

Боль, отступи!

Быстрый анализ нестероидных противоревматических средств
Д-р Дирк Хансен, форма Phenomenex, Германия

Благодаря успехам медицины и общей материальной обеспеченности населения средняя ожидаемая продолжительность жизни за последние десятилетия заметно возросла. Для отдельного человека увеличение продолжительности жизни имеет множество преимуществ, однако есть и недостатки. Все больше людей страдает от обусловленных возрастом хронических заболеваний, например, от ревматоидного артрита, который сопровождается сильными болями.

Для лечения хронических болей часто используют нестероидные противоревматические средства (нестероидные противовоспалительные средства – НПВС). Часто применяемые действующие вещества – ацетилсалициловая кислота, ибупрофен, пироксикам и диклофенак – при длительном использовании способны наносить вред желудочно-кишечному тракту и вызывать опасные для жизни кровотечения и прободение. Дополнительный риск заключается в том, что эти лекарственные препараты отчасти можно приобрести без рецепта врача. Таким образом, многие (пожилые) пациенты применяют их для самолечения без врачебного контроля. В качестве альтернативы НПВС могут быть использованы так называемые слабые опиаты, например, трамадол и кодеин. Именно у гериатрических пациентов риск развития зависимости часто считается меньшим по сравнению с риском возникновения опасных побочных эффектов в результате длительного применения классических НПВС. Сильные опиаты, например морфин, используются преимущественно в начале курса лечения для прекращения болей. Если противовоспалительная терапия морфином возможна только ценой сильных, не поддающихся лечению побочных эффектов, то вместо него могут быть использованы другие опиаты, например, гидроморфон и фентанил.

Путем тщательного контроля концентрации действующего вещества можно свести риск развития зависимости к минимуму и добиться максимального болеутоляющего эффекта опиоидных анальгетиков. Расчет концентрации действующего вещества и определение дозировки делают на основании результатов анализа мочи.

Поскольку состав мочи сильно зависит от питания, баланса жидкости и состояния организма, эндогенно обусловленные вариации содержания компонентов мочи сильно влияют на результаты хроматографического анализа. Это влияние часто проявляется в форме коэлюции и подавления ионного сигнала (при определении с помощью масс-спектрометрии (МС)). Это может приводить к неправильной количественной оценке и, в конечном итоге, неправильной дозировке.

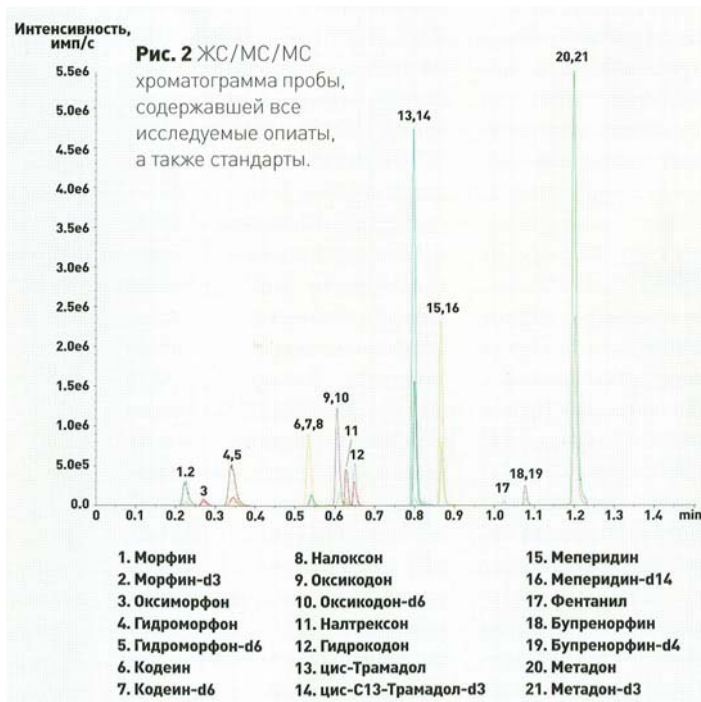
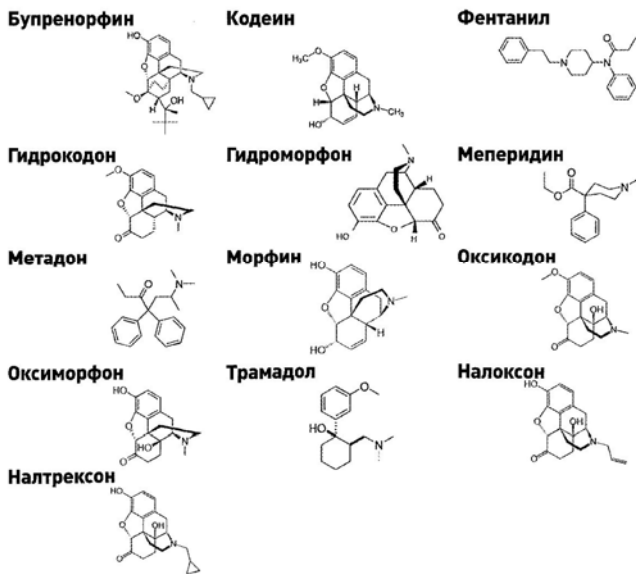
Во избежание этого используют комбинацию твердофазной экстракции (ТФЭ) и газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ/МС). Для прохождения полного цикла ГХ/МС при анализе опиатов может потребоваться семь или более минут. В дальнейшем будет представлен новый метод ЖХ/МС/МС с предварительной очисткой с помощью ТФЭ. Данный метод позволяет определить 13 часто применяемых опиатов (рис. 1) на колонке Kinetex™ C18 2,6-мкм (50 x 2,1 мм) в течение всего лишь 1,5 минут (рис. 2). Особенностью колонок Kinetex - являются уникальные сорбенты на основе силикагеля по технологии Core-Shell, разработанные по комплексной методике в компании Phenomenex. При их изготовлении сначала создается монодисперсное, непористое ядро (Ø 1,90 мкм), на котором затем наращивается гомогенный пористый слой определенной толщины (Ø 0,35 мкм). Благодаря малому допустимому отклонению при производстве базового материала распределение частиц по размерам составляет 1,12. Это делает диффузионный эффект минимальным, в результате чего достигается очень высокая эффективность разделения. На стандартных системах высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) при давлении менее 400 бар удастся получить в 2-3 раза более высокую эффективность разделения, чем при использовании классических разделительных материалов размером 3 и 5 мкм. Это позволяет значительно сократить время анализа – в 20 и более раз в зависимости от метода. Таким образом, эти сорбенты можно сравнить с полностью пористыми материалами размером менее 2-х мкм, требующих, однако, значительно большего обратного давления и специально разработанной для этого системы ультра-высокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ) для получения таких же результатов.

Для выделения опиатов из их метаболитов глюкуронидов в пробы мочи вносили β-глюкуронидазу и инкубировали в течение двух часов при 60°C. Затем пробы центрифугировали, а надосадочную жидкость очищали с помощью сильных полимерных ионообменников. После этого пробу анализировали при помощи ЖХ/МС/МС.

Благодаря чрезвычайно высокой эффективности разделения на используемой колонке Kinetex Core-Shell-HPLC для наших целей потребовалось запрограммировать временные интервалы для отдельных переходов мониторинга множественных реакций (ММР). Это позволило поддерживать достаточно высокую скорость сканирования для проведения точного количественного определения. Значительное повышение чувствительности было достигнуто также благодаря чрезвычайно малой ширине пика, что позволило разводить некоторые пробы в 20 раз.

За исключением фентанила, нижний предел обнаружения метода для всех исследуемых в данной работе веществ составил не более 2,5 нг/мл при воспроизводимости 83-98%. Для фентанила, благодаря низкой терапевтической концентрации, нижний предел количественного

Рис. 1 Структурные формулы анализируемых опиатов



определения составил 0,05 нг/мл. Для морфина линейный диапазон калибровки составил 2,5 – 2500 нг/мл. Для фентанила этот диапазон составил 0,05 – 20 нг/мл.

Данный метод позволяет быстро и надежно определять концентрации действующих веществ в моче и, таким образом, помогает оптимизировать лечение пациента в индивидуальном порядке.

Полное описание метода на английском языке с точным указанием условий и статистическими данными можно получить от фирмы Phenomenex в электронном или печатном виде, написав на адрес Anfrage@Phenomenex.com или позвонив по телефону: +49 (0) 6021 588 300.