

The methods were developed with use of toolmaker's methods of analysis permitting to determine purity and identity of new BAS - of 2-methylanilide-N,N-diethylaminoethanic acid nitrate (monomecaine) exerting antiarrhythmic action.

Keywords: monomecaine, toolmaker's methods of analysis, quality control

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОНИАЗИДА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Гофенберг М.А.

ГОУ ВПО УГМА, Областной центр острых отравлений ГБУЗ СО «СОКПБ»

Введение

Туберкулез легких в настоящее время остается одной из главных проблем здравоохранения во всем мире, ежегодно регистрируются около 9 миллионов новых случаев заболевания, и ежегодно от туберкулеза умирают около двух миллионов человек [1]. Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения [2], наиболее высокой активностью в отношении микобактерий туберкулеза обладают такие препараты, как изониазид, рифампицин, пиразинамид, стрептомицин и этамбутол (препараты первой линии).

Для лекарственного терапевтического мониторинга изониазида, оценки эффективности детоксикационных мероприятий при отравлениях и судебно-химических анализов при летальных отравлениях необходима экспрессная и хорошо воспроизводимая методика определения изониазида в плазме крови.

Целью данной работы явилась разработка методики количественного определения изониазида в плазме крови методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Материалы и методы исследования

Исследования проводились с использованием газового хроматографа с масс-селективным детектором Agilent Technologies 6890 N Network GS System 5973 MSD (США) на капиллярной кварцевой колонке DB-17 ms EVDX 30,0 м с внутренним диаметром 250 мкм, толщиной пленки 0,25 мкм.

Результаты и их обсуждение

Изониазид является водорастворимым веществом, плохо извлекаемым органическими растворителями из водных объектов, таких как плазма крови. Так, величина LogP изониазида, рассчитанная с помощью программы ACDLabs (Advanced Chemistry Development, Inc., Канада), имеет отрицательную величину — $-0,89 \pm 0,24$, а, следовательно, исключает возможность использования жидкость-жидкостной экстракции для газохроматографического определения изониазида без предварительной дериватизации вещества.

Кроме того, изониазид обладает недостаточной летучестью, что делает непосредственный анализ методом газожидкостной хроматографии невозможным. При газохроматографическом анализе изониазида протекают нежелательные побочные процессы, затрудняющие или искажающие его количественное измерение, такие как термическое разложение изониазида в инжекторе и в колонке; адсорбция полярного соединения в инжекторе и в колонке. Для улучшения газохроматографических характеристик изониазида проводили дериватизацию изониазида ацилирующим агентом с последующей жидкостно-жидкостной экстракцией деривата. Полученный экстракт анализировали методом ГХ-МС.

Условия хроматографического разделения: температура испарителя 180°C , начальная температура колонки 70°C , максимальная температура колонки 270°C , скорость подъема температуры $12^\circ\text{C}/\text{мин}$. Газ-носитель – гелий. Режим постоянного потока, линейная скорость $52 \text{ см}/\text{сек}$. Ввод пробы без разделения потока. Объем вводимой пробы 1 мкл.

Анализ проводили на модельных растворах плазмы крови с заданными концентрациями изониазида. Пробоподготовка включала осаждение белков плазмы крови, дериватизацию

изониазида ацилирующим агентом и жидкость-жидкостную экстракцию полученного деривата.

Для построения калибровочного графика использовали пробы донорской плазмы, не содержащей изониазида. Готовили пробы с концентрациями изониазида 1, 5, 10, 25, 75 мкг/мл. Линейность наблюдалась на всем диапазоне концентраций, при этом коэффициент корреляции составил $r=0,996$. Предел количественного определения изониазида в плазме крови данным методом составил 0,05 мкг/мл.

Таблица 1

Содержание изониазида на разных этапах дезинтоксикационных мероприятий

Концентрация изониазида, мкг/мл		
При поступлении в реанимационное отделение	19,28	
Этап гемодиализа	начало вход	14,75
	начало выход	4,20
	середина вход	3,18
	середина выход	1,45
	конец вход	2,22
	конец выход	0,94

Разработанная методика была использована для количественного определения изониазида в плазме крови больной О., 1983 г.р., поступившей в Свердловский областной центр острых отравлений с диагнозом «острое отравление изониазидом». При поступлении больной в реанимационное отделение и на каждом этапе 6-часового гемодиализа было взято по 2 мл цельной крови, была выделена плазма и определена концентрация изониазида. Расчет содержания изониазида вели по калибровочному графику. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Выводы.

Таким образом, разработанная методика ГХ-МС анализа позволяет провести количественное определение изониазида в небольшом количестве плазмы крови и может быть использована в лекарственном терапевтическом мониторинге, химико-токсикологических и судебно-химических исследованиях. В рамках дальнейшей работы планируются исследования по оценке аналитических параметров метода и оформление заявки на получение патента.

Список литературы

1. The global plan to stop TB 2011–2015: transforming the fight towards elimination of tuberculosis / World Health Organization Library Cataloguing-in-Publication Data. – 2010. – 92 p.
2. Treatment of tuberculosis: guidelines – 4th ed. / World Health Organization Library Cataloguing-in-Publication Data. – 2010. – 147 p.

Gas chromatographic-mass-spectrometric determination of Isoniazid in plasma Gofenberg M.A.

Antituberculosis drug Isoniazid has been determined by gas chromatography-mass spectrometry after precolumn derivatization with acylating agent and following liquid-liquid extraction. The method was applied for the determination of Isoniazid from blood of patients with an overdose of isoniazid.

Keywords: Isoniazid, derivatization, gas chromatography-mass-spectrometry