


**Медицина,
криминалистика**

- анализ наркотических, сильнодействующих, токсических средств и их метаболитов в биологических образцах
- допинг-контроль
- клинические исследования



«Prominence TOX.I.S.» - СИСТЕМА ДЛЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ С ОН-ЛАЙН ПРОБОПОДГОТОВКОЙ

F. Kribbel, B-T. Erxleben, Shimadzu Europa GmbH

Системный токсикологический анализ, основанный на ГХ, ВЭЖХ и иммунологических методах, обычно проводится на образцах плазмы/сыворотки или мочи. Вещества с коротким периодом полувыведения из крови, а также некоторые наркотики (например, псилоцин, скополамин, бензоилэксгонин) более эффективно выявляются в моче. В нашей работе была поставлена цель разработать аналитический скрининговый метод (Токсикологическую идентификационную систему, TOXIS) для идентификации этих основных компонентов в моче с применением жидкостной хроматографии.

Аналитический метод.

Выбрана система ВЭЖХ Prominence с диодноматричным детектором (ДМД) для возможности обращения к коммерческой библиотеке, содержащей свыше 2600 УФ-спектров токсикологически значимых веществ и метаболитов [1]. Критерием идентификации пика в анализируемом образце было совпадение его спектра поглощения на 99.9% с библиотечным с подтверждением по времени удерживания, которое должно было отличаться от библиотечного значения не более чем на 5%.

Пробоподготовка.

Образец мочи центрифугировать. К 1.0 мл супернатанта прибавить 0.5 мл буферного раствора, содержащего в качестве внутреннего стандарта неостигмина бромид (15.0 мкг/мл).

Параметры разделения:

Экстракционная колонка: Strata X-CW, 20 x 2.0 mm (Phenomenex)
 Аналитическая колонка: Luna SCX, 150 x 4.6 mm (x2) (Phenomenex)
 Температура термостата: 40⁰C
 Подвижная фаза:

Раствор А: (31.5%) ацетонитрил/вода (90/10 V/V)
Раствор В: (68.5%) 0.05М КН₂РО₄ – буфер (рН=2.3)
Скорость подачи подвижной фазы: 1.2 мл/мин
Объем вводимой пробы: 1.0 мл
Детектор: диодноматричный в режиме записи спектра 190-370 нм

Валидация.

Для валидации системы в соответствии с рекомендациями FDA для биоаналитических методов используется контрольный образец (performance control sample, PCS), содержащий шесть аналитов различных химических классов: 3,4-метилendioксиамфетамин (MDA) (1), скополамин (SCP) (2), морфин (3), кодеин (4), 2-этилидин-1,5диметил-3,3-дифенилпирролидин (EDDP) (5) и внутренний стандарт – неостигмин бромид (6). Условия ведения анализа позволяют полностью разделить все матричные пики.

Степень выявления компонентов: не ниже 73%.

Внутрилабораторная прецизионность (n=6 для каждой конц.): CV<7.2%.

Межлабораторная прецизионность (n=6 для каждой конц.): CV<8.0%.

LLOQ: 0.10 мкг/мл для 1, 3, 4, 5 и 0.25 мкг/мл (S/N>3) для 2.

Диапазон линейности: 0.25-15.0 мкг/мл для 2, 3, 4, 5 и 0.10-5.0 мкг/мл для 1.

Применимость разработанного метода была подтверждена при анализе реальных образцов.

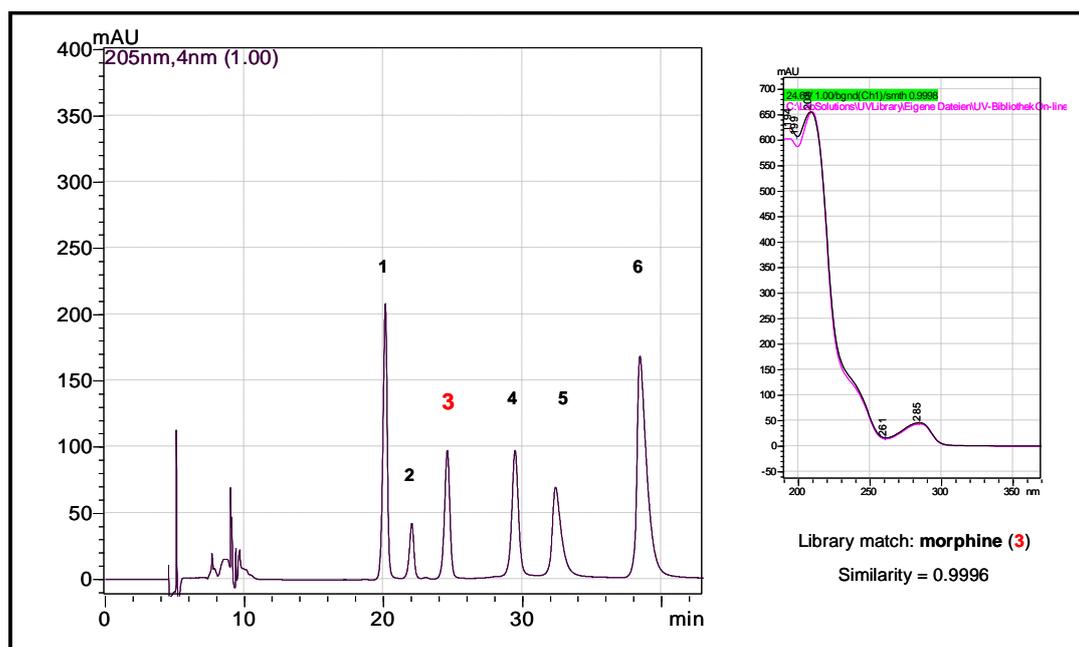


Fig. 2: Performance control test (1=MDA, 2=SCP, 3=morphine, 4=codeine, 5=EDDP, 6=IS)



генеральный дистрибьютор



620075 г. Екатеринбург,
ул. Бажова, 68
т/ф (343) 278-34-64
e-mail: element@usp.ru

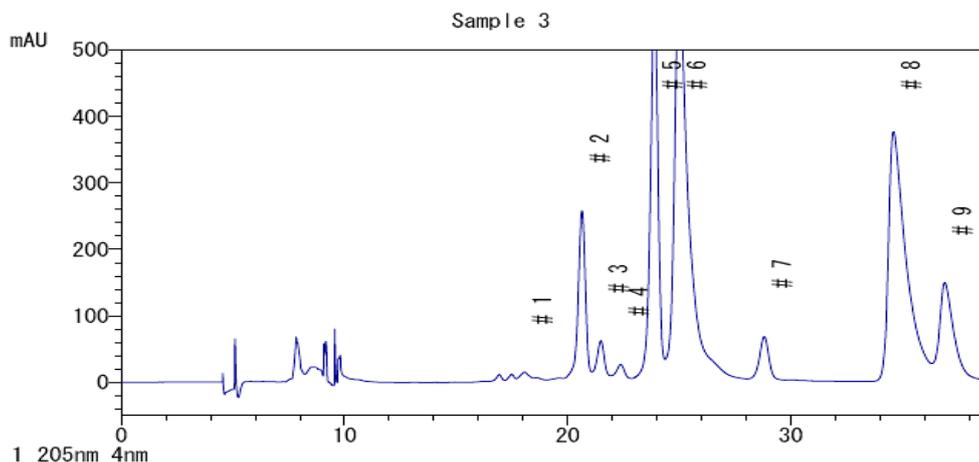
115035 г. Москва,
Садовническая наб., 69
т/ф (495) 514-00-48
e-mail: msc@element.utk.ru

630007 г. Новосибирск,
ул. Октябрьская, 42, оф.225/3
т/ф (383) 20-20-726
e-mail: shim_ns@element.utk.ru

Результат анализа мочи пациента

Acquired by : Admin
 Sample Name : Sample 3
 Vial# : 83
 Injection Volume : 1000 uL
 Data Filename : Sample three.lcd
 Method Filename : On-line Extraktion.lcm
 Batch Filename : 07-05-07a.lcb
 Report Filename : Report On-line Extraktion.lcr
 Date Acquired : 07.05.2007 18:41:26
 Data Processed : 21.08.2007 09:00:49

Chromatogram



TOX. I. S. Library

Search Parameters : 190nm - 370nm
 Search WL Range : 2
 Max # of Hits

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
1	Trimetoprim-Met.	0.9667	0.51	
1	Veratrin	0.9643	0.51	

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
2	Amphetamin	0.9992	0.56	
2	Ephedrin	0.9949	0.54	

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
3	Normorphin	0.9989	0.56	
3	6-Acetylmorphin	0.9982	0.60	

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
4	6-Acetylmorphin	0.9993	0.60	
4	N-Desmethyldoxepin	0.9829	0.62	

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
5	Morphin	0.9999	0.66	
5	Norcodein	0.9987	0.67	

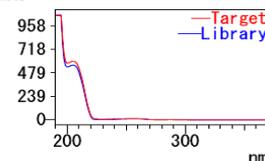
Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
6	Methadon	0.9995	0.65	
6	Ropivacain	0.9992	0.69	

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
7	Codein	0.9999	0.78	
7	Oxycodon	0.9613	0.77	

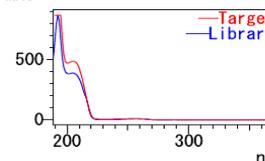
Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
8	EDDP	0.9994	0.90	
8	Ipratropium	0.9648	0.98	

Peak #	Library Name	SF Spectra	RRT	Peak
9	Neostigmin (IS)	0.9999	1.00	
9	Ipratropium	0.9726	0.98	

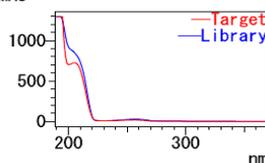
Serial# : 233
 Name : Amphetamin
 Similarity : 0.999218
 mAU



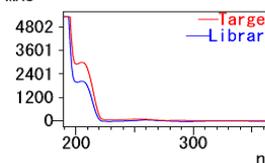
Serial# : 12
 Name : Ephedrin
 Similarity : 0.994900
 mAU



Serial# : 117
 Name : Amfetaminil
 Similarity : 0.993876
 mAU



Serial# : 114
 Name : Endogener Peak
 Similarity : 0.980375
 mAU



генеральный дистрибьютор



620075 г. Екатеринбург,
 ул. Бажова, 68
 т/ф (343) 278-34-64
 e-mail: element@usp.ru

115035 г. Москва,
 Садовническая наб., 69
 т/ф (495) 514-00-48
 e-mail: msc@element.utk.ru

630007 г. Новосибирск,
 ул. Октябрьская, 42, оф. 225/3
 т/ф (383) 20-20-726
 e-mail: shim_ns@element.utk.ru

Заключение.

Разработан и валидирован автоматизированный метод (TOX.I.S.) для качественного выявления основных соединений в моче. Данные валидации удовлетворяют критериям международных требований к биоаналитическим методам [2]. Исследование реальных биологических проб показало, что разработанная система может использоваться в качестве альтернативы для систем RemediTM-HS конфирмационного анализа наркотиков и токсикантов. Система TOX.I.S. сочетает преимущества оборудования для ВЭЖХ, быстроту выполнения и невысокую стоимость единичного анализа. Система прошла испытания и успешно используется для проведения токсикологических анализов в Берлинской центральной медико-санитарной части, Институте клинической токсикологии (Berliner Betrieb für Zentrale Gesundheitliche Aufgaben (BBGes), Institute of Clinical Toxicology—Clinical Toxicology and Poison Control Center) и на кафедре клинической фармации Института Фармакологии Свободного университета Берлина (Department of Clinical Pharmacy, Institute of Pharmacy, Freie Universität Berlin) [3,4].

Библиографический список

1. F. Pragst et al., UV spectra of toxic compounds. Dr. Dieter Helm, Heppenheim, 2001.
2. U.S. Food and Drug Administration (FDA), <http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.pdf>.
3. L. Schonberg et al., New screening method for basic compounds in urine by on-line extraction-high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. // L. Schonberg, T. Grobosh, D. Lampe, Ch. Kloft // Journal of Chromatography A. – 2006. 1134. P.177–185.
4. L. Schonberg et al., Toxicological Screening in Urine: Comparison of Two Automated HPLC Screening Systems (Toxicological Identification System (TOX.I.S.) versus REMEDITM-HS). / L. Schonberg, T. Grobosh, D. Lampe, Ch. Kloft // Journal of Analytical Toxicology. – 2007. Vol. 31.

По техническим вопросам обращайтесь по адресам и телефонам:



генеральный дистрибьютор



620075 г. Екатеринбург,
ул. Бажова, 68
т/ф (343) 278-34-64
e-mail: element@usp.ru

115035 г. Москва,
Садовническая наб., 69
т/ф (495) 514-00-48
e-mail: msc@element.utk.ru

630007 г. Новосибирск,
ул. Октябрьская, 42, оф.225/3
т/ф (383) 20-20-726
e-mail: shim_ns@element.utk.ru

www.element.ur.ru