** метопролол; воздух рабочей зоны; методика анализа; валидация

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

**Для цитирования:** Савченко А.Ю., Картамышев И.И., Жильцов П.А., Дубовик Н.С. Разработка и валидация методики количественного определения метопролола сукцината в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением масс-спектров. *Токсикологический вестник*. 2024; 32(1): 31–41. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-1-31-41>

**Для корреспонденции:** *Картамышев Илья Игоревич*, магистр «Химия, физика и механика материалов», специалист отдела гигиенического нормирования ООО «Фармацевтический научный центр "ИнноФармаТех"», 117279, г. Москва, Россия. E-mail: [ikartamyshev@mail.ru](mailto:ikartamyshev@mail.ru)

**Участие авторов:** *Савченко А.Ю.* – концепция и дизайн исследования; *Картамышев И.И.* – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование, сбор и обработка материала, статистическая обработка; *Жильцов П.А., Дубовик Н.С.* – написание текста, сбор данных литературы. *Все соавторы* – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование финансировалось ООО «АстраЗенека Индастриз».

Поступила в редакцию: 12 декабря 2023 / Принята в печать: 28 декабря 2023 / Опубликовано: 29 февраля 2024

© Alla Yu. Savchenko<sup>1,2</sup>, Ilya I. Kartamyshev<sup>1</sup>, Pavel A. Zhiltcov<sup>3</sup>, Natalya S. Dubovik<sup>1</sup>, 2024

# Development and validation of a method for the quantitative determination of metoprolol succinate in the air of the working area by high-performance liquid chromatography using mass spectra

<sup>1</sup>InnoPharmaTech Pharmaceutical Research Center LLC, 117279, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup>National Research Nuclear University MEPhI, 115409, Moscow, Russian Federation;

<sup>3</sup>Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, 249039, Obninsk, Kaluga Region, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction.** Metoprolol is a cardioselective blocker of  $\beta$ -adrenergic receptors. Drugs containing metoprolol have hypotensive, antianginal, antiarrhythmic effects. Moderately dangerous when taken orally, has a general toxic effect. Metoprolol is produced in two forms: in the form of salts of tartaric and succinic acids, the approximate safe level of exposure to which is  $0.3 \text{ mg/m}^3$ . To ensure the safety of workers, it is necessary to carry out sanitary and hygienic air control. Methods for the quantitative analysis of metoprolol in the air of the working area, presented in the current scientific literature, allow monitoring only for metoprolol salts in the form of tartrate.

*The aim of the study* is to develop and validate an analytical method for the quantitative determination of metoprolol succinate in the air of the working area by HPLC-MS.

**Materials and methods.** For the analysis, standard samples of metoprolol succinate and air samples taken at all stages of the life cycle of the production of the drug metoprolol were used. Chromatographic separation and detection were performed on an Agilent 1260 Infinity G6125B high performance liquid chromatograph (Agilent Technologies, USA) equipped with a column and sample thermostat, a degasser, a pump, an autosampler, and a G6125B mass selective detector. A Waters Xbridge<sup>®</sup> C18  $3.5 \mu\text{m}$  column was used;  $2.1 \times 30 \text{ mm}$  (Waters, Ireland). Primary data were processed using Open Lab CDS ChemStation Edition (Rev. C.01.07 SR3) software (Agilent Technologies, USA).

**Results.** A method for the quantitative determination of metoprolol succinate in air samples by HPLC-MS has been developed and validated. During the validation of the developed methodology, it was found that the validation characteristics (specificity, linearity, accuracy and precision, correctness, reproducibility) are within the acceptance criteria. The analytical range of the technique was  $0.1\text{--}10.0 \mu\text{g/ml}$  and allows the developed technique to be used to control the average shift MPCs in the air of the working area.

**Limitations.** The results of the study of the air in the working area are applicable only to the production of the drug metoprolol in the form of tablets; the study of air during the synthesis and packaging of the active pharmaceutical substance was not carried out.

**Conclusion.** An analysis of air samples from the production of the drug metoprolol was carried out and the safety of working conditions was proved.

**Keywords:** *metoprolol; air of the working area; analysis technique; validation*

**Compliance with ethical standards.** This study does not require the conclusion of a biomedical ethics committee or other documents.

**For citation:** Savchenko A.Yu., Kartamyshev I.I., Zhiltcov P.A., Dubovik N.S. Development and validation of a method for the quantitative determination of metoprolol succinate in the air of the working area by high-performance liquid chromatography using mass spectra. *Toksikologicheskiy vestnik / Toxicological Review*. 2024; 32(1): 31–41. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-1-31-41> (In Russian)

**For correspondence:** Ilya I. Kartamyshev, Specialist of the Department of Hygienic Rationing of InnoPharmaTech LLC, 117279, Moscow, Russian Federation. E-mail: ikartamyshev@mail.ru

**Contribution of authors:** Savchenko A.Yu. – concept and design of the study; Kartamyshev I.I. – the concept and design of the study, writing the text, editing, collection and processing material, statistical analysis; Zhiltcov P.A., Dubovik N.S. – writing the text, collecting literature data. All co-authors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study was funded by AstraZeneca Industries LLC.

Received: December 12, 2023 / Accepted: December 28, 2023 / Published: February 29, 2024

## Введение

В настоящее время селективные бета-адреноблокаторы (БАБ) имеют большую распространённость, что связано с их широким диапазоном фармакологической активности. В клинической практике препараты данной группы широко применяются при различных сердечно-сосудистых заболеваниях более 50 лет. Кроме антигипертензивного действия, БАБ оказывают антиангинальный и кардиопротективный эффект за счет уменьшения потребности миокарда в кислороде и снижают риск внезапной смерти у больных, перенесших инфаркт миокарда, от жизнеугрожающих нарушений ритма сердца за счет повышения порога фибрилляции. Дополнительной нишей применения БАБ в последние годы стало их использование при хронической сердечной недостаточности (ХСН), поскольку была убедительно доказана их способность снижать смертность и замедлять прогрессирование ХСН [1].

Одним из представителей упомянутого класса является метопролол – (#)-1-(Изопропиламино)-3-[пара-(метоксиэтил)фенокси]-2-пропанол, структурная формула которого представлена на рис. 1. При передозировке данным препаратом, могут отмечаться: выраженная тяжелая синусовая брадикардия (нарушение атриовентрикулярной проводимости, вплоть до остановки сердца (купировается применением β-адреномиметиков, например изадрина), головокружение, цианоз, выраженное снижение артериального давления, аритмия, желудочковая экстрасистолия, бронхоспазм, обморок, при острой передозировке – кардиогенный шок, потеря сознания, кома, кардиалгия.

Метопролол производится в двух формах: в виде солей винной и янтарной кислот, ориентировочный безопасный уровень воздей-

ствия которых составляет 0,3 мг/м<sup>3</sup> согласно СанПиН 1.2.3685–21<sup>1</sup>. Для обеспечения безопасности работников необходимо проводить санитарно-гигиенический контроль воздуха. Методы количественного анализа метопролола в воздухе рабочей зоны, представленные в актуальной научной литературе, позволяют проводить контроль только для солей метопролола в форме тартрата. В связи с этим исследование, направленное на разработку методики контроля воздуха рабочей зоны, загрязненного метопрололом сукцинатом является актуальным.

*Цель исследования* – разработка и валидация аналитической методики количественного определения метопролола сукцината в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением масс-спектров (ВЭЖХ-МС).

## Материал и методы

В процессе исследования были использованы следующие реактивы: ацетонитрил, класс «LC-MS» (Biosolve, Европейский союз); ацетонитрил, класс «х.ч.» (Химмед, Россия); вода очищенная, класс «1»; муравьиная кислота «98% pure» (PanReac AppliChem, Испания).

В качестве стандартного образца использовался метопролол сукцинат, с содержанием основного вещества 99,6%, Швеция, серия 2948.

Хроматографическое разделение и детектирование проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity G6125B (Agilent Technologies, США), оснащенном термостатом колонок и образцов, дегазатором, насосом, автосамплером и масс-селективным детектором G6125B. Использовали колонку Waters Xbridge® C18 3,5 мкм; 2,1 × 30 мм (Waters, Ирландия). Обработку первичных данных проводили при помощи программного обеспечения

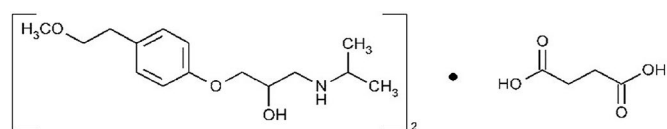


Рис. 1. Структурная формула метопролола сукцината.

Fig. 1. Structural formula of metoprolol succinate.

<sup>1</sup> СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». Утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. N 2. М.; 2021.

Open Lab CDS ChemStation Edition (Rev. C.01.07 SR3), Agilent Technologies, США.

Условия хроматографического разделения и детектирования: хроматографическая колонка Waters Xbridge® C18 3,5 мкм; 2,1 × 30 мм (Waters, Ирландия); температура термостата колонок: 40 °С; подвижная фаза: 0,2% раствор муравьиной кислоты в воде очищенной (элюент А) и ацетонитрил (элюент В) в соотношении компонентов соответственно 85/15; скорость потока подвижной фазы: 0,4 мл/мин.; объём вводимой пробы: 5 мкл; время удерживания метопролола сукцинат: около 1,1 мин; время регистрации хроматограммы: 0,0–3,0 мин.

Параметры источника ионизации (электро-спрей): распыляющий газ: 414 кПа; осушающий газ: 11,0 л/мин.; линия десольватации: 300 °С; напряжение на капилляре: +1250 В/–1250 В; условия детектирования метопролола сукцината: 268,2 m/z.

## Результаты

**Разработка хроматографической методики.** Количественное определение содержания осуществлялось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для детектирования исследуемого вещества применялся масс-спектрометрический детектор, который обладает очень высокой чувствительностью и селективностью [2]. При разработке методики количественного определения метопролола сукцината в пробах воздуха рабочей зоны было установлено, что для проведения анализа подходит колонка Waters Xbridge® C18 3,5 мкм; 2,1 × 30 мм. Данная колонка позволяет сократить время удерживания до 1,1 мин.

**Подготовка к анализу.** Приготовление элюента А подвижной фазы: 0,2% раствор муравьиной кислоты: в мерную колбу вместимостью 1 литр помещали около 900 мл воды класса 1 и прибавляли 2,00 мл муравьиной кислоты. Доводили до метки водой класса 1 и перемешивали. Перед использованием подвижную фазу фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазировали. Хранили в хорошо укушенной таре в защищенном от света месте.

**Приготовление растворителя.** Для приготовления растворителя в колбу вносили с помощью мерного цилиндра 200 мл ацетонитрила х.ч. и 800 мл воды класса 1. Получившуюся смесь перемешивали и дегазировали. Срок годности раствора – 1 нед.

**Приготовление исходного стандартного раствора.** Для приготовления исходного стандартного раствора метопролола сукцината 50,2 мг стандартного образца метопролола сукцината (что соответствует 50,0 мг метопролола сукцината с

учетом чистоты стандарта) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и прибавляли около 50 мл растворителя и перемешивали до полного растворения. Далее доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали. Концентрация метопролола сукцината в растворе составила 500,0 мкг/мл.

**Приготовление рабочего стандартного раствора № 1.** Рабочий стандартный раствор № 1 готовили путём разведения исходного стандартного раствора метопролола сукцината. 10 мл исходного стандартного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл. Далее доводили объем раствора растворителем до метки и перемешивали. Концентрация метопролола сукцината в растворе составила 100,0 мкг/мл.

**Приготовление калибровочных образцов.** Калибровочные образцы готовили путем разведения рабочего стандартного раствора № 1. Приготовление калибровочных растворов проводили согласно таблице 1.

**Отбор проб воздуха** проводили с учётом требований ГОСТ 12.1.005–88<sup>2</sup> с изменением № 1 «ССБТ Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны» и Руководства Р 2.2.2006–05<sup>3</sup> (Приложение 9) «Общие методические требования к организации и проведению контроля содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны», раздел 2 – контроль соответствия среднесменным предельно допустимым концентрациям.

Воздух с объёмным расходом 2 дм<sup>3</sup>/мин аспирировали в течение всех производственных стадий через фильтр, помещенный в фильтродержатель. Отобранные пробы хранились в соответствии с исследованием на стабильность метопролола сукцината на фильтрах не более 90 дней.

**Валидацию методики** проводили в соответствии с требованиями ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания по следующим параметрам: специфичность, линейность, точность и прецизионность, правильность, воспроизводимость.

**Специфичность.** Для оценки специфичности изучали модельный раствор метопролола сукцината с концентрацией 100,0 нг/мл, подвижную

<sup>2</sup> ГОСТ 12.1.005–88 Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны (утв. и введён в действие Постановлением Госстандарта СССР от 29.09.1988 N 3388). М.: Издательство стандартов; 1988..

<sup>3</sup> Р 2.2.2006–05. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда. Утверждено Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г.Онищенко 29 июля 2005 г. М.; 2005..

Таблица 1 / Table 1

**Приготовление рабочих стандартных растворов метопролола сукцината**  
Preparation of working standard solutions of metoprolol succinate

№	Объём рабочего раствора №1 с концентрацией метопролола сукцината 100 мкг/мл, мл	Массовая концентрация метопролола сукцината в градуировочном растворе, нг/мл	Объём растворителя (вода-ацетонитрил 8:2), мл
0	0,00	0,0	10,00
1	0,01	100,0	9,99
2	0,02	200,0	9,98
3	0,05	500,0	9,95
4	0,10	1000,0	9,90
5	0,20	2000,0	9,80
6	0,40	4000,0	9,60
7	0,60	6000,0	9,40
8	0,80	8000,0	9,20
9	1,00	10000,0	9,00

фазу и растворитель. Готовили растворы и проверяли не искажают ли они результаты анализа.

Было установлено, что площадь пика (шума) на хроматограммах растворителя и подвижной фазы не превышает 15% от площади пика аналита на уровне предела количественного определения. Следовательно, полученные результаты соответствуют критериям приемлемости, и методика является специфичной. Результаты оценки методики по параметру «специфичность» представлены в табл. 2.

**Линейность.** В рамках валидации проводили анализ калибровочных образцов № 1–9, соответствующих калибровочным уровням, указан-

ным в табл. 1. По полученным значениям были построены калибровочные графики в координатах концентрации и площади пика метопролола сукцината. Результаты представлены в табл. 3–4.

Для оценки линейности методики была проведена дополнительная оценка калибровочной зависимости площади пика метопролола сукцината от концентрации его растворов, представленной на рис. 2, определены значения коэффициента корреляции  $r^2 = 0,9972$ , угла наклона градуировочной кривой  $a = 211,29$  и длина отрезка по оси  $y$  ( $y(b) = 71636,26$ ), приведённые в табл. 5 с помощью программного обеспечения Excel. На рис. 3 приведён калибровочный график с уравнением калибровочной кривой и коэффициентом корреляции, рассчитанные при помощи валидированного программного обеспечения Open Lab CDS ChemStation Edition (Rev. C.01.07 SR3), которое в дальнейшем использовалось для обработки всех результатов, так как позволяет применять весовые факторы для калибровочных образцов и различные виды калибровочных графиков (linear, quadratic, cubic и тд.).

Линейность методики является удовлетворительной, так как величина коэффициента корреляции полученной зависимости больше 0,99.

**Правильность.** Оценка правильности проводилась на трех модельных растворах метопролола сукцината с концентрациями 100,0 нг/мл, 5000,0 нг/мл, 10000,0 нг/мл. Модельные растворы готовили для каждого уровня концентраций. Каждый раствор анализировали по три раза.

Калибровочные растворы для расчета концентрации в образцах для оценки правильности методики готовили согласно схеме, указанной в табл. 1.

Таблица 2 / Table 2

**Результаты оценки параметра «Специфичность»**  
Results of the evaluation of the parameter "Specificity"

Образец	Время удерживания, мин	Площадь пика	Отношение площади пика к нижнему пределу количественного определения, %
Модельный раствор метопролола сукцината с концентрацией 100,0 нг/мл	1,141	39489,762	97,4
	1,152	39106,02	96,5
	1,167	40703,039	100,4
	1,164	41206,039	101,7
	1,167	42176,234	104,0
Растворитель	–	–	–
	–	–	–
Подвижная фаза	–	–	–
	–	–	–

Таблица 3 / Table 3

**Результаты оценки параметра «линейность» по показателю «время удерживания»**  
**Results of the evaluation of the parameter "linearity" in terms of "retention time"**

№	Концентрация стандартного образца метопролола сукцината, нг/мл	Время удерживания, мин					Среднее значение времени удерживания, мин
		t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	
1	100,00	1,150	1,137	1,151	1,154	1,138	1,146
2	200,00	1,153	1,151	1,148	1,144	1,142	1,148
3	500,00	1,142	1,147	1,140	1,144	1,144	1,143
4	1000,00	1,144	1,123	1,134	1,130	1,138	1,134
5	2000,00	1,134	1,134	1,146	1,137	1,143	1,139
6	4000,00	1,129	1,136	1,132	1,127	1,110	1,127
7	6000,00	1,110	1,116	1,123	1,131	1,119	1,120
8	8000,00	1,104	1,096	1,107	1,109	1,109	1,105
9	10000,00	1,101	1,101	1,099	1,098	1,093	1,098

Таблица 4 / Table 4

**Результаты оценки параметра «линейность» по показателю «площадь пика»**  
**Results of the evaluation of the parameter "linearity" in terms of "peak area"**

№	Концентрация стандартного образца метопролола сукцината, нг/мл	Площадь пика					Среднее значение площади пика
		S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	
1	100,00	47232,828	46828,824	46930,766	46467,703	46101,074	46712,239
2	200,00	70338,055	69173,875	68762,555	68836,273	69778,453	69377,842
3	500,00	149155,031	147896,609	147244,891	147961,219	148121,688	148075,888
4	1000,00	286906,281	288042,906	287834,000	287210,938	287813,188	287561,463
5	2000,00	525017,125	527728,000	527007,625	533186,188	527715,000	528130,788
6	4000,00	1008902,375	1009958,688	1017811,250	1019169,813	1020159,313	1015200,288
7	6000,00	1396904,000	1411091,000	1405385,750	1394927,875	1405128,875	1402687,500
8	8000,00	1758010,250	1782798,875	1763508,875	1763296,250	1773357,875	1768194,425
9	10000,00	2092402,500	2096690,750	2108916,750	2100851,250	2089424,500	2097657,150

Таблица 5 / Table 5

**Растворы для оценки параметра «правильность»**  
**Solutions for evaluating the parameter "correctness"**

Код раствора для оценки правильности	Объём раствора метопролола сукцината с концентрацией 100,0 мкг/мл, мл	Массовая концентрация метопролола сукцината в растворе, нг/мл
L	0,01	100,0
M	0,50	5000,0
H	1,00	10000,0

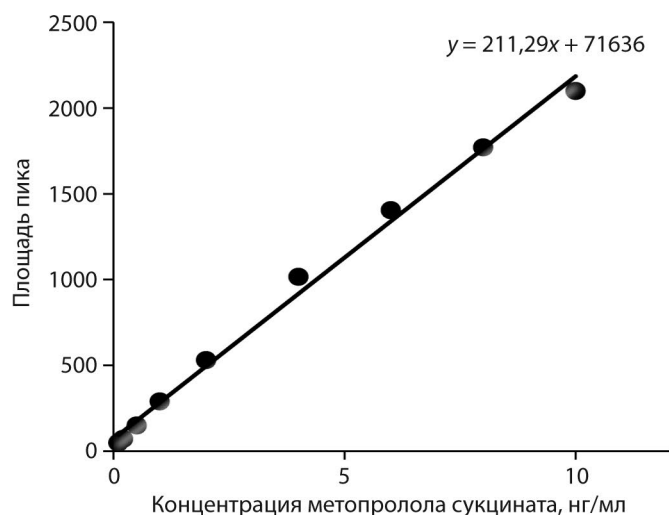


Рис. 2. Калибровочный график № 1.

Fig. 2. Calibration graph No. 1.

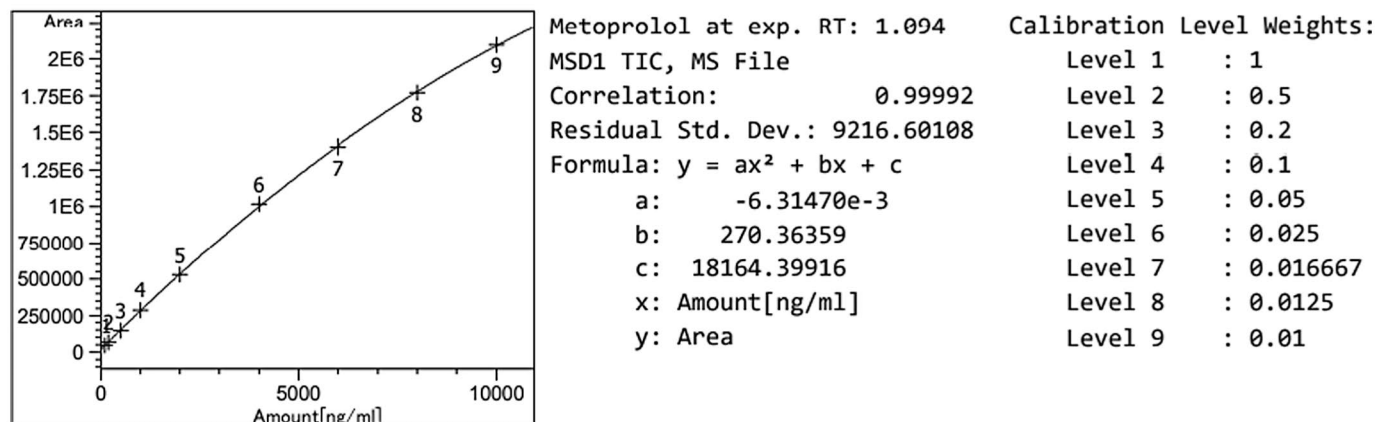


Рис. 3. Калибровочный график № 2.

Fig. 3. Calibration graph No. 2.

Таблица 6 / Table 6

**Отклонения концентраций метопролола  
сукцината в калибровочных образцах  
от их номинальных значений при оценке  
параметра «правильность»**

**Deviations of the concentrations of metoprolol succinate  
in calibration samples from their nominal values when  
assessing the parameter "correctness"**

№ раствора	Концентрация раствора, нг/мл	Расчитанная концентрация раствора, нг/мл	Отклонение от номинального, %
1	100,00	85,62	-14,38
2	200,00	213,21	6,61
3	500,00	530,87	6,17
4	1000,00	1038,15	3,81
5	2000,00	2001,75	0,09
6	4000,00	3932,17	-1,70
7	6000,00	5911,70	-1,47
8	8000,00	7970,55	-0,37
9	10000,00	10135,64	1,36

Результаты оценки калибровочной кривой при валидации методики по параметру «правильность» приведены в табл. 5.

Результаты оценки правильности методики представлены в табл. 6, 7. Процент восстановления находится в диапазоне  $100 \pm 15\%$ , что соответствует критерию приемлемости.

В табл. 8 приведены результаты расчёта доверительных интервалов для оценки критерия правильности. Стандартная ошибка среднего составляет 1,869, что соответствует критериям приемлемости.

Результаты соответствуют критериям приемлемости.

**Сходимость.** Оценку сходимости проводили по результатам анализа трех модельных образцов растворов метопролола сукцината с концентрациями 5000,0 нг/мл. Готовили растворы, отбирали пробы на разных уровнях пробирки: верхняя часть, середина и нижняя часть. Каждый образец анализировали по 3 раза.

Таблица 7 / Table 7

**Результаты оценки правильности методики  
Results of assessing the correctness of the methodology**

Уровень	Концентрация метопролола сукцината, нг/мл	Площадь пика	X найденное, нг/мл	Процент восстановления Z, %	Средний процент восстановления $Z_{ср}$ , %
L	100,00	36102,465	86,93	86,93	86,17
	100,00	35704,316	85,44	85,44	
	100,00	35894,102	86,15	86,15	
M	5000,00	1132588,875	4750,16	95,00	96,92
	5000,00	1161195,875	4890,94	97,82	
	5000,00	1162492,625	4897,36	97,95	
H	10000,00	1980051,500	9699,63	97,00	97,50
	10000,00	1985937,500	9742,27	97,42	
	10000,00	1995002,625	9808,29	98,08	

Таблица 8 / Table 8

**Результаты расчёта доверительных интервалов для оценки правильности методики**  
**Results of calculating confidence intervals for assessing the correctness of the methodology**

Параметр	Значение
Количество	9
Среднее значение Z	93,53
Дисперсия (S <sup>2</sup> )	31,426
Среднее квадратичное отклонение (СКО, S)	5,606
T-критерий Стьюдента для 95% (табличная величина)	2,306
Коэффициент вариации (CV, %)	5,994
Стандартная ошибка среднего (SEM)	1,869
Доверительный интервал (±ΔZ)	4,309
Нижняя граница диапазона измерения	89,22
Верхняя граница диапазона измерения	97,84

Таблица 9 / Table 9

**Отклонения концентраций метопролола сукцината в калибровочных образцах от их номинальных значений при оценке параметра «сходимость»**

**Deviations of the concentrations of metoprolol succinate in the calibration samples from their nominal values when assessing the "convergence" parameter**

№ раствора	Концентрация раствора, нг/мл	Рассчитанная концентрация раствора, нг/мл	Отклонение от номинального, %
1	100,00	96,706	-3,29
2	200,00	184,508	-7,75
3	500,00	516,29	3,26
4	1000,00	1117,238	11,72
5	2000,00	1997,126	-0,14
6	4000,00	3858,436	-3,54
7	6000,00	5902,114	-1,63
8	8000,00	8015,819	0,20
9	10000,00	10133,835	1,34

Таблица 10 / Table 10

**Результаты оценки сходимости методики**  
**Method convergence results**

№	Проба из нижней части пробирки		Проба из серединной части пробирки		Проба из верхней части пробирки	
	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл
1	1,096	4945,421	1,100	4883,595	1,095	4907,087
2	1,096	4887,519	1,093	4883,185	1,097	5006,927
3	1,096	4925,175	1,096	4915,365	1,088	4993,941
Среднее значение	1,096	4919,372	1,096	4894,048	1,093	4969,318
C, нг/мл	4919,37		4894,05		4969,32	
Среднее значение C, нг/мл	4927,58					
Стандартное отклонение	38,30					
RSD, %	0,78					

Таблица 11 / Table 11

**Хроматографические параметры и отклонения концентраций метопролола сукцината в калибровочных образцах от их номинальных значений при оценке параметра «воспроизводимость» методики (химик 1)**

**Chromatographic parameters and deviations of the concentrations of metoprolol succinate in calibration samples from their nominal values when assessing the "reproducibility" parameter of the method (chemist 1)**

№	t, мин	Площадь пика	C теоретическая, нг/мл	C найденная, нг/мл	Отклонение, %
1	1,128	38996,219	100,00	87,28	-12,72
2	1,124	76108,023	200,00	214,59	7,29
3	1,100	163912,000	500,00	519,51	3,90
4	1,143	306813,906	1000,00	1027,56	2,76
5	1,133	572795,375	2000,00	2016,46	0,82
6	1,101	1047567,000	4000,00	3955,13	-1,12
7	1,097	1460842,625	6000,00	5895,36	-1,74
8	1,090	1830586,750	8000,00	7947,47	-0,66
9	1,077	2152452,250	10000,00	10166,29	1,66
Среднее значение, мин.	1,122				
Стандартное отклонение	0,017				
RSD, %	1,557				
Норма, %	< 2,0				

Таблица 12 / Table 12

**Результаты оценки воспроизводимости методики (химик 1)**  
**Method Reproducibility Results (Chemist 1)**

№	1 раствор		2 раствор		3 раствор		4 раствор		5 раствор	
	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл
1	1,091	4764,49	1,104	4784,97	1,192	4672,13	1,097	4731,08	1,094	4728,55
2	1,089	4717,52	1,103	4841,79	1,162	4696,02	1,092	4707,65	1,092	4746,72
3	1,093	4701,16	1,155	4784,52	1,097	4816,09	1,095	4689,21	1,090	4744,84
Среднее значение по растворам	1,09	4727,72	1,12	4803,76	1,15	4728,08	1,09	4709,32	1,09	4740,04
Среднее значение, нг/мл	4741,78									
Стандартное отклонение	36,34									
RSD, %	0,77									

Таблица 13 / Table 13

**Хроматографические параметры и отклонения концентраций метопролола сукцината в калибровочных образцах от их номинальных значений при оценке параметра «воспроизводимость» методики (химик 2)****Chromatographic parameters and deviations of the concentrations of metoprolol succinate in calibration samples from their nominal values when assessing the "reproducibility" parameter of the method (chemist 2)**

№	t, мин	Площадь пика	C теоретическая, нг/мл	C найденная, нг/мл	Отклонение, %
1	1,152	36577,430	100,00	87,29	-12,71
2	1,152	69782,469	200,00	208,54	4,27
3	1,147	156445,875	500,00	528,62	5,72
4	1,140	291505,188	1000,00	1038,45	3,85
5	1,138	546317,938	2000,00	2040,65	2,03
6	1,129	984949,063	4000,00	3915,22	-2,12
7	1,126	1400077,250	6000,00	5924,25	-1,26
8	1,107	1738177,000	8000,00	7811,12	-2,36
9	1,106	2105188,500	10000,00	10282,90	2,83
Среднее значение, мин	1,133				
Стандартное отклонение	0,018				
RSD, %	1,548				
Норма, %	< 2,0				

Таблица 14 / Table 14

**Результаты оценки воспроизводимости методики (химик 2)**  
**Method Reproducibility Results (Chemist 2)**

№	1 раствор		2 раствор		3 раствор		4 раствор		5 раствор	
	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл	t, мин	C, нг/мл
1	1,119	4890,08	1,094	4768,85	1,138	4738,54	1,141	4863,59	1,208	4823,64
2	1,112	4909,85	1,100	4762,26	1,153	4760,34	1,128	4851,52	1,197	4769,98
3	1,090	4920,83	1,134	4789,31	1,133	4776,73	1,139	4877,22	1,111	4784,59
Среднее значение по растворам	1,11	4906,92	1,11	4773,47	1,14	4758,53	1,14	4864,11	1,17	4792,74
Среднее значение, нг/мл	4819,15									
Стандартное отклонение	63,61									
RSD, %	1,32									

Таблица 15 / Table 15

**Оценка результатов внутрилабораторной воспроизводимости методики**  
**Evaluation of the results of intralaboratory reproducibility of the method**

Параметр	Значение
Среднее для результатов двух аналитиков, нг/мл	4780,47
Стандартное отклонение для результатов двух аналитиков, %	63,62
RSD результатов для общей выборки, %	1,33

Таблица 16 / Table 16

**Результаты анализа метопролола сукцината в пробах воздуха**  
**The results of the analysis of metoprolol succinate in air samples**

№	Концентрация в анализируемой пробе, мкг/см <sup>3</sup>	Концентрация в воздухе, мкг/м <sup>3</sup>	% от ориентировочного безопасного уровня воздействия	Контроль безопасного уровня
1	0,037	0,882	0,29%	Соответствует
2	Н/о*	Н/о	Н/о	Соответствует
3	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
4	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
5	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
6	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
7	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
8	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
9	0,003	0,027	0,09%	Соответствует
10	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
11	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
12	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
13	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
14	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
15	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
16	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
17	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует
18	Н/о	Н/о	Н/о	Соответствует

Примечание. \* Н/о – не обнаружено или ниже предела обнаружения.

Для полученных значений концентраций были рассчитаны отклонения концентраций аналита в калибровочных образцах от их номинальных значений при оценке параметра «сходимость», приведённые в табл. 9. Была рассчитана величина относительного стандартного отклонения (RSD, %), приведённая в табл. 10. Полученные результаты позволяют судить, что сходимость методики анализа удовлетворительна, поскольку относительное стандартное отклонение соответствует критериям приемлемости (не более 15%).

**Воспроизводимость.** Внутрилабораторную воспроизводимость оценивали по результатам, полученным двумя аналитиками. Каждым аналити-

ком были приготовлены 5 модельных растворов с концентрацией 5000,0 нг/мл. Каждый раствор анализировали по 3 раза. Результаты оценки методики по параметру «воспроизводимость» представлены в табл. 11–15.

Полученные результаты внутрилабораторной воспроизводимости соответствуют критериям приемлемости.

## Обсуждение

**Применение разработанной методики.** На основе разработанной методики был проведён анализ 18 проб воздуха рабочей зоны. Пробы отбирались

при производстве лекарственного препарата Беталок ЗОК. Результаты и контроль соответствия гигиеническому нормативу (ОБУВ = 0,3 мг/м<sup>3</sup>) приведены в табл. 16.

Полученные данные свидетельствуют о безопасности воздуха рабочей зоны при производстве лекарственного препарата Беталок ЗОК.

## Заключение

В результате проведенного исследования разработана методика количественного определения метопролола сукцината в воздухе рабочей зоны методом ВЭЖХ-МС. Аналитический диапазон из-

мерения от 0,1 мкг/мл до 10,0 мкг/мл при отборе 1 м<sup>3</sup> воздуха достаточен для контроля за безопасностью воздуха рабочей зоны и отвечает требованиям определения вещества на уровне 50% от ОБУВ согласно ГОСТ 12.1.005–88. «Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны». Компоненты входящие в состав Беталок ЗОК не мешают определению содержания метопролола сукцината в смеси.

По разработанной методике проведен анализ 18 проб воздуха рабочей зоны с производства лекарственного средства Беталок ЗОК и сделан вывод о безопасности воздуха рабочей зоны.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Небиеридзе Д.В. Актуальные вопросы применения бета-адреноблокаторов в клинической практике. *Артериальная гипертензия*. 2009; 15(4): 413.
2. Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. *Хроматографические методы анализа: Методическое пособие для специального курса*. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова; 2007: 73.
3. ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методов» Государственная фармакопея РФ. Москва, 2018: 14(1).

## REFERENCES

1. Nebieridze D.V. Topical issues of the use of beta-blockers in clinical practice. *Arterial'naya gipertenziya*. 2009; 15(4): 413. (in Russian)
2. Shapovalova E.N., Pirogov A.V. *Chromatographic methods of analysis: Methodological guide for a special course. [Hromatograficheskie metody analiza: Metodicheskoe posobie dlya special'nogo kursa]*. Moscow: Lomonosov Moscow State University; 2007: 73. (in Russian)
3. GPhM.1.1.0012.15 "Validation of analytical methods" State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Moscow, 2018: 14(1). (in Russian)

## ОБ АВТОРАХ:

**Картамышев Илья Игоревич** – специалист отдела гигиенического нормирования ООО «ФНЦ «ИнноФармаТех», 117279, г. Москва, РФ. E-mail: [ikartamyshev@mail.ru](mailto:ikartamyshev@mail.ru)

**Савченко Алла Юрьевна** – кандидат мед. наук, доцент, заведующая кафедрой промышленной фармации ФГАУ ВО «НИЯУ "МИФИ"», 115409, г. Москва, РФ. E-mail: [alursav@mail.ru](mailto:alursav@mail.ru)

**Жильцов Павел Александрович** – аспирант, Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГАУ ВО «НИЯУ "МИФИ"», 249039, г. Обнинск, Калужская область, РФ. E-mail: [pavel.zhiltcov@astrazeneca.com](mailto:pavel.zhiltcov@astrazeneca.com)

**Дубовик Наталья Сергеевна** – старший преподаватель кафедры промышленной фармации ФГАУ ВО «НИЯУ "МИФИ"», 115409, г. Москва, РФ. E-mail: [NSDubovik@mephi.ru](mailto:NSDubovik@mephi.ru)

## INFORMATION ABOUT AUTHORS:

**Ilya I. Kartamyshev** – specialist of the hygienic rationing Department of LLC PhRC InnoPharmaTech, 117279, Moscow, RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5498-527X> E-mail: [ikartamyshev@mail.ru](mailto:ikartamyshev@mail.ru)

**Alla Yu. Savchenko** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Industrial Pharmacy of the Federal State Educational Institution of Higher Education MEPhI, 115409, Moscow, RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2734-5036> Scopus Author ID: 57213631933 E-mail: [alursav@mail.ru](mailto:alursav@mail.ru)

**Pavel A. Zhiltsov** – postgraduate student, Obninsk Institute of Atomic Energy – branch of the Federal State Educational Institution of Higher Education MEPhI, 249039, Obninsk, Kaluga region, RF. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4322-3568> Scopus Author ID: 57220804613 E-mail: [pavel.zhiltcov@astrazeneca.com](mailto:pavel.zhiltcov@astrazeneca.com)

**Natalia S. Dubovik** – Senior Lecturer at the Department of Industrial Pharmacy, National Research Nuclear University MEPhI, 115409, Moscow, RF. E-mail: [NSDubovik@mephi.ru](mailto:NSDubovik@mephi.ru)

