

ния экскреции белка, что является доклинической диагностикой развивающихся осложнений СД 1 — микроангиопатии. Показатели ЭД выделяют пациентов с неблагоприятным течением заболевания уже на первом году и дают основание для выделения группы детей и подростков с высокой степенью риска развития сосудистых осложнений в первые годы болезни, что диктует проведение профилактики и лечения ДН в более ранние сроки и дает возможность своевременного и достоверного контроля по эффективности проводимой терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь И. А. и др. Почки при сахарном диабете: патоморфология, патогенез, ранняя диагностика, лечение: Монография. — Новосибирск: Изд-во НГГУ, 2008. — 272 с.
2. Волчанский Е. И., Жидких А. Н., Стаценко М. Е. и др. // Пермский медицинский журнал. — 2008 — Т. 25, № 1. — С. 49—53.
3. Дедов И. И. Сахарный диабет: ретинопатия, нефропатия / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, Т. М. Миленская // Библиотека практического врача. — 2001. — С. 98.
4. Закляков И. К. Сравнительная оценка клинико-диагностической значимости некоторых адгезивных моле-

кул в ранней диагностике микроангиопатий у больных сахарным диабетом 1 типа: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Астрахань, 2009. — 19 с.

5. Котельницкая Л. И., Ханшева Л. А. Функция эндотелия у больных артериальной гипертензией: Учебное пособие. — М., 2006. — 48 с.

6. Кретова Е. Ю. Нарушение системы гомеостаза в различные возрастные периоды у больных сахарным диабетом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Томск, 2008. — С. 3—4.

7. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике артериальной гипертензии у детей и подростков. 3-е изд., перераб. и доп. — М., 2004. — 44 с.

8. Энерт А. В., Иванов С. Н., Самойлова Ю. Г. // Сибирский медицинский журнал. — 2010. — Т. 25, № 1. — С. 47—48.

## Контактная информация

**Аникеева Татьяна Петровна** — аспирант, врач-педиатр, врач детский эндокринолог ГУЗ «Волгоградская областная детская клиническая больница», e-mail: [tpanikeeva@mail.ru](mailto:tpanikeeva@mail.ru).

УДК 616.12 – 005.4 – 085.224

## ОСОБЕННОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АТОРВАСТАТИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

**А. Ф. Рябуха, К. А. Кузнецов, О. В. Магницкая, Л. А. Смирнова,  
Е. А. Сучков, А. А. Ефимова, Б. Е. Толкачев**

*Кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии  
с курсами клинической фармакологии ФУВ, клинической аллергологии ФУВ ВолгГМУ,  
лаборатория фармакологической кинетики НИИ фармакологии*

Разработан высокоселективный и высокочувствительный высокоэффективный жидкостный хроматографический метод количественного определения аторвастатина в плазме крови больных ишемической болезнью сердца.

**Ключевые слова:** аторвастатин, плазма крови человека, высокоэффективный жидкостный хроматографический метод, ишемическая болезнь сердца.

## SPECIFICS OF DETERMINING ATORVASTATIN IN HUMAN PLASMA OF PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

**A. F. Ryabucha, K. A. Kuznetsov, O. V. Magnitskaya, L. A. Smirnova,  
Y. A. Suchkov, A. A. Yefimova, B. Y. Tolkachev**

A highly selective and highly sensitive HPLC-analysis of atorvastatin concentration in CHD patient plasma was developed.  
**Key words:** atorvastatin, human plasma, high-performance liquid chromatography (HPLC), coronary heart disease (CHD).

Открытия фундаментальных наук последних десятилетий коренным образом меняют подходы к лечению различных заболеваний. Становится очевидным, что далеко не все пациенты могут считаться «средними» и получать «средние» дозы лекарственных препаратов без потери эффективности и развития нежелательных лекарственных реакций проводимой терапии. При назначении

многих лекарственных средств врачу приходится принимать во внимание вариацию реакций пациентов на терапию. Исследования последних десятилетий показали, что во многом эти различия обусловлены межиндивидуальной вариабельностью процессов всасывания, распределения и элиминации лекарственных препаратов. Возраст, пол, генетические особенности, физическое состояние,

наличие сопутствующих заболеваний, получаемая комплексная терапия могут оказывать влияние на протекание этих фармакокинетических процессов. Таким образом, индивидуализация терапии становится невозможной без проведения терапевтического лекарственного мониторинга на основе фармакокинетического анализа.

Согласно современным принципам терапии ишемической болезни сердца (ИБС) назначение статинов улучшает прогноз этого заболевания. Аторвастатин — один из наиболее эффективных и часто назначаемых препаратов этой группы.

Для достижения целевого уровня липопротеинов низкой плотности < 2,5 ммоль/л могут потребоваться различные дозы статинов, в том числе и высокие. В случае обострения ИБС (развития острого коронарного синдрома) назначение высоких доз статинов необходимо для повышения выживаемости таких пациентов. Несмотря на то, что статины относятся к группе лекарственных препаратов с наиболее благоприятным профилем безопасности, при назначении высоких доз возможно развитие жизнеугрожающего осложнения рабдомиолиза, связанного с высокой плазменной концентрацией препарата в крови. Возможной причиной увеличения концентрации статинов также является межлекарственное взаимодействие на уровне CYP450 даже при назначении невысоких доз статинов, так как многие препараты для лечения ИБС являются ингибиторами этой ферментной системы. Таким образом, для проведения грамотной терапии больных ИБС контроль концентраций лекарственных веществ, в том числе и статинов, является жизненно необходимым.

Описанные в литературе методы количественного определения аторвастатина [2, 3] на практике не позволили анализировать кровь больных с необходимой чувствительностью и достоверностью, так как прием большого количества лекарственных средств часто мешает анализу. Следует отметить, что концентрации аторвастатина в крови больных достаточно низки, от 10 до 100 нг/мл, что требует высокой чувствительности метода. Таким образом, необходима специфическая подготовка проб плазмы крови, позволяющая концентрировать пробы и нивелировать негативные факторы при количественном определении аторвастатина

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка метода количественного определения аторвастатина в плазме крови больных ИБС, находящегося на стандартной терапии.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Количественное определение аторвастатина проводили высокочувствительным жидкостным хроматографическим (ВЭЖХ) методом на хроматографе с диодно-матричным детектором (Shimadzu, Япония), на колонке Supelcosil LC-18 (5 мкм; 150 \* 4,6 мм). Мобильная фаза содержала 53 % ацетонитрила для ВЭЖХ УФ 210 нм) (Россия) и 42 % буферной системы, состоящей из однозамещенного фосфата натрия 50 мМ, pH 4,0 и 5 % тетрагид-

рофурана. Хроматографирование проводили при скорости потока 1 мл/мин. В результате исследований была подобрана оптимальная температура анализа 30 °С.

В качестве стандарта использовали аторвастатин кальций (LGC, Германия), в качестве внутреннего стандарта использовали диклофенак натриевую соль (SIGMA, США).

Для построения калибровочных графиков и стандартизации метода использовалась замороженная плазма доноров, купленная в Волгоградском областном центре крови.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для количественного определения вещества использовали метод внутреннего стандарта, что позволило снизить ошибку измерения при многостадийной подготовке проб. Предварительно была показана прямая зависимость между аналитическими параметрами аторвастатина и диклофенака (рис. 1).

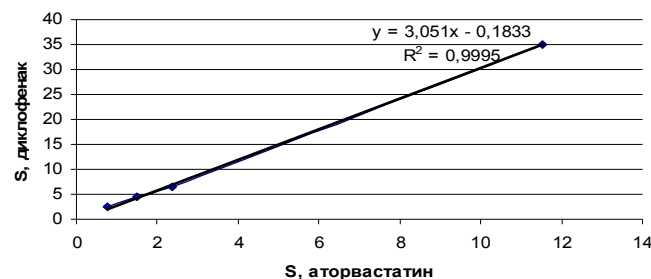


Рис. 1. Зависимость площадей хроматографических пиков диклофенака и аторвастатина

Зависимость отношения площадей пиков аторвастатина и диклофенака от концентрации аторвастатина анализировалась методом регрессионного анализа в диапазоне концентраций от 100 до 2500 нг/мл. В результате было установлено, что калибровочные кривые носят линейный характер с коэффициентом регрессии (R<sup>2</sup>), равным 0,99.

Биологические жидкости — сложные объекты для выполнения анализа, так как они представляют собой многокомпонентные смеси, включающие большое число неорганических и органических соединений различной химической структуры. Большое значение при проведении анализа таких объектов имеет подготовительная часть, от которой зависят важнейшие аналитические характеристики, которые в свою очередь влияют на стандартизацию метода. Избранный метод должен иметь высокую чувствительность, возможность работы с малыми объемами проб, большую специфичность и избирательность, надежность, воспроизводимость и универсальность.

Для извлечения и очистки проб больных использовали твердофазную экстракцию на патроне C18 360 мг 0,85 мл Sep-Pac (США). На патрон наносили 2 мл плазмы больных, смешанных с 2 мл фосфатного буфера. В пробу добавляли внутренний стандарт раствор диклофенака из расчета 500 нг на пробу. Для очистки от биологических примесей и примесей сопутствующих лекарственных

средств патрон промывали двукратно по 1 мл 0,1М раствором двузамещенного фосфата натрия pH 7,01, затем дважды промывали смесью ацетонитрила и фосфатного буфера в соотношении 20:80 по 1 мл. После этого аторвастатин смывали 5 мл метанола. Метанольную фракцию выпаривали под вакуумом до сухого остатка, который растворяли в 0,1 мл метанола. Полученный раствор центрифугировали 10 минут при 10000 об/мин. Далее раствор вводили в петлю хроматографа, объемом 20 мкл.

Данная пробоподготовка позволила повысить селективность метода и отделить пик аторвастатина от фоновых пиков, что не было достигнуто при других видах пробоподготовки, описанных в литературе.

Стандартизацию метода проводили с использованием плазмы доноров, контроль степени очистки и селективности метода проводили по измерениям существующего фона в плазме пациентов с ИБС (рис. 2).

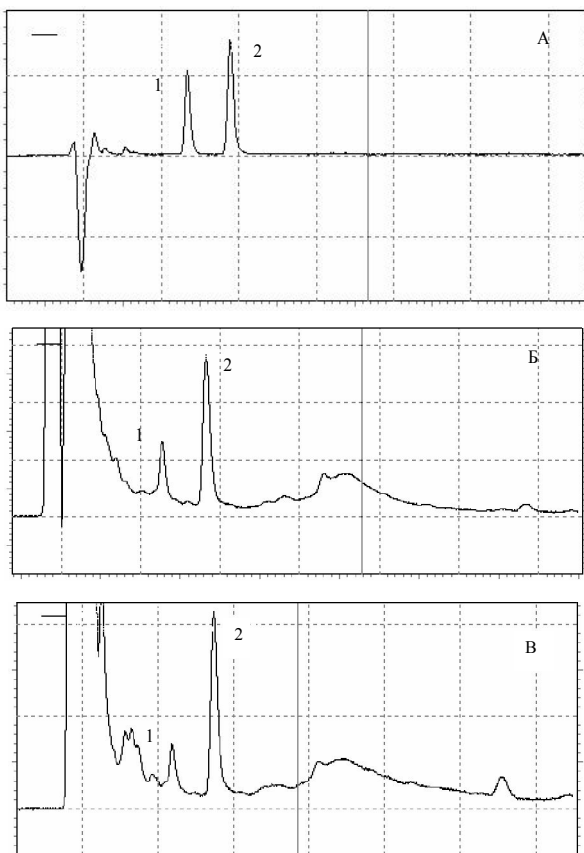


Рис 2. Хроматограмма аторвастатина (1) и диклофенака (2) в растворе метанола (А), плазме донора (Б) и плазме пациентов с ИБС (В)

Были определены внутрисуточные процентные колебания (повторяемость метода), которые не превышали 20 % в изучаемых диапазонах концентраций. Междневные процентные колебания (воспроизводимость метода) для изучаемого соединения не превышали в основном 10 % (рис. 3).

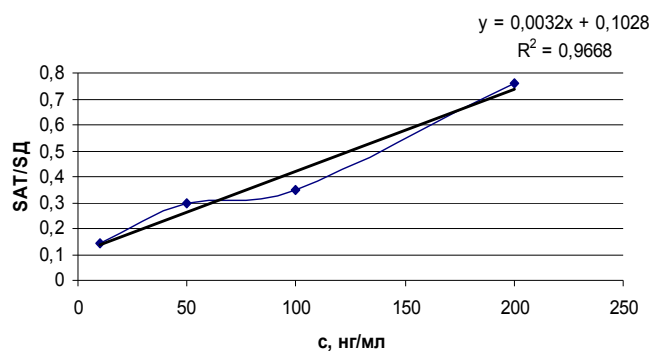


Рис. 3. Зависимость отношения площадей под пиками диклофенака и аторвастатина от концентрации аторвастатина в плазме крови

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработанный метод количественного определения позволяет определять концентрацию аторвастатина в биологических пробах больных и позволяет индивидуализировать фармакотерапию при назначении комбинации лекарственных средств.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кулес В. Г., Сычёв Д. А., Журавлева М. В. и др. // Клиническая фармакология и терапия. — 2005. — № 14 (3). — С. 56—61.
2. Bahrami G., Mohammadi B., et al. // Journal of Chromatography B. — 2005. — Vol. 826. — P. 41—45.
3. Zarghi A., Shafaati A., et al. // Drug Res. — 2005. — Vol. 55, № 8. — P. 451—454.

## Контактная информация

**Магницкая Ольга Валерьевна** — к. м. н., ассистент, докторант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии с курсами клинической фармакологии ФУВ, клинической аллергологии ФУВ ВолгГМУ, e-mail: magol73@yandex.ru.